**7. FEHÉRJE FORGALOM**

**Írták: Matejka Judit, Marton Zoltán és Merczel Kinga biomérnök hallgatók,**

**Dr. Sveiczer Ákos egyetemi docens előadásai alapján**

**Az eukarióta sejtek membrán határolt kompartmentumai és azok topológiája**

Az eukarióta sejtekben belső membránok határolnak különböző funkcionálisan specializált részeket, kompartmentumokat („rekeszeket”). A különböző funkciójú kompartmentumok más néven a sejtorganellumok, amelyek azonban eredetük szerint lehetnek egymással azonosak vagy eltérőek. Az azonos evolúciós eredetű kompartmentumok egymással könnyebben tudnak „kommunikálni”, pl. fehérjéket átjuttatni egyik térből a másikba. A fehérjék szétosztása rendeltetési helyükre esszenciális ahhoz, hogy a funkcionális specializáció kialakuljon és fennmaradjon: az egyes sejtorganellumok funkcióit fehérjekészletük határozza meg, ugyanakkor a fehérjék (ritka kivétellel) a citoszolban szintetizálódnak. A sejt feladata tehát a citoszolból minden fehérjét eljuttatni a végső rendeltetési helyére.

Az eukarióta sejtek citoplazmájának kb. a felét a citoszol adja, és kb. 5-10%-ot a nukleusz, továbbá mintegy 10%-ot tesz ki az endoplazmás retikulum lumenje. Számuktól függően a mitokondriumok össztérfogata elérheti a citoplazma térfogatának 20%-át, és végül 1-3%-ot tehetnek ki a Golgi-készülék, és a parányi, de nagyszámú különböző vezikulumok (endoszómák, lizoszómák, peroxiszómák). Az egyes organellumok topológiája tükrözi evolúciós fejlődésüket. Az eukarióta sejtben 5 topológiai teret különböztethetünk meg: a citoszolt/nukleoplazmát, az endomembrán hálózat elemeinek (ER, Golgi, endoszómák, lizoszómák, peroxiszómák, transzport vezikulumok) lumenjét, a mitokondriumokat, a kloroplasztiszokat, és végül a peroxiszómákat. A **nukleusz** az egykori prokarióta citoszoljában levő DNS membránhoz való kitapadásával, majd invaginációjával jöhetett létre, tehát belső tere ekvivalens a citoszollal. Mitózis alatt a sejtmag szétesik, keveredik vele, majd újra összeáll sejtmaggá, és mindez nem túl nagy probléma az azonos topológia miatt. A sejtmag membránjával folytonos az endoplazmás retikulum membránja, amiből eredeztethető összefoglaló néven az **endomembrán rendszer**, ami ekvivalens a külvilággal is, hiszen a sejtmag körüli betüremkedés magával húzott több plazmamembránt, és az így bezárt teret tk. a külső környezet alkotta. Az endomembrán hálózat elemei ezért jól kommunikálnak egymással és a külvilággal (endocitózis, exocitózis) is. Az exogén fejlődésű **mitokondrium** és **kloroplasztisz** külön-külön topológiai tereket alkotnak, hiszen ezek az organellumok két különböző, a törzsfejlődés során bekebelezett prokariótából jöhettek létre. Erre utal a saját bakteriális jellegű genomjuk, genetikai apparátusuk prokarióta működése, és talán a dupla membránrétegük is. A mátrix és a sztróma végső soron nem más, mint az egykor bekebelezett baktériumok citoplazmája, amelyek nem tudnak könnyen kommunikálni a citoszollal és egyéb sejtalkotókkal sem. A **peroxiszómák** is külön topológiai teret alkotnak, ugyanakkor eredetük még ma sem tisztázott kellőképpen.

**A proteinek kompartmentumok közötti transzportjának fő típusai**

Az organellumokban speciális reakciók játszódnak le, melyekhez speciális fehérjék szükségesek. Ezek a citoszolban képződnek, és 3 lehetséges módon kerülhetnek a rendeltetési helyükre. Természetesen számos fehérje nem szállítódik sehová, hanem a citoszolban marad (pl. a glikolitikus enzimek vagy a sejtváz fehérjéi).

**Kapu transzport**

A kapu transzport a sejtmag és citoszol ekvivalens terei között játszódik le. A sejtmagmembránon nagy pórusok, „kapuk” vannak, melyeken a fehérje végleges térszerkezetet felvéve is átférhet. **Poszt-transzlációs transzport**nak tekintjük, mivel a fehérjeszintézis befejezése után szállítódik a fehérje.

**Transzmembrán transzport**

Szűk nyílásokon keresztül speciális membránfehérjék, ún. protein transzlokátorok segítségével történik a szállítás két különböző topológiájú egység között (pl. a citoszol és a mitokondrium közt). A transzlokátor szelekciót végez, csak a „megfelelő” fehérjét engedi be az adott sejtalkotóba. Ez is poszt-transzlációs transzport többnyire, de a szűk nyílás miatt a fehérjék csak elsődleges szerkezetükben, ún. prekurzor protein formában képesek bejutni, és a térszerkezetüket az organellumokban veszik fel. A DER esetében viszont egyszerre folyik a fehérje szintézise és transzportja, ezért ezt **ko-transzlációs transzport**nak nevezzük.

**Vezikuláris transzport**

Ez az endomembrán hálózat kommunikációja, ami a citoszoltól elzártan valósul meg. Az egyik elemről (pl. ER) lefűződő hólyagocskákban szállítódik a fehérje, amely beolvadhat egy másik endomembrán sejtalkotóba (pl. Golgi) vagy a sejten kívülre ürülhet (exocitózis). A vezikuláris transzport során a szállított fehérjék nem haladnak keresztül semmilyen membránon, szállításuk tipikusan poszt-transzlációs és végső térszerketükben történik.

**Szignál peptidek és szignál foltok**

Ahhoz, hogy a fehérjék a megfelelő sejtorganellumokba kerüljenek, speciális szignállal kell rendelkezniük, egyébként a citoszolban maradnak. A legtöbb esetben **szignál peptid** biztosítja a fehérjék megfelelő helyre való eljutását a sejtalkotókon lévő speciális receptorokhoz való kapcsolódásával. A célállomásra kerülés után a szignál peptid gyakran lehasításra kerül egy enzim (szignál peptidáz) által, hogy ne tudjon kikerülni az organellumból. Specifikus szignál peptidek felelősek a citoplazmából a sejtmagba, a mitokondriumba, a kloroplasztiszba, a peroxiszómába és az ER-be szállításért, továbbá a nukleusz elhagyásáért és az ER-ben történő visszatartásért is. A Golgi-ból a lizoszómába való transzport pedig egy ún. **szignál folt** segítségével valósul meg. A szignál peptidek 3-80 aminosavat jelentenek a fehérje elsődleges szerkezetében, tipikusan valamelyik terminálison, hogy eltávolíthatók legyenek. A szignál peptidek szintézisük során még szerves részét képezik a fehérjének, és kódjuk is megtalálható a fehérje génjében. Ha pl. az ER szignál peptid kódját eltávolítják egy ER fehérje génjéből, a képződő fehérje a citoplazmában marad.

**Fehérjék transzportja a citoplazmából a sejtmagba, a mitokondriumba és a kloroplasztiszba.**

**Citoplazmából a sejtmagba**

A sejtmag és citoszol között kétirányú anyagáramlás történik. Befelé pl. hisztonok és transzkripciós regulátorok (import), kifelé pedig citoplazmás fehérjék, riboszóma alegységek és mRNS-ek mozoghatnak (export). A transzport oktagonális elrendezésű nukleáris pórusokon keresztül zajlik, melyek átérik az egész magburkot (külső és belső membrán, perinukleáris tér). Kifelé kiálló fonalas fehérjék, míg befelé egy kosárszerű rész néz. A „kis” molekulák (határ kb. 9 nm vagy 60 kDa) számára a pórus „zárt” állapotban is könnyen átjárható. Ahhoz, hogy a nagyobb fehérjék is bejuthassanak, nukleáris lokalizációs szignállal (NLS, szignál peptid) kell rendelkezniük, melyet egy importin nevű receptor fehérje érzékel a citoszolban. Az importin hozzákötődik az NLS-sel jelölt fehérjéhez, és komplexként a 9 nm-es rés kitágításával beviszi azt a sejtmagba. A nukleoplazmában az importinnak nagyobb az affinitása egy GTP-t kötő Ran fehérjéhez, ahhoz hozzákapcsolódik és ezáltal a bevitt fehérje szabaddá válik. Az importin egy póruson keresztül kijut a citoszolba a Ran-GTP-vel együtt. Ott egy enzim a GTP-t GDP-vé hidrolizálja, az importin pedig leválik a Ran-GDP-ről, és utána egy új NLS-lel jelölt fehérjét tud bevinni a nukleuszba. „Aktív” transzport valósul meg, hiszen az importin recirkuláltatásához a GTP energiája szükséges. A bevitt fehérjékről sosem válik le az NLS, mivel a mitózis során a sejtmag szétesik, a fehérjék a citoszolba kerülnek, és a következő ciklus elején esetleg újra be kell jussanak a sejtmagba. A sejtmagból kifelé történő anyagtranszport NES (nukleáris export szignál) szignállal és exportin nevű receptorral, hasonló módon zajlik le. A korai G1 fázisban „rendet rak a sejt”: a nukleusz képződése során véletlenszerűen rossz helyre került fehérjéket szignáljaik (NLS, NES) alapján pakolja a helyükre.

**Citoplazmából a mitokondriumba**

A mitokondriumba transzportált fehérjék jelentős része a mátrixba kerül. A megfelelő szignállal rendelkező fehérje két, kapcsoltan működő transzlokátor segítségével jut át egyszerre a külső és a belső membránon. Csak prekurzor fehérjék képesek átjutni, ezért a citoszolban levő egyes chaperone („dajka”) fehérjék meggátolják a feltekeredésüket. A mátrixba bejutott fehérjékről a szignál peptidáz lehasítja a szignált, ezáltal azok irreverzibilisen ott maradnak. A belső membrán fehérjéi pedig tartalmaznak egy második szignált is, amelyik az első (mitokondriális) szignál levágódása után a belső membránba irányítja ezeket a fehérjéket.

**Citoplazmából a kloroplasztiszba**

A transzport hasonló a mitokondriumba való bejutáshoz, de persze a szignál peptid attól eltérő. A kloroplasztiszba szállított fehérje több szignállal is rendelkezhet. Az első (sztróma) szignál a külső és a belső membránon át a sztrómába viszi a fehérjét (kapcsoltan működő transzlokátorokon keresztül), ahol a (sztróma) szignál peptidáz levágja ezt a szignált. Ha nincs rajta még egy szignál, akkor ott marad a fehérje tartósan a sztrómában, míg ha rendelkezik egy második szignállal is, akkor továbbmehet a tilakoid térbe vagy a tilakoid membránba.

**Fehérjék transzportja a citoplazmából a peroxiszómába. A peroxiszómák ősi és modern funkciói**

A peroxiszómát csak egy membrán határolja, ezért könnyebben jutnak be a fehérjék transzmembrán transzporttal, mint pl. a mitokondriumba. A szelektív transzport során többek között jellegzetes oxidatív enzimek (oxidázok, kataláz) kerülnek be ide. Ezek oxidálnak bizonyos szerves vegyületeket (húgysav, hangyasav, zsírsavak, hidroxisavak, aminosavak, alkoholok, fenolok) a „légzési” O2 segítségével, ami közben hidrogén-peroxiddá redukálódik, amit (ha nincs szerves szubsztrátja) a kataláz enzim bont vízzé és oxigénné.

Az ősi peroxiszóma szerepe az O2 sejtből történő eltávolítása lehetett, de ezt a mitokondrium megjelenése után elvesztette. Modern funkciói főleg olyanok, melyekre a mitokondrium nem képes (pl. detoxikálás). Az oxigénből H2O2-ot termel, ezzel egyéb szerves szubsztrátok oxidálhatók. Fontos a májban és a vesében, és pl. az etil-alkohol egy része itt oxidálódik acetaldehiddé. A peroxiszómáknak szerepük van a zsírsavak β-oxidációjában is, és a kataláz enzim révén az oxidatív stressz ellen mind a mai napig védik a sejteket.

**Szabad és kötött riboszómák**

Az ER kiterjedt membránhálózat, zárt lumenje van, kapcsolódik a nukleuszhoz. Fő feladata a fehérje- és lipidszintézis. A fehérjeszintézis a riboszómákon valósul meg, melyek alegységei a sejtmagból kerülnek a citoszolba, és mRNS jelenlétében állnak össze működő riboszómává. „Két típusuk” van, melyek strukturálisan és fukcionálisan megegyeznek, csak a szintetizált fehérjében különböznek, és mindkettő poli(ribo)szómákat képez az mRNS-en. A **szabad riboszómák** olyan fehérjéket gyártanak, melyek nem az ER-be kerülnek, tehát pl. a citoszol, a nukleusz vagy a mitokondrium importált fehérjéit. A **kötött riboszómák** az ER-be kerülő fehérjéket szintetizálják úgy, hogy a transzláció a citoszolban kezdődik el, majd pedig az egész apparátus lekötődik a DER felszínére. A képződő fehérje azonnal a transzportálódik az ER lumenjébe vagy membránjába, a szintézis befejezése után pedig felszabadulnak a riboszóma elegységek. Itt képződnek pl. az ER és a Golgi fehérjéi, vagy a szekréciós és az integráns membrán proteinek.

**Az endoplazmás retikulum típusai és azok különböző funkciói**

Az ER-t az alapján csoportosítjuk, hogy felszínén találhatók-e riboszómák vagy sem. A durva endoplazmás retikulumon (DER) helyezkednek el a kötött riboszómák. A DER kétféle fehérjét importálhat a citoszolból. Integráns membránfehérjéket, melyek az ER membránjába épülnek be hidrofób részükkel, valamint vízoldhatókat, amelyek bekerülnek az ER lumenjébe. A sima endoplazmás retikulumnak (SER) nincs a felszínén riboszóma. Rajta intenzív lipidszintézis folyik, az egész endomembrán hálózatot és a sejtfelszínt is új membránnal (foszfolipidekkel és szteroid lipidekkel) látja el vezikuláris transzport révén. Még a mitokondriális foszfolipideket is a SER állítja elő, de azokat ún. foszfolipid transzfer proteinek juttatják el a rendeltetési helyükre. Részt vesz továbbá szteroid hormonok termelésében, valamint szerepe van detoxikációs folyamatokban is. Ugyanis a SER-ben az ún. vegyes funkciójú oxidáz (MFO) is megtalálható, mely oxidál számos apoláris szerves anyagot, amelyek ezáltal vízoldhatóak lesznek, így kijuthatnak a sejtből és a szervezetből is. Az izomsejtben található szarkoplazmás retikulum egy módosult SER: Ca2+-ionokat raktároz, és jel hatására csatornákon át kijuttat a citoplazmába, ezáltal kontrakciót kiváltva. Az ER fontos funkciói még az itt képződő fehérjék kovalens módosítása és korrekt feltekerése.

**Fehérjék transzportja az ER lumenjébe. Transzmembrán proteinek szintézise**

Az ER lumenjébe szánt fehérjék szintézise szabad riboszómákon kezdődik meg. Először az ER szignál peptid képződik az N-terminálison, melyhez hozzákötődik az ún. szignál felismerő részecske (SRP). Ez pedig a DER felszínén lévő SRP receptorhoz (más néven dokkoló fehérjéhez) kapcsolódik, lekötve az eddig szabad riboszómát a transzlokációs csatorna mellé. A kapcsolat megteremtése után az SRP leválik a komplexről. Ezután a fehérjeszintézis folytatódik, és a növekvő fehérjelánc a transzlokációs csatornán keresztül bekerül az ER lumenjébe. A szintézis során a szignál peptidáz hasítja le a szignál peptidet, a fehérje teljes egészében bejut a lumenbe, ahol felveszi térszerkezetét.

Az ER lumenjébe azonban nem az összes itt gyártott fehérje jut be teljes mértékben. A transzmembrán fehérjék különlegessége, hogy képesnek kell lenniük a lipid kettősrétegben való rögzítettségre. A vízoldható fehérjékhez hasonlóan a szignál peptid, ami itt ún. start-transzfer szignálként működik, kötődik az SRP-hez. A szintézis során egy stop-transzfer szekvencia is képződik, ami hidrofóbicitása miatt nem megy át a membránon, megállítva a teljes fehérje bejutását. Ekkor a riboszóma ledisszociál a membránról és a citoszolban fejezi be a C-terminális részt. A szintézis során a szignál peptidáz levágja az N-terminálison lévő strart-transzfer szignált, de nem ismeri fel a stop-transzfer szignált. Így végeredményben a fehérje N-terminálisa a lumenben, a C-terminálisa pedig a citoszolban lesz, és egyszer szeli át a membránt. A transzmembrán fehérjéknek létezhet azonban olyan fordított orientációja is, hogy az N-terminális van a citoszolban: ehhez egyetlen belső start-traszfer szignál kell, amit a szignál peptidáz nem ismer fel. Többszörösen is átszelhetik a membránt egyes integráns fehérjék, ehhez további hidrofób, felváltva start- és stop-transzfer szignálok szükségesek.