

SZABAD JÁNOS

# Miként ketyeg a belső óra?

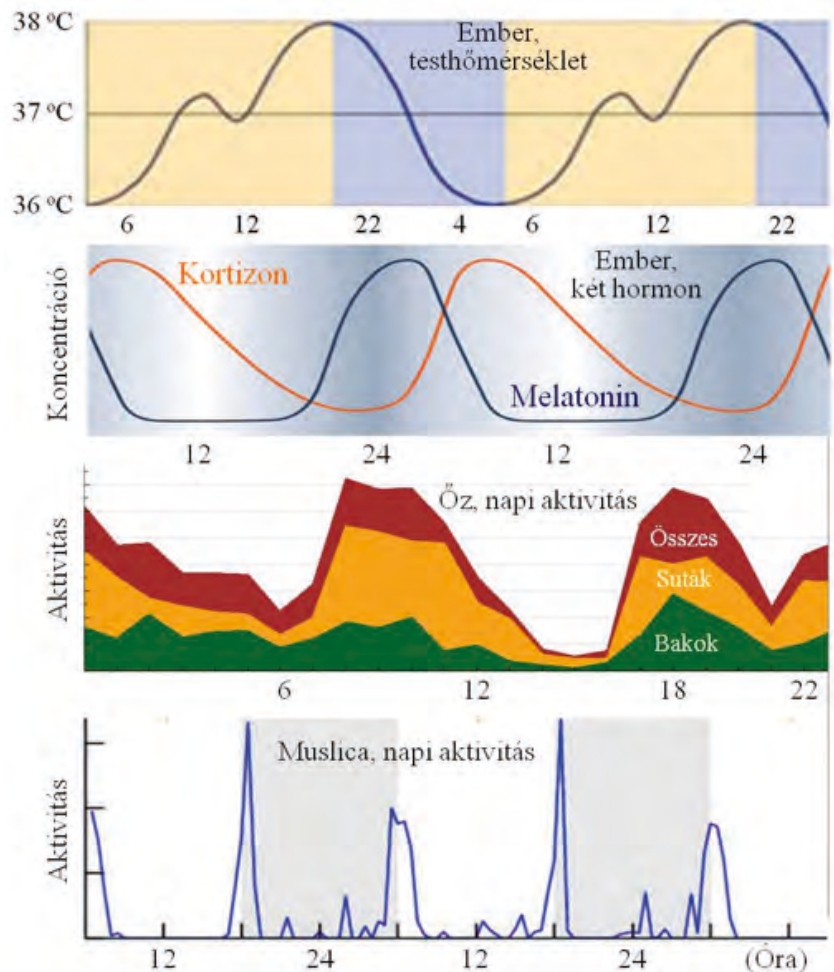
Fiziológiai és orvostudományi Nobel-díj 2017

*A világ legtermészetesebb dolga, hogy este lefekszünk, átalusszuk az éjszakát, reggel felkelünk, és napközben aktívak vagyunk. Életünk, mint minden élőlényé, szabályos napi ritmusban folyik. Kinek jutna eszébe azon morfondirozni, hogy miért álmosodunk el esténként, és mi ébreszt fel bennünket reggelente? Alighanem csak azok gondolnak az életünk ritmusát szabályozó mechanizmus fontosságára, akik ismerik az éjszakai műszakkal, vagy – nagy távolságokra utazva – a jetlaggal kapcsolatos kellemetlen érzéseket. Van talán egy belső óra, amely az élőlények napi ritmusát szabályozza? Es ha van, hogyan működik, mi az értelme? A belső óra természetének kutatása az 1970-es években kezdődött, és hozott „termést” 2017-ben: három amerikai kutató, Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash és Michael Young a napi ritmust szabályozó belső óra molekuláris természetének megismeréséért érdemelte ki a Nobel-díjat. A jelen kis összefoglaló a belső órával, és néhány „hozadékkal” ismerteti meg érdeklődő olvasóinkat.*

## A belső óra genetikai boncolása

A napi ritmus a legtöbb élőlény jellemzője (1. ábra). Lényegében alkalmazkodás a nappalok és az éjszakák, az életfeltételek napszakonkénti változásához. Az élőlények zöme napközben éli életét, éjszakánként pihen, készül a következő nappalra. Vajon mi szabályozza az élőlények napi ritmusát?

Az 1970-es években Seymour Benzer (1921–2007) és doktorandusz hallgatója, Ronald J. Konopka (1947–2015) elsőként remélte feltárni a belső óra lényegét (2. ábra). Kísérleti objektumként a muslicát – *Drosophila melanogaster* –, a genetikusok immáron 111. éves kedves modellfaját, módszerként pedig az ún. genetikai boncolást választották. (Zárójelben említjük, hogy a muslica „hasznát” mi sem bizonyítja jobban, mint az hogy, a genetikai eredetű betegségeinkkel kapcsolatos géneink 75%-a megvan a muslicában is. Csakhogy a génfunkciók muslicában sokkal könnyebben tanulmányozhatók, mint emberben.) Ismerve a muslica életének napi ritmusát (1. ábra), Benzer és Konopka feltételezte, hogy a belső óra „alkatrészei” gének. Ha valóban léteznek óragének, azokat mutációkkal el lehet rontani, lényegében tönkre lehet tenni a belső órát. A belső óra nélküli mutáns muslicáknak megszűnik a napi ritmusa, őket fel lehet ismerni, szaporítani, fenntartani. A gén mutáns változata aztán eszközként használható: belőle kiindulva megismerhető az ép gén molekuláris funkciója. Benzer és Konopka az ún. genetikai boncolás módszerével előbb véletlenszerűen sok-sok mutációt indukált, majd a muslicák közül kiválogatták azokat a mutánsokat, amelyek napi ritmusa megváltozott: eltűnt, a megszokottnál



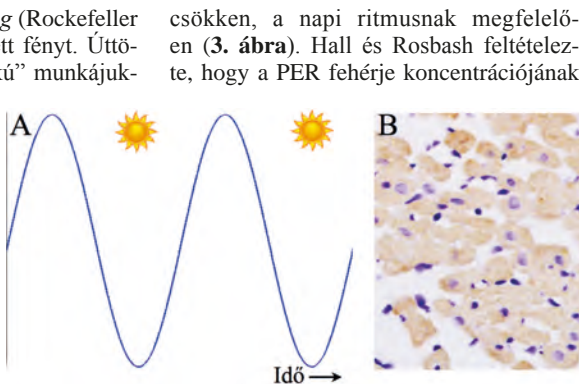
1. ábra. Az ember testhőmérsékletének, két hormon koncentrációjának, valamint az özek és a muslicák napi aktivitásának változása a napszakok folyamán. A kortizon a mellékvesekeg egyik szteroid hormonja. Munkavégzésre mozgósítja a szervezet energiaforrásait. A melatonin a tobozmirigy hormonja, a napi ritmus szabályozója

hosszabb, vagy rövidebb lett. A mutációkat genetikailag térképezték: megállapították, hogy melyik kromoszóma mely pontjában levő géneket azonosítanak. Ezután lehetett megállapítani a mutációkkal azonosított ép gének molekuláris funkcióit. Nos, Benzer és Konopka munkája során vált világgossá, hogy a napi ritmust szabályozó belső óra egyik alapvető fontosságú génje a *period* gén.

A *period* gén molekuláris funkciójára Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash (Brandeis Egyetem, Boston), valamint Michael Young (Rockefeller Egyetem, New York) derített fényt. Úttörő, és szerteágazó „hozzadékú” munkájukkal érdemelték ki 2017-ben a fiziológiai és orvostudományi Nobel-díjat „annak a molekuláris mechanizmusnak a felfedezéséért, amely a napi ritmust irányítja”. Hall és Rosbash mutatta meg, hogy a *period* gén terméke, a PER fehérje éjszaka felhalmozódik a sejtmagvakban, hogy aztán napközben degradálódjon. A PER fehérje koncentrációja nagyjából 24-órás ciklusokban emelkedik és



2. ábra. A muslica *period* génjének felfedezői: Ronald J. Konopka és Seymour Benzer



3. ábra. A PER fehérje két jellemzője. (A) Koncentrációja nagyjából 24 órás ciklusokban váltakozik a napok folyamán és (B) a sejtmagvakban halmozódik fel, például a szívizomsejtekben

csökken, a napi ritmusnak megfelelően (3. ábra). Hall és Rosbash feltételezte, hogy a PER fehérje koncentrációjának

ciklikus változása úgy alakul ki, hogy a PER fehérje gátolja a *period* gén aktivitását. Kérdéses volt, hogy hogyan jutnak be a PER molekulák a citoplazmából a sejtmagba, hogy ott ellássák funkciójukat. A kérdést Michael Young válaszolta meg 1994-ben: a PER fehérjemolekulák a *timeless* gén termékével, a TIM fehérjével kapcsolódnak, és együtt lépnek a sejtmagvakba, ahol aztán gátolják a *period* gén kifejeződését (4. ábra).

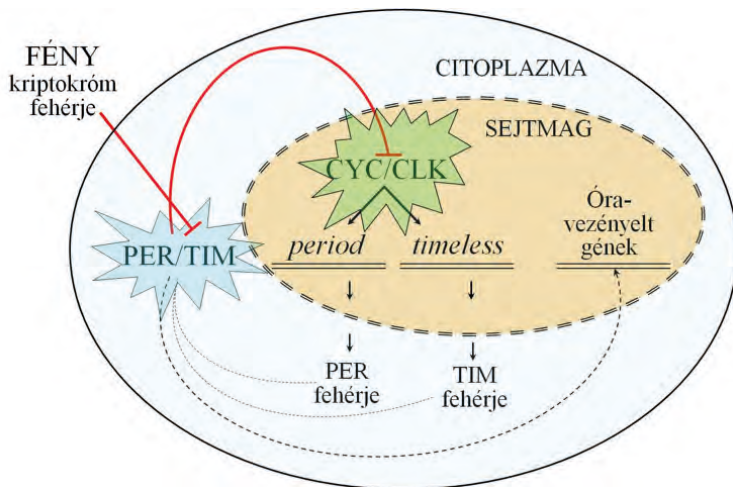
### A belső óra molekulái

Időközben a belső óra további szereplői is ismertté váltak. A belső óra meglehetősen „egyszerű” szerkezet. „Rugója” a PER/TIM fehérjekomplex, amely gátolja a CYC/CLK fehérjekomplex funkcióját. (A CYC fehérje képződését a *cycle*, a CLK-ét a *clock* óragének kódolják.) Az aktív CYC/CLK komplex aktiválja a *period* és a *timeless* géneket.

Ha e két gén aktivitása gátolt, a PER/TIM komplexből csak kevés képződik. Amint pedig csökken a CYC/CLK-ra kifejtett gátló hatás, bekapcsolhatják a *period* és a *timeless* géneket, következésképpen növekszik a PER/TIM komplexek koncentrációja, és így tovább. A PER/TIM koncentráció 24-órás ciklusban változik. A PER/TIM páros szabályozza a mintegy 4–500 ún. óravezényelt gén működését is, amelyek aztán megvalósítják az életfolyamatok napi ritmikus váltakozását.

A belső órát a fény állítja be (4. ábra). A fényt a kriptokróm fehérje nyeli el. A kék fényvel aktivált kriptokróm fehérje hatására lebomlanak a TIM molekulák, miáltal csökken a PER/TIM komplexek koncentrációja, gátló hatásuk a CYC/CLK komplexekre, amelyek aztán aktiválhatják a *period* és a *timeless* géneket, és így tovább. Végeredményben a fény szabályozott belső óra szinkronizálja a muslica életfolyamatait a fény/sötét viszony naponkénti változásához. (A folyamatos sötétben tartott muslicák napi ritmusa kicsivel hosszabb, mint 24 óra.)

4. ábra. A belső óra szereplői. Az ún. óragének (*period*, *timeless*, *cycle* és *clock*) termékei (a PER, a TIM, a CYC és a CLK fehérjék) biztosítják a belső óra kb. 24-órás periodicitását. A belső óra fényvel – a kriptokróm fehérje révén – beállítható. Az életfolyamatok napi ritmusát a PER/TIM-komplex az óravezényelt gének révén szabályozza



### Az univerzális belső óra

Miután fény derült a muslica óragénjeire és szerepükre, sokakban fogalmazódott meg a kérdés: vajon vannak-e az ember és más fajok génjei között a *period*-nak és társaiknak megfelelőek, és ha igen, mi a szerepük? A vizsgálatok megmutatták, hogy a belső óra alapvető mechanizmusa

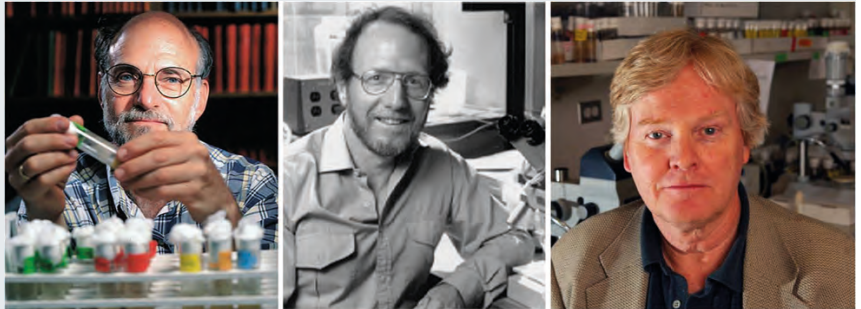
## A Nobel-díjasok

**Michael Rosbash** 1944-ben született Kansas Cityben. Szülei a náci Németországból menekültek az Amerikai Egyesült Államokba. Tízéves volt, amikor Bostonba költöztek. (Azóta a bostoni Red Sox amerikai futballcsapat lelkes szurkolója.) Matematika iránti érdeklődése vitte Pasadena városába a Kaliforniai Műszaki Egyetemre, ahol figyelme a biológia, a kémia felé fordult. Az egyetem befejezése (1965) után egy évet Párizsban töltött, ahol fizikai kémiával foglalkozott. Innen Bostonba vitte útja, ahol a Massachusetts-i Műszaki Egyetemen érdemelte ki a PhD-fokozatot biofizikából, az RNS-szintézis területén végzett kutatásaival 1970-ben. Boston után három posztdoktori év következett Edinburgban, ahol a genetika tudományában mélyült el. 1974-ben vált a Brandeis Egyetem (Waltham/Boston) tanárává, kutatójává. Azóta is ott él, dolgozik. Felesége, Nadja Abovich Rosbash egyik volt doktoranduszhallgatója. Két felnőtt lányuk van. A molekuláris szintű kutatások 1982-ben kezdődtek Rosbash műhelyében. A *period* gént 1984-ben klónozták. A *clock* és a *cycle* géneket, valamint a kriptokróm fotoreceptort 1998-ban ismerték meg. És persze kutakodtak a muslica óragénjeinek emlősökben fellelhető megfelelői és funkciók iránt is. Iskolateremtő munkájuk során sok-sok fiatal kutató ismerkedett meg a tudomány varázslatosan szép világával.

**Jeffrey C. Hall** 1945-ben született Brooklynban, New York egyik városrészében. Washingtonban nevelkedett. Édesapja, aki nagy hatással volt fiára, újságíró volt. Jeff, ahogy barátai nevezik, orvosnak készült az Amherst Egyetemen (Massachusetts), ám érdeklődését a *Drosophila*-genetika kötötte le. Miután megkapta diplomáját (1963), Seattle-ba ment, ahol Larry Sandler világhírű laboratóriumában doktoranduszhallgatóként muslicagenetikával foglalkozott. Seattle-ból Pasadenába, a Kaliforniai Műszaki Egyetemre vezetett útja (1967). Pasadenában Seymour Benzer laboratóriumában posztdokorként dolgozott. Ott, ahol Konopka és Benzer a *period* gént azonosította. A Benzer laboratóriumban Hall nőstény/hím mozaik muslicákkal boncolta a nőstények nemi viselkedését: szedte a viselkedést elemeire, és állapította meg a különféle viselkedéselemek idegi szabályozását. (Zárójelben jegyezzük meg, hogy Hotta és Benzer közölte 1976-ban, hogy a hím muslicák viselkedéselei lineáris sorrendben követik egymást.)

Hall 1974-ben, hat hónappal Rosbash előtt érkezett a Brandeis Egyetemre (Waltham/Boston), vált az egyetem egyik tanárává. Itt a muslicahímek „trubadúr” énekét tanulmányozta. A *period* mutánsok megváltozott éneklése fordította figyelmét a belső óra felé. Közös munkálkodásuk Michael

és Benzer kutatásairól, és került a biológiai óra ismét érdeklődése középpontjába. A PhD megszerzése (1975) után a Stanford Egyetemen volt posztdoktor Dave Hogness műhelyében, Palo Altóban (Kalifornia). Hogness laboratóriuma akkoriban a rekombináns DNS-technológia egyik



A fiziológiai és orvostudományi Nobel-díj 2017. évi kitüntetettje három amerikai kutató: Michael Rosbash (1944), Jeffrey C. Hall (1945) és Michael Young (1949)

Rosbashal és Michael Younggal vezetett a belső óra és a napi ritmus molekuláris alapjainak megismeréséhez. Hall, miután 2004-ben emeritus professzor lett, Main Állam Egyetemén tanított neurogenetikát 2012-ig. Azóta Main államban – ahogy mondani szokta – a semmi közepén él egy tanyán, és hobbijának él: Harley Davidson motorjával járja a környéket, és látogatja az amerikai polgárháború (1861–1865) emlékhelyeit. A Brandeis egyetemen tanárként ismerkedett meg a Gettysburg (Pennsylvania) melletti csatamezővel, ahol a polgárháború legvéresebb csatáját vívták (1968. július 1–3.), amely csata a polgárháború fordulópontja volt. Hall legendás érdeklődését a polgárháború iránt alighanem a „The Stand of the U.S. Army at Gettysburg” című könyve (2003) mutatja. És az is, ahogy az érdeklődő molekuláris biológusoknak bemutatja a csatamezőt.

**Michael W. Young** 1949-ben született Miamiában, Floridában, és élte itt gyermekkorát egy állatkert szomszédságában. Édesapja kereskedő, édesanyja titkárnő volt. Bátorították fiuk természet iránti érdeklődését. Középiskolába Dallasban (Texas) járt. Nagy hatással volt rá Darwin egyik könyve, amelyben az élővilág rejtélyei közül a biológiai óra nyugozta le, amiről akkoriban semmit sem tudtak. A biológus diploma kiérdemlése (1971) után Burke Judd laboratóriumában volt doktoranduszhallgató Austinban (Texas). A *Drosophila*-genom szerveződését kutatta. A Judd laboratóriumában hallott Konopka

legjobb műhelye volt. Young 1978-ban lett a Rockefeller Egyetem (New York) tanára. Feleségével, Laurel Eckhardtal, aki szintén egyetemi tanár és kutató, doktoranduszhallgatóként ismerkedett meg Texasban. Két lányuk van. Young az 1980-as évek elején kezdett a *period* gén molekuláris klónozásába a Rockefeller Egyetemen. Itt ismerték meg munkatársaival a *period* mutáns allélok természetét. Egymás után fedezték fel a *timeless*, a *clock* és a *cycle* óragéneket, értették meg molekuláris funkciójukat a belső óra működésében, a napi ritmus kialakításában. Megállapították, hogy a muslica mintegy 14 000 génje közül 4–500 funkcióját szabályozza a belső óra. Napjainkban azt kutatják – széleskörű kutatási együttműködés keretében –, hogy mi a belső óra szerepe az emberek életében: miként szabályozott a molekulák szintjén az alvás és az ébrenlét, a különféle élettani folyamatok ciklikus váltakozása, a napi ritmus. Különös figyelmet fordítanak azokra a tenyésztett sejtekre, amelyeket alvási rendellenességekben, vagy depressziós betegségekben szenvedő embertársainkból készítettek.

Három rövid életrajz, néhány közös jellemzővel: tehetség, motiváció, fáradhatatlan munka, különféle kutatóiskolákban gyűjtött tapasztalat, nyitottság mások gondolatai iránt, kutatási feltételek megteremtése, legjobb kiválasztása egyetemi állásokba, kutatási eredmények közlése, és persze olyan közeg, amely értékeli a kutatások eredményeit.

azonos az állatvilágban. Természetesen vannak kisebb-nagyobb módosulások. (Például az embernek három, a muslica *period* génjének megfelelője van.) Lényegében az evolúció „talált” egy olyan megoldást, amely lehetővé teszi az alkalmazkodást a naponta változó környezeti feltételekhez, és azt kisebb-nagyobb módosításokkal megőrizte. (Zárójelben jegyezzük meg, hogy a muslica és az ember közös ősei nagyjából 600 millió évvel ezelőtt éltek.)

A belső óra minden sejtben működik. (A tenyésztett sejtek ciklusainak hossza nagyjából egy nap.) Az egysejtű, és az átlátszó élőlények sejtjeiben a belső óra fényrel könnyen beállítható. Az átlátszatlanság soksejtű élőlények az ún. mesteróra megoldást találták arra, hogy életműködésüket a változó fényviszonyokhoz igazítsák (5. ábra).

A mi mesteróránk az idegsejtek azon csoportjában ketyeg, amelyek az ún. szuprakiazmatikus magot alkotják. Hozzájuk a retina ganglionsejtjeiből érkezik az ingerület, amely akkor képződik, amikor a melanopszin-molekulák fényt nyelnek el. (A melanopszin a kék fényre a legérzékenyebb.) Érdekes, hogy sok fajban – mint például a hidasgyíkban – van egy harmadik (vagy fejtetői) szem, amely fényt érzékel, és szabályozza a mesterórát. A mesteróra pedig a tobozmirigyben képződő melatonin hormon kiválasztását irányítja a hidasgyíkban és bennünk is. A melatonin a triptofán aminosav egyik származéka. Koncentrációja éjjel magas, nappal alacsony. A tobozmirigy a melatonin révén befolyásolja a sejtek belső, periférikusnak is nevezett óráinak aktivitását. A hipotalamusz – amely az agyalapi- és a tobozmirigyvel egy nagy szabályozó egységet alkot – az ideg- és az endokrin rendszer működését integrálja, és alapvető szerepet játszik a szervezetek belső környezetének fenntartásában, a külső életfeltételekhez történő igazításában. Szabályozza a testhőmérsékletet, a táplálék- és vízfelvételt, a szexuális viselkedést, és az érzelmi életet is.

### Belső óra jelentősége

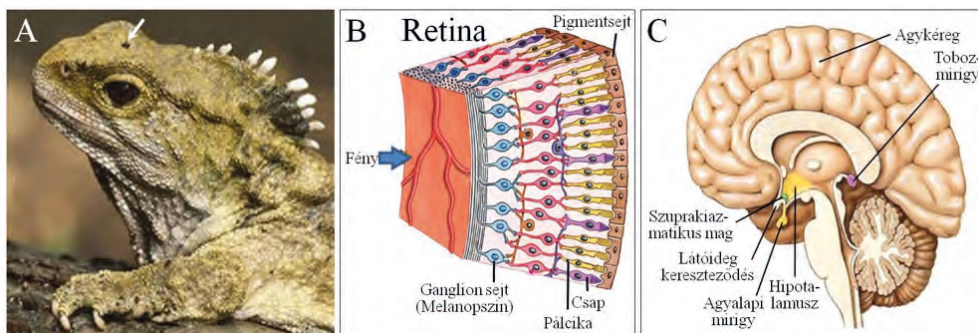
A leírtak alapján világos, hogy a sejtjeinknek van belső (periférikus) órájuk, amelyek a napi ritmust szabályozzák. (A folyamatosan sötétben élő, vagy a világta-

lan embertársaink napi ritmusának hossza 24,5 óra.) A mesteróra – a tobozmirigy és a melatonin révén – illeszti a periférikus órák működését, lényegében napi ritmusunkat a nappalok és az éjszakák váltakozásához. A belső óra és a napi ritmus összhangjának fontosságát szépen bizonyítja, hogy az évszakokénti óraeltolást mily’ nagyon megsínylik például a fejőstehenek: sokuk elapaszt, vagy a megszokottnál kevesebb tejet ad, ha az óraátállításkor össze egy órával később, tavasszal pedig egy órával hamarabb fejik őket. Sokunk közérzete napokig kellemetlen az óraátállítások idején, és bizony megkérdőjelezzük annak értelmét. A gyors időzónaváltással, vagy váltakozó éjszakai és nappali műszakban dolgozással járó kellemetlen érzések oka az, hogy nincs összhangban a melatonin, valamint a nappal/éjszaka ciklus. A kellemetlenségen melatonin-tabletták szedésével könnyen segíthetünk. A hosszú téli éjszakákkal járó depresszió hatékonyan segít a fényterápia: reggelente kék fényben gazdag fényforrás előtt készülődve stimulálhatjuk a mesteróránkat,

az öröklődő FASPS (Familial Advanced Sleep Phase Syndrome) alvási rendellenességet okozzák. A FASPS szindrómás embertársaink bár naponta körülbelül nyolc órát alszanak, ám a tyúkokkal fekszenek és kelnek: este 6–7 körül térnek nyugovóra, és másnap hajnalban 3–4-kor már talpon vannak. Az egerek *clock* óragénjének mutációi falánksághoz, elhízáshoz, rendellenes cukoranyagcserehez és cukorbetegséghez vezetnek. A megállapítás, úgy hírlík, az emberre is érvényes.

Bár sok mindent megtudtunk a belső óra és a napi ritmus rejtelméről, bőven vannak olyan jelenségek, amelyek módfelett érdekesek, és megismerésre várnak. Mi szabályozza a vakondok, vagy az örök sötétségben élő csupasz és vak földikutya belső óráját, napi ritmusát? Miként szabályozott az éjjel aktív, nappal alvó élőlények „fordított” napi ritmusa? És a téli álmot alvóké?

Különös, hogy az olyan sarkvidéki élőlényeknek, mint a hófajd és a rénszarvas, az évnek abban a szakaszában van napi ritmusa, amelyben a Nap kel és



5. ábra. A mesteróra. (A) A hidasgyík harmadik szeme (↙) fényt érzékel, és szabályozza a mesterórát. (B) A magasabb rendű állatokban és az emberben a retina ganglionsejtjeiben levő melanopszin-molekulák által elnyelt fény szabályozza a mesterórát, amely a szuprakiazmatikus mag idegsejtjeiben ketyeg. (C) A mesteróra a tobozmirigyben képződő melatonin hormon révén szabályozza a sejtek belső óráját, az élőlények napi ritmusát

igazíthatjuk napi ritmusunkat. Természetes, hogy idővel a mesteróra „alkatrészei” is elnyűnek, odatesznek. Sok szakember azt gondolja, hogy a napközben és éjjel is kelő-fekvő idős embertársaink különös viselkedése az „elromlott” órával és/vagy tobozmirigyvel kapcsolatos. Rajtuk talán melatoninnal lehetne segíteni. Van jele annak is, hogy a kóros elhízás sok emberben az összeviessza napi ritmus következménye. Vannak, akik feltételezik, hogy a modern életvitellel járó felbomlott napi ritmus (elsősorban a kevés alvás) olyan betegségek kialakulásában játszik szerepet, mint a magas vérnyomás és a rákos megbetegedések.

A napi ritmus élettani eredetű meghibásodási mellett vannak genetikaiak is. Az ember *period* génjének mutációi

nyugszik. Ám nyaranta, az állandó napsütésben, és telente, a folyamatos sötétségben megszűnik napi ritmusuk. Vajon miként kapcsolják ki belső órájukat? Vajon működnek a periférikus óráik?

Nos, a muslica *period* génjének megismerése nyomán nemcsak megértettük az élőlények ritmusának alapjait, hanem az új ismeretek birtokában megoldást találtunk a ritmussal kapcsolatos problémák megoldására. A belső óra egyébként ismert szerepéről, amit például a galambok hazatalálásában, a madarak vagy a lepkék vándorlásában töltenek be, itt nem szólunk. A téma iránt érdeklődő olvasóinknak a Természet Világában 2015-ben megjelent „Belső óra, napi ritmus” (146. évf. II. különszám, 72–77. oldal) című írást ajánljuk figyelmükbe. 