

## Útmutató a Sejtbiológia tanulásához az Anatómia, Szövet- és Fejlődéstan keretében

**Az Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet  
2010/2011 tanévben elsőéves, ÁOK-s hallgatói számára.**

**Dr. Kálmán Mihály egy. tanár**

### Előszó

Az egyetemi Curriculum Bizottság határozata értelmében a Sejtbiológia témakör oktatását a morfológiai vonatkozású anyagrészek esetében az Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstan Intézet, ill. a Humánmorfológiai és Fejlődésbiológiai Intézet, míg a funkcionális anyagrészeket illetően az élettani és biokémiai intézetek veszik át.

Az anyag elsajátításához továbbra is rendelkezésre állnak a Biológiai Intézet által készített könyvek-jegyzetek, jelesül

- Madarász-Csaba: A sejt szerkezete (Elektronmikroszkópos atlasz)
- Darvas-László: Sejtbiológiai Jegyzet (SbJ)
- Fülöp: Biológiai Gyakorlatok jegyzet (BGy)

továbbá ajánlható

- Röhlich Pál: Szövettan általános szövettani része (sok mindent felölel a sejtbiológiából is, de külön nem kapható, csak a részletes szövettani résszel együtt)
- Szabó és mtsai: Sejtbiológia, Medicina, Budapest, 2009 (messze többet ad a kötelező anyagnál!).

Ezért, és az átálláshoz rendelkezésre álló idő rövidege miatt is, Intézetünk egyelőre nem adott ki saját jegyzetet az általunk most oktatásra kerülő anyagból. Ehelyett ez a rövid, házi készítésű Útmutatót adjuk. Ebben megjelöljük

- mi az, aminek tudása a középiskola elvégzése alapján elvárható;
- az egyes témakörökhöz (- az egyes előadások anyagához) mit kell megtanulni a Sejtbiológia jegyzetből;
- mik azok az anyagrészek, amelyeket más tantárgyak keretében oktatnak;
- hogyan kapcsolódik anyagunk a Szentágothai-Réthyi Funkcionális Anatómia (továbbiakban: SzR) egyes fejezeteihez;
- részletesebben kidolgoztunk néhány témakört, ahol ezt szükségesnek láttuk.

Az anyag sorrendje nem a Sejtbiológia jegyzet fejezeteinek sorrendjéhez igazodik, hanem a témából tartott előadások szerint van tagolva (ezek számozása pedig ugyanaz, amelyet a tanmenetben viselnek). Lényeges: amikor valamire azt mondjuk 'nem megtanulandó' – az csak az Intézetünkönél tett számonkérésekre vonatkozik. Más intézetek (Biokémia, Élettan) ezeket oktatni fogják, és számon is kéri. A 'megtanulandóként' említett anyagrészek esetében a vázlatos rajzokat is reprodukálni kell. Az apró betűs részek csak tájékoztatásul vannak. Kémiai képleteket megtanulni nem kell, de a változások lényegét érteni igen. Mivel előfordulhat, hogy az Útmutató szövegén menet közben is kell változtatni, az esetleges változásokat színes betűvel fogjuk nyomni, és a változtatás időpontját a cím alatt feltüntetjük.

## Az idevonatkozó előadások címe, és helye az ez évi előadások sorrendjében:

2. Fény- és elektronmikroszkópos hisztotechnika.  
Immunhisztokémia, *in situ* hibridizáció, autoradiográfia
3. A sejt membránrendszerei, membrán-recikláció, exo-, endocitózis
4. 2012-ben: az első szöv. gyak. anyaga, ill. egyrésze a Mirigyhám előadásba vonódott.: A sejtorganellek szerkezete.
5. 2012-ben: 6. ea.: A sejtmag és a kromoszómák
10. 2012-ben: 9. ea.: Sejtfelszíni specializációk, sejtkapcsolatok,
17. 2012-ben: 9. és 16. ea.: Sejt-kötőszöveti kapcsolatok, lamina basalis, extracelluláris mátrix.
26. 2012-ben: 28. ea.: Mitózis, őssejtek, differenciálódás
31. 2012-ben: 34. ea.: Citoszkeleton és sejtmozgás
- XX. Meiózis, ivarsejtképződés (a második félévben)

## 2. Fény- és elektronmikroszkópos hisztotechnika

### A középiskolás tanulmányok alapján elvárt ismeretek:

- a fény hullámtermészete, törés, fázis, polarizáció, interferencia, elhajlás fogalmai;
- a képalkotás módja a fénymikroszkópban, ill. az elektronmikroszkópban;
- a képalkotás elvi határai a fény sugar, ill. az elektronsugár hullámtermészete alapján;
- fluoreszcencia, röntgensugárzás.

A különböző elveken alapuló mikroszkópok képalkotásának menetét részletesebben a Biofizika tantárgy keretében fogják tanulni, a második félévben. Rövid ismertetést ad BGY 7-9. ill. 24-26. old. A fénymikroszkóp részeinek és használatának gyakorlati oktatására az első szövettani gyakorlaton kerül sor.

### A) Fénymikroszkópos hisztotechnika

Kétféle megközelítést alkalmazhatunk.

- a) a vizsgált objektumot a mikroszkóp alá helyezve, alulról átvilágítjuk, ezzel belső szerkezetéről kapunk információt;
- b) felülről világítjuk meg, ezáltal felszíni sajátosságait vizsgálhatjuk. Ehhez ma már mindig ún. **sztereomikroszkópot** használunk (ld. Biofizika), amelynek különleges objektíve van, nem tévesztendő össze a gyakorlatokon is használt binokuláris mikroszkóppal.

Az átvilágításos módszernél két feltételnek kell teljesülnie:

- a) a vizsgált minta legyen olyan vékony, hogy a fény áthatolhasson rajta;
- b) a vizsgált belső szerkezeti elemek (pl. sejtek, sejtrészek, stb.) színükben vagy fénytörésükben legyenek eléggé különbözőek.

A legtöbb sejtnek nincsen, vagy alig van természetes színe (kivételek pl. a vörös vértetek, ill. a pigmentált sejtek), és részeik törésmutatója alig különbözik a víztől, vagy a környező szövetnedvétől. Ha élő mintát vizsgálunk, a vékonyság feltétele többnyire csak kenetek, sejttenyészetek esetén érvényesül. A sejtek, szövetek pusztulása után pedig szerkezetük felbomlik, nem vizsgálható, bár a kenetek beszárítással tartósíthatók. Festési módszerek élő sejten csak ritkán alkalmazhatók (ilyenek az ún. szupravitalis festések, pl. neutrálvörössel, vagy a fagocitózis kimutatása). A struktúrákat elkülöníthetjük fénytörésük minimális különbségeinek felhasználásával (**fáziskontraszt-**, ill. **interferencia mikroszkóp**, ld. Biofizika), vagy a polarizált fényre gyakorolt hatásuk alapján (**polarizációs mikroszkópia**).

Polarizáció, kettőtörés, anizotrópia – valamennyinek alapja a struktúra rendezettsége, emiatt gyakran együtt kerülnek szóba, és néha fel is cserélik, vagy szinonimaként emlegetik őket. Részletesebben a Biofizika ill. a Biokémia foglalkozik velük, de röviden célszerű itt is leírni:

- **Izotrópia és anizotrópia:** Valamely közegben valamely fizikai jellemző azonos, ill. nem azonos a tér minden irányában. Az anizotrópia a tér valamely irányában rendezett szerkezetre utal. Leggyakrabban a fénytörés esetében tapasztalható.
- **Polarizáció:** A fénytanban azt jelenti, hogy a fény elektromágneses rezgése egy bizonyos síkba esik. Polarizációt hozhat létre a közönséges üvegen való visszaverődés is, ha a beesési szög megfelelő (tangense 1,5), de jellemző a rendezett struktúrákra is.
- **Kettőtörés:** Akkor lép fel, ha egy anyagban kétféle törésmutató mérhető, a minden irányban azonos 'normális' fénytörés, és egy csak bizonyos irányban észlelt, az áthaladó fény egy részére (ún. 'rendellenes sugár') érvényes törésmutató. Tehát tkp. anizotrópia következménye, és szintén rendezett szerkezetre utal. Lehet pozitív vagy negatív, egy- vagy kéttengelyű (részletesebben ld. a fénytan idevonatkozó fejezeteit).

Az említett 'rendezett struktúrákra' a fénytanban általában kristályszerkezeteket hoznak fel például, de így viselkednek a fonalszerű molekulák, ha áramlás hatására ('áramlási kettőtörés'), vagy a szövetekben (izom, kollagénrost) rendeződtek

Ahhoz, hogy hosszan eltartható, jól vizsgálható anyagokat kapjunk, a következő műveletekre van szükségünk: fixálás, beágyazás, metszés, festés, fedés. Ld. BGy 10-14. old. is.

**a) Fixálás** a halál utáni lebomlás meggátolására, az eredeti szerkezet megőrzésére. Régebben sokféle, rafinált összetételű fixálót alkalmaztak, fehérjekicsapó nehézfém-vegyületeket (pl. szublimát, ozmiumtetroxid), vízelvonó alkoholt (erősen zsugorít!), stb. Mára szinte egyeduralkodóvá vált az aldehides fixálás. Az aldehidek a fehérjék oldalláncai között keresztkötéseket hoznak létre. Leggyakrabban formaldehidet használnak, vagy ennek poralakú származékát, a paraformaldehidet (természetesen feloldva!).

A fixálásnak két útja van:

- immerziós: egyszerűen a fixálóoldatba merítjük az anyagot, amelybe diffundál a fixáló. Ilyenkor az anyag közepe lassan fixálódik, bomlást szenvedhet, a kapillárisokat a halál után duzzadó szövetek összenyomják. Emberi anyagot rendszerint így fixálnak.
- perfúziós: az állatot igen mélyen elaltatjuk, és a szívébe kötött kanülön át fixálóval töltjük fel. Ez a módszer gyorsabb, és a kapillárisok ürege nyitott marad.

**b) Beágyazás:** minél vékonyabb szeletet akarunk készíteni, annál keményebbé kell tennünk az anyagot. Erre a célra szolgál a beágyazás. A beágyazószerek vízzel nem keverednek, a vizes anyagot nem járják át, ezért az anyagot egyre töményebb alkoholfürdőkhöz víztelenítjük. Ezután egy 'intermediér' közegbe tesszük (pl. xilol), amely az alkoholt is, a beágyazószert is oldja. Végül meleg paraffinnal, celloidinnal, vagy újabban paraplaszttal (szintetikus viasz) itatjuk át (infiltráció), amely lehűtve megszilárdul. Beágyazás előtt fontos az anyag orientációja (milyen részét, milyen síkban akarjuk metszeni?). A beágyazott szövetminta a **blokk**.

**c) Metszés:** acélkéssel, mikrotómmal végezzük. A metszetvastagságot áttétellel állítjuk be, általában 2-10 mikrométer közöttire.

A beágyazás hátrányait (idővesztés, alkohol és más szerves oldószerek hatása) fagyasztva metszéssel kerülhetjük ki (pl. ha lipideket akarunk festeni, vagy műtét közbeni szövettani diagnózisra van szükség). Ugyanakkor egyes metszhetetlenül kemény anyagokat (csont, fog) csiszolással vékonyítunk el (igen nehéz eljárás, a csiszolatok ezért ma már igen ritkák és értékesek). A kenetekről már volt szó. Bizonyos esetekben vékony rétegeket lehúzva, azokat kitergethetjük (nyúzat, ill. kiterített készítmény).

**d) Festés:** Alapja lehet fizikai (zsírfestők), ionos kötés (pl. a bázikus hematoxilin a savakhoz kötődik: ún. 'bazofília'), kovalens kötés (pikrinsav a fehérjékhez), stb (BGy 15-23. old.)

A festések lehetnek:

- progresszívak vagy regresszívok (más néven felszállók vagy leszállók), utóbbinál előbb 'túlfestünk', majd a nemkívánatos felesleget kimossuk (differenciálás)
- szimultán vagy szukcesszív, aszerint, hogy a festő-anyagokat egyszerre, vagy egymás után alkalmazzuk;
- elektív, ill. szelektív, aszerint, hogy egy bizonyos anyagot akarunk feltüntetni, vagy esetleg többet egymás mellett;
- direkt vagy indirekt, aszerint, hogy a festék közvetlenül, vagy előkezelés után kötődik;
- pozitív vagy negatív, utóbbinál nem a keresett struktúrát festjük, hanem a háttérét;
- orto- vagy metakromáziás, aszerint, hogy a festék a saját színére, vagy más színűre fest;
- impregnációk: nehézfémekkel (ezüst, arany, króm) való átitatás után bizonyos struktúrákon a fém kiválik az oldatból, fekete, barna, vagy sárga színt adva nekik.

Festés nélkül vizsgálhatjuk az eleve színes struktúrákat (natív készítmények).

A **hisztokémiai reakciók** egy adott anyag színes és nem oldódó terméké alakításán alapulnak. Ilyennek tekinthető pl. a félév során megismertek közül a Schiff-reakció. A festések és a hisztokémiai reakciók között nem lehet éles határt vonni, ld. például a pikrinsavval való fehérje-festést. Az **enzimhisztokémiai** reakciók esetében az enzim az általunk adott szubsztrátból képez színes, oldhatatlan terméket, ilyet ismernek meg majd a kolinészteráz-reakció esetén (ld. még BGy 35-40. old.). Bizonyos enzimaktivitás ui. a fixálás dacára is megmarad.

A sokféle festéssel, azok hatásával a gyakorlatokon ismerkedünk meg A legfontosabb festések fő komponenseit, és hatásuk lényegét ismerni kell. Az BGy-ben leírt metodikák közül a hematoxilin-eozin, May-Grünvald-Giemsza, toluidinkék, krezilibolya, Schiff- és perjódsv-Schiff (PAS) módszereket kell ismerni, a reakciók lényegét értve, de kémiai képletek nélkül.

**e) Fedés.** A metszeteket tárgylemezre terítve, fedőanyaggal (régén főleg kanadabalzsam, ma DePeX) és fedőlemezzel lefedve vizsgáljuk. Fedőanyag nélkül a levegőn beszárad az anyag, és a benne kialakuló sok kis légbuborék erős fényszórása miatt átlátszatlaná, fehéressé válik. Ugyanez történik, ha a fedőlemez nem fed megfelelően.

### Különleges fénymikroszkópos eljárások

**Fluoreszcens mikroszkópia** és ennek továbbfejlesztett formája, a **konfokális mikroszkópia** (BGy 45. old.): A fluoreszcencia fizikai lényegét ld. középiskolai tanulmányok, ill. 2. félév, Biofizika. Vagy a természetes fluoreszcenciát használjuk fel, vagy fluoreszcens festékekkel festünk. Ez utóbbiakat manapság elsősorban az immunhisztokémiai vizsgálatokban (ld. a 6. előadást, ill. BGy 41-44. old.) használják. A konfokális mikroszkóp egyszerre csak a metszet egy (beállítható) mélységében alkot képet.

**Immerziós mikroszkópia:** Lényege, hogy a vizsgált anyag és az objektív közötti légteret nagy fénytörésű immerziós olajjal töltjük ki. Ez növeli a feloldóképességet (ld. Abbe-képlet, BGy 7. old.). Ezt csak a legnagyobb felbontóképességű, ún. 'immerziós' lencséknél használjuk, amelyek enélkül nem is adnának használható képet (ún. 'immerziós' lencsék, vékony fekete gyűrű jelöli őket). Más lencséhez ne használjunk immerziós olajat, mivel még ha nyomokban is marad rajta, a lencsét maszatossá teszi.

A **sötétlátóteres mikroszkópia (ultramikroszkópia)** és az **ultraibolya mikroszkópia** inkább csak történeti érdekességű. Előbbi azon alapult, hogy sötét látótérbe oldalról fényt engedve, még az elvben láthatatlan kis részecskék is meg-megcsillantak (mint porszemcsék a lámpafényben). Az utóbbi azt használta ki, hogy a fénymikroszkóp feloldásának alsó határa (a kisebb fokú fényelhajlás miatt) csökken a fény hullámhosszának csökkenésével (ld. Abbe-képlet, BGy 7. old.). Az ultraibolya fényt áteresztő kvarclencsét igényel, és a vizsgált struktúra csak fényképezhető (vagy monitorra kivetíthető), közvetlenül nem szemlélhető. Az elektronmikroszkópia nagyrészt kiszorította ezeket az eljárásokat.

**Érfeltöltés:** A szerv ereibe még beágyazás és metszés előtt megfelelő festéket, pl. tust fecskendezünk. Utána vagy metszeteket készítünk, vagy esetleg az erek körüli szöveteket megfelelő anyaggal impregnálva átlátszóvá tesszük (átderítés). Ez utóbbi esetben az érszerkezet sztereomikroszkóppal térben is szemlélhető. A befecskendezés erejének, ill. a festékoldat viszkozitásának változtatásával elérhető, hogy csak artériák, csak vénák, vagy az egész érrendszer látszódjon. Különböző színű festékek alkalmazásával artériák és vénák, vagy különböző erek eloszlási területei elkülöníthetők.

**Sejtfeltöltés:** A sejtbe kapillárisal festékanyagot töltve, ágrendszerét szemléltethetjük (főleg neuronoknál használt), róla számítógépes modellt készíthetünk. Az eljárást élő sejtben alkalmazva kombinálhatjuk az idegsejt jellemző akcióspotenciál-sorozatának 'tüzelési mintájának' regisztrálásával.

**Sorozatmetszés** esetén számos, egymáshoz hasonló metszetet kapunk, amelyeket különbözőképpen festve, az egyes eljárások hatását összehasonlíthatjuk. Sorozatmetszetek alapján a struktúrák térbeli szerkezetét is rekonstruálhatjuk (ld. BGy 30. old., II/4. ábra).

## B) Elektronmikroszkópos hisztotechnika

Az elektronmikroszkópiában szintén megkülönböztetünk áteső sugárzásban a belső szerkezetet vizsgáló formát (transzmissziós elektronmikroszkópia, TEM BGy 24-26. old.), és a felületet vizsgáló pásztázó (scanning) elektronmikroszkópiát (SEM, BGy 33. old.). Az elektronmikroszkópos hisztotechnika lépései elvben hasonlóak a fénymikroszkópéhoz, de a nagy feloldás miatt a követelmények magasabbak (BGy 27-29. old.). Az elektronok egy fluoreszkáló ernyőn alakítanak ki képet, a vizsgáltkp. ezt szemléli. Ahová kevesebb elektron jut, ott a kép sötétebb ('elektrondeficit') lesz.

**a) Fixálás** szinte kizárólag perfúzióval és glutáraldehidet is tartalmazó fixálóval történik. Még beágyazás előtt az anyagot **ozmiumtetroxiddal** utófixáljuk (impregnáljuk), ennek során a lipidekben fémozmium csapódik ki (eredetileg zsírfestőként használták). Ez részben fokozza a fixáló hatást, részben, mint nehézfém, elektronszóró hatású, így a lipidtartalmú membrán-rétegeknek sötét (elektrondeficit) 'színt' ad.

**b) Beágyazáshoz** igen keményre merevedő, több komponensből összeállított műgyantát (pl. araldit) használunk, amiből igen vékony metszetek is készíthetők. A dehidráció elve azonos, az 'intermedier' általában propilénoxid.

**c) Metszés.** A beágyazószer keménysége miatt üveg- sőt, esetleg gyémántkéssel kell metszeni. A metszetvastagság beállítása (az 'előretolás' két metszés között) általában hőtágulás segítségével történik.

**Félvékony metszetek.** Részben, mivel az üveg- és gyémántkések maguk is kicsik, részben, mivel minél vékonyabb a metszet, annál kisebb is kell hogy legyen (gyűrődés, szakadás veszélye), az elektronmikroszkópos metszetek kicsik, és még egy kis metszetet is soká tart alaposan átvizsgálni. Tehát jól meg kell gondolni, melyik területet vizsgáljuk. Ezért az elektronmikroszkópiára beágyazott anyagból előbb aránylag vastag (1-1,5 mikrométer), de a szokásos fénymikroszkópos metszetenél jóval vékonyabb metszetet készítünk (ld. még BGy 13-14. old.). Általában toluidinkékkel festjük. Ennek alapján döntjük el, az anyagnak melyik részét érdemes tovább metszeni ultravékony metszetekké (a többit lefaragjuk).

Az **ultravékony metszetek** vastagsága 50-100 nanométer. A helyes vastagságot a metszet színe alapján lehet beállítani. A metszeteket kis, kör alakú rácsos lemez (**gried**) tartja meg az elektronmikroszkópban. Rendszerint rézből készül (nem mágnesezhető, így nem tapad a túhegyes fémcsipeszhez, amellyel megfogják). Mivel a valódi 'rács' az anyag egy részét kitakarja, ezért használnak 'lyukas' griedet is, amelynek lyukát vékony hártáival vonják be, erre teszik a metszeteket.

**d) Kontrasztzás ('festés'):** A grieden lévő metszetet további nehézfém-vegyületekkel (általában uranilacetát, ólomcitrát) kezeljük, ami a nukleinsav- ill. fehérjetartalmú struktúrák elektronszórását fokozza, ezzel 'elektrondenzé' teszi őket.

### Különleges eljárások

**Fagyasztva törés (freeze-fracture), ill. fagyasztva maratás (freeze-etching).** A már említett pásztázó mikroszkópiát alkalmazzák úgy is, hogy a hirtelen megfagyasztott mintát törik, vagy a jeget szublimáltatva 'maratják' (ld. még BGy 32. old.), ilyen módon a membránrendszerek belsejében lévő fehérjerészecskék is jól láthatóvá válnak (ld. majd később, ezek leírásánál). A fagyasztás folyékony nitrogénben történik, 196 °C-on. Az igen alacsony hőmérsékleten való gyors fagyasztásnál az anyagban lévő vízből képződő jégkristályok aprók maradnak, így a sejtstruktúrát kevésbé károsítják. A kontraszt növelése érdekében a törött felszínre **nehézfémet (pl. platínát) gőzölögtetnek**. Az ilyen anyagon való tájékozódás külön gyakorlatot igényel. Vastag anyag felszínéről nehézfém- és szén-gőzölögtetés után levonható **replikát** készítenek.

**A hisztokémia, enzimhisztokémia, immunhisztokémia** módszerei (ld. később) szintén adaptálhatók elektronmikroszkópra. Alapvető feltétel minden esetben az erősen elektrondenz, lehetőleg nehézfémeket tartalmazó végtermék. Az elektronmikroszkópiában is alkalmaznak **sorozatmetszést** és térbeli rekonstrukciót. Alkalmazható **negatív festés** is. Finom érelaszók **korroziós készítményei** is vizsgálhatók pásztázó mikroszkóppal.

**Elektronmikroszkópos röntgen-mikroanalízis:** Az elektronsugárzás a mintához érve röntgensugárzást is kivált. Ez részben fékeződési röntgensugárzás (mint az orvosi röntgenkészülékben), folyamatos hullámhosszal, részben ún. karakterisztikus röntgensugárzás (ld. Biofizika), amelynek hullámhossz-spektruma függ a vizsgált minta elemeitől. Sajnos, az élő szervezetet alkotó atomok általában túl 'könnyűek', és a fémionok ki is oldódnak a hisztotechnikai procedúra során. Ezt elkerülendő, a fagyasztva-szárítás, ill. fagyasztva-helyettesítés módszereit alkalmazzák (**freeze-drying, freeze-substitution**). Gyors fagyasztás után az előbbinél vákuumban szublimáltatják (olvasás nélkül elpárologtatják, hasonló eljárás a liofilezéshez) a jeget, utóbbi esetben a fagyasztott mintát hűtve addig tartják acetonban, amíg abban a jég feloldódik (nem olvad!), és így a víz helyére aceton kerül. Ezután következik az immár víztelenített anyag beágyazása és metszése. Kristályos anyagok szerkezetét az elektronmikroszkópban az **elektrondiffrakció** segítségével is vizsgálhatjuk.

### C) Immunhisztokémia, immuncitokémia

**A középiskolából elvárt alapismeretek:** antigén, antitest, immunizálás, immunglobulin, DNS-, RNS-szintézis, bázisszekvencia, fluoreszcencia, fényképezés kémiai folyamatai, izotóp, radioaktivitás, alfa, béta, gamma-részecskék.

**Idevágó fejezet:** BGy III. *In situ* kimutatási eljárások (35-49. old.).

#### **Immunreakció lényege, befolyásolói, fixálás hatása**

A keresett anyag az antigén szerepét játssza, amely az általunk alkalmazott ellenanyaghoz (antitest, egy immunglobulin típusú vérfehérje) kötődik. Ez a kötődés (mint az immunreakció általában) igen érzékeny és specifikus. Eredetileg fehérjék lokalizációjára alkalmazták, ma már kismolekulájú anyagokat is tudunk vizsgálni. Azok a tényezők, amelyek a fehérjék térszerkezetét változtatják (pl. pH) befolyásolhatják a reakciót. Immunhisztokémiai reakciót végrehajthatunk fixált anyagokon is. Ebben az esetben azonban meg kell találni az optimumot, mivel a túl erős fixálás tönkretelheti a fehérjetermészetű antigéneket, a túl gyenge viszont nem őrzi meg eléggé a struktúrát, ill. nem 'tartja helyükön' a kisebb molekulájú antigéneket (pl. neurotranszmittereket). **Epitopok** azok a molekularészletek, melyekhez az antitest közvetlenül kötődik. Ugyanazon anyag ellen termelt antitestek nem feltétlenül ugyanahhoz az epitophoz kötődnek.

#### **Immunreakció erősítése, vizualizálása fény- és elektronmikroszkópos szinten**

Az immunreakció terméke csak akkor látható, ha azzá tesszük. Ennek két fő módja van:

- fluoreszcens festékekkel való jelölés,
- színes enzimreakcióval kimutatható enzimmel történő jelölés.

Eredetileg az ún. direkt jelölést alkalmazták, azaz az alkalmazott immunanyaghoz közvetlenül kapcsolták a jelölőmolekulát. Később elterjedtek az indirekt jelölések, ahol a keresett anyag elleni jelölés antitest (primer antitest, tkp. egy immunglobulin) megkötődése után egy olyan, jelölt antitestet (szekunder antitest) alkalmaztak, amelynek antigénje az immunglobulin, mégpedig éppen azé az állaté, amelyből a primer antitest származik (a használt fajok száma aránylag szűk: egér, patkány, nyúl, kecske, néha ló, szamár, tengerimalac). Ez a módszer egyben fel is erősíti a jelölődést.

Az enzimreakció leggyakrabban peroxidáz-reakció, ez az enzim már nyomokban is diaminobenzidin (DAB) és hidrogénperoxid jelenlétében intenzív barna, oldhatatlan reakcióterméket ad (ezen alapul a vérnyomok kimutatása is). Többféle módon is köthető a szekunder antitesthez:

- PAP (peroxidáz-antiperoxidáz) – módszer: a peroxidáz ellen termelt immunglobulin, ha megfelelő állatban termeltük, megköti a peroxidázt, és azzal együtt kötődik a primer antitesthez (az immunglobulinoknak általában több kötőhelyük is van).
- ABC (avidin-biotin komplex) – módszer: a szekunder szérumot 'biotiniláljuk' (biotint kapcsolunk hozzá) a peroxidázhoz, vagy más enzimhez úgyszintén. Az avidin nevű fehérje erősen köti a biotin-molekulákat, ezen át a fehérjéket. Az ABC-módszer igen felerősíti a jelzést. Alkalmazhatunk enzimeként pl. alkalikus foszfatázt is.

## **Elektronmikroszkópos immunhisztokémia**

esetén használhatjuk ugyanazt a peroxidáz (DAB) reakciót. Két megoldás is van:

- 'Preembedding': immunreakció a beágyazás és az ultravékony metszetek készítése előtt.
- 'Postembedding': immunreakció az ultravékony metszeteken történik.

Ezeknél szebb eredményt adó, de drága és nehéz reakció a szekunder immunglobulin jelölése kolloid méretű arany szemcsékkel, melyek az arany nagy atomsúlya miatt elektronmikroszkópban jól láthatók. Ezt a technikát szintén 'postembedding' módon alkalmazzák.

## **Keresztreakció és egyéb álpozitív eredmények**

Ha a keresett anyag olyan epitopjával reagál az antitest, amely más anyagokban is megvan, a reakció ez utóbbiakat is kimutatja. Hasonló szerkezetű fehérjék esetén nem ritkaság. Ilyenkor más epitophoz kapcsolódó antitestet kell választani. Ugyanakkor a jelenség előnyös is lehet, mivel egy bizonyos fajból származó fehérje ellen termelt antitest gyakran más fajok hasonló fehérjéinek vizsgálatára is alkalmazható. (Azt a jelenséget, hogy egy adott fehérjemolekula tulajdonságai az evolúció során keveset változnak, a fehérje 'konzervatívizmusának' nevezzük). Nem-specifikus kötődés szintén előfordulhat, ilyenkor az ellenanyag nem immun- hanem egyéb kötődéssel rögzül. Endogén anyagok DAB-reakciót adhatnak (peroxidok, citokróm-oxidáz, hemoglobin), vagy avidin-szerűen viselkednek, esetleg fluoreszkálnak. Ezeket blokkolhatjuk, ill. negatív kontrollt alkalmazhatunk, pl. elhagyjuk a primer antitestet, vagy 'kimerítjük' a keresett antigén hozzáadásával. Ha ekkor is van reakció, azt nem tekinthetjük specifikusnak a keresett anyagra. Pozitív kontrollt akkor alkalmazunk, ha reakciónk eredménytelen: elvégezzük olyan területen is, ahol a keresett anyag biztosan jelen van. Ha ekkor pozitív eredményt kapunk, kudarcunk oka nem metodikai hiba volt. Ekkor az alábbiakhoz folyamodhatunk:

**Maszkirozás, feltárás** Egyes esetekben a keresett epitophoz ellenanyagunk nem tud hozzáférni, pl. más molekularészlet 'takarja', vagy szerkezetét elváltoztatja (maszkirozás). Ezen segít a 'feltárás' enzimes emésztéssel, detergenssel, fagyasztással, mikrohullámokkal, stb. (Hasonló 'feltárást' végeznek szervezetünkben az 'antigén-prezentáló' sejtek, ld. immunológia.) Az intracellulárisan elhelyezkedő anyagok vizsgálatához rutinszerűen alkalmaznak ilyen eljárásokat.

## **Antitestek előállítása**

Két útja van:

- Poliklonális ellenanyag készítése: az állatot (hogy melyet: ld. följebb) immunizálják a keresett anyag ellen, majd vérsavójából tisztítva-sűrítve kinyerik a megfelelő antitest(ek) aránylag tömény és tiszta oldatát. Ilyenkor a keresett anyag többféle epitopja ellen is termelődik antitest, mindegyik a gazdaállat más-más limfocita-klónjában (a klón jelentése ez esetben: egy bizonyos sejt utódainak összessége), ezért poliklonális.
- Monoklonális ellenanyagot szinte mindig egér limfocita-tenyészetéből készítene, a megfelelő epitop ellen immunglobulint termelő sejtől származó klón tenyésztésével. Az így készült ellenanyagok hatása erősebb, és specifikusabb, viszont inkább fordulhat elő álnegatív reakció. Előállításáról ld. még: BGY 55. old. alján.

Kismolekulájú anyagokat gyakran nagyobb molekulájú 'hordozóhoz' kötnek (adjuváns), így immunogenitásuk megnő (az immunreakciók a nagymolekulájú anyagok eltávolítására alakultak ki.) Más esetben a kismolekulájú anyag képzéséhez nélkülözhetetlen enzim ellen immunizálnak. Mindezen előállítási módok esetén igen fontos a nyert ellenanyag specificitásának alapos ellenőrzése. Gyári készítményeknél ezt a cég megteszi, de néha az utólagos ellenőrzés is szükséges lehet.



### **Kettős, ill. többes jelölés**

Ha egyszerre két, esetleg több anyagot is akarunk kimutatni egymás mellett, pl. annak igazolására, hogy ugyanazon sejtben, vagy érintkező sejtben fordulnak elő (vagy esetleg éppen azt, hogy nem), akkor úgy kell a primer ellenanyagokat kiválasztani, hogy különböző gazdaállatokból származzanak, a szekunder szérumokat pedig különböző színnel jelölni. Ellenkező esetben, ha mindkét primerhez ugyanazt a szekundert használjuk, mindkettő egyformán jelölődik majd.

Nem mindegy, hogy csak egymás melletti, vagy éppen együttes előfordulás (kolokalizáció) kimutatására törekszünk. Ez utóbbinál olyan jelölési módot kell választanunk, hogy az egyik anyag jelölése ne fedje el a másikat. Erre a célra -de általában is a kettős, még inkább a többes jelölésekre jobb a fluoreszcens reakció. Ha pl. az egyik anyagot vörös, a másikat zöld fluoreszcencia jelöli, a közös előfordulás helyén sárga színt kapunk. A fluoreszcens reakciók értékelésére egyre inkább előtérbe kerül a **konfokális mikroszkóp** (ld. bővebben BGy, 45. old.), amely a vizsgált mintának csak egy bizonyos mélységében készít egyszerre képet. Ezzel elkerülhető, hogy a különböző mélységben található jelölődések egymásra vetülése kolokalizáció, ill. érintkezés illúzióját keltse.

Az immunhisztokémiai ismeretek elsajátításához ajánljuk még a Western blotról írottak elolvasását (BGy 67. old), és lényegének megértését-megjegyzését.

### **Lektinek**

A jelölés eszközei lehetnek a lektinek. Ezek növényi fehérjék, amelyek képesek kapcsolódni egy-egy meghatározott szerkezetű oligoszacharid részlethez (amelyek sűrűn előfordulnak, mint láttuk, a glikokalixban, a sejtek felszínén). A lektineket megfelelően 'láthatóvá téve' hasonlóan használhatók, mint az immunanyagok. Talán legismertebb a makrofágok jelölése a *Griffonia simplicifolia* növény lektinjével. Lektinek egyéb célokra is alkalmasak, pl. a bab (*Phaseolus vulgaris*) lektinje idegrendszeri pályakutatásra.

## **D) In situ hibridizációs hisztokémia**

A keresett fehérje szintéziséhez szükséges messenger RNS illetve kromoszómális DNS kimutatására alkalmas. Azon az elven alapul, hogy a nukleinsavakhoz hozzá tud kötődni egy vele komplementer szálú nukleinsav (RNS vagy DNS), amit 'próbának' ('probe') hívunk, magát a kötést pedig hibridizációnak. Az 'in situ' szó pedig arra utal, hogy ez a kötődés a szövetből készült metszet felszínén alakul ki, tehát a kimutatott nukleinsav előfordulási helye azonosítható. Kromoszómális eltérések is kimutathatók. Ennek jelentősége a kromoszómális aberrációk (genetikai betegségek, illetve rákos sejtek) diagnosztikájában és evolúciós kutatásokban van. A módszer jóval érzékenyebb az immunhisztokémiánál. Másik előnye, hogy alkalmas egy adott gén kifejeződésének kvantitatív mérésére, a génkifejeződés változásai is követhetők. Hátránya viszont, főleg az idegrendszer vizsgálatakor, hogy vele a sejtek nyúlványai nem láthatóak, mivel a messenger RNS általában a sejttestben marad.

A 'próba' egyszálú RNS vagy DNS. A DNS 'próbákat', melyek rövidek (20-40 bázispár) szintetizálni lehet, az RNS (400-800bp) próbákat pedig *in vitro* transzkripcióval lehet előállítani. Ehhez a minta-DNS-t az adott gén cDNS-ének (azaz a ténylegesen átíráható DNS-szakaszok együttesének) egy megfelelő hosszúságú darabja adja, melyet egy RNS polimeráz helyeket tartalmazó vektorban klónoznak, majd PCR-ral ('polymerase chain reaction') sokszorosítanak. A gének bázissorrendje ma már adatbankokból kikereshető, és a megfelelő komplementer bázissorrendű lánc minden esetben szintetizálható. A próbák készítésénél vigyázni kell arra, hogy nem mindegy, hogy az eredeti lánc melyik részéhez készítünk komplementert. A nukleinsavak nagyobb változékonyságot mutatnak, mint a rajtuk szintetizálódó fehérjék, egyrészt, mivel több

triplet is meghatározhatja ugyanazt az aminosavat, másrészt nem minden aminosav cseréje okoz alapvető változást egy fehérje funkciójában, ill. antigenitásában. Az ebből származó fajközi, stb. eltérések a kötése erősség rovására mennek.

A jelölt DNS vagy RNS próbákat felviszik a metszetek felszínére. A hibridizáció létrejötte után a feleslegben maradt, illetve rossz helyre tapadt próbát mosással távolítják el. A mosás során a sókoncentráció csökkentésével és a hőmérséklet emelésével érik el, hogy csak a teljes hosszában specifikus kötések maradjanak meg. A mosási hőmérséklet nem érheti el a specifikus hibridkötés 'olvadási' (azaz szétesési) hőmérsékletét, ami a 'próba' hosszától és minőségétől, a hozzákötődő *in situ* nukleinsavval való komplementaritás fokától függ.

A próbát kétféleképpen szokták láthatóvá tenni. Vagy radioaktív jelölést alkalmaznak fotopapíros és autoradiográfiás előhívással, vagy pedig kémiai módosított nukleotidokat építenek be a próbába. Utóbbi esetben a módosított nukleotid immunfestéssel mutatható ki. A kétféle detektálási módszer kombinálható is, ezáltal akár egy sejten is többféle szekvencia mutatható ki, vagyis az egy sejten belüli együttes génkifejeződés is vizsgálható. (Az '*in situ*'-ról ld. még Tóth-Hegyesi: Bevezetés a humán genetikába.

### **C) Autoradiográfia**

Ld. BGy leírását, 46-49. old.

Ehhez még annyit tennénk hozzá, hogy jelölő izotópként általában 'lágú' béta-sugárzó deuteriumot (hidrogénizotóp), vagy  $^{14}\text{C}$  izotópot használnak (az alfa túl könnyen nyelődik el, a gamma túl kevésbé). A reakció erőssége a radioaktivitásra érzékeny emulzió vastagságával (azaz: a benne való elnyelődés, reagálás valószínűségével) nő. Mivel a radioaktív izotópot elhagyó részecske bármerre 'indulhat', az autoradiogrammon megjelenő szemcse nem feltétlen a jelölt anyag felett, hanem távolabb is lehet, minél vastagabb az emulzió, annál inkább. Az értékelésnél ezt figyelembe kell venni. A kémiai, biokémiai vizsgálatokat forradalmasító izotópjelöléses technikát magyar tudós, Hevesi György fedezte fel, aki ezért Nobel-díjat kapott.

### 3. A sejt membránrendszerei, membrán-recikláció, exo- és endocitózis

**A középiskolából elvárt alapismeretek:** prokarióta, eukarióta, protoplazma, citoplazma, citoszól, sejtorganellum, egységmembrán, sejhártya, maghártya, durva és sima endoplazmatikus retikulum, riboszóma, transzkripció, transláció, Golgi-rendszer, vezikula, fagocitózis, endo-, exocitózis, szekréció, lizoszóma, hidrofil, hidrofób, poláros, apoláros, amfoter vegyületek, ozmózis, diffúzió, felületi feszültség, enzim, receptor, aktív és passzív transzport, ioncsatorna, Na-K-pumpa, lipid, foszfatid, észter, zsírsav, glicerin, koleszterin, peptid, peptidkötés.

#### **A Sejtbiológia jegyzet idevágó fejezetei:**

I. Az eukarióta sejt

XVIII. az eukarióta sejt eredete

II. A plazmamembrán felépítése és működése

IV. Az endoplazmás retikulum

V. A Golgi-apparátus

VI. Endoszomális-lizoszomális kompartment és az endocitózis

VII: A vezikuláris transzport

#### **I. Az eukarióta sejt**

SbJ 1-3 old. megtanulandó. Alapvető a kompartmentek fogalmának, az elhatárolódás és az összekapcsolódás egységének megértése.

SbJ. 4-10. old. csak illusztrációul szolgál, az alapvető vegyületek szerkezetének bemutatására.

Eukarióták a növényi és az állati sejtek (az egysejtűek is), szemben a prokariótákkal (baktériumok, kékgalgák).

Alapvető különbségek:

- az eukariótákban maghártyával körülhatárolt valódi sejtmag van, a DNS kromatint formál (részletesebben ld. **5. A sejtmag szerkezete**), a prokariótákban csak egy gyűrű alakú, csupasz DNS van, mely szabadon helyezkedik el a citoplazmában;
- az eukariótákban változatos transzkripciós és translációs szabályozási folyamatok vannak, a prokariótákban csak az operon-rendszer működik (ld. Biokémia, fehérjeszintézis);
- az eukarióták különböző folyamatai kompartmentekben (membránnal körülvett térségekben) vannak elhatárolva, itt a molekulák koncentráltan, és gyakran a membránokhoz kötve, rendezetten telálhatók. Ezek a 'sejtorganellumok' részben (pl. mitokondrium, kloroplaszt) endoszimbionta (a partner-lény belsejébe, azaz itt: az eukarióta sejtbe költözött) prokariótákból alakultak ki.

Ide kapcsolódik a **XVIII. Az eukarióta sejt eredete** fejezet is (SbJ 231-233. old.).

A kompartmenteket elválasztó membránra jellemző, hogy egyben összeköttetést is biztosít közöttük. Ez lehet anyag-átjuttató transzportrendszer, jelfogó receptor/jelhordozás, vagy mechanikai kapcsolat. Ld. pl. a sejtmembrán esetében. A membránok egyben felületnövelők, és lehetővé teszik az egy adott folyamatban szereplő enzimek összerendeződését is.

Az eukarióta sejtek nagyobbak a prokariótáknál, ezáltal sejtmembránjuk felülete a sejttérfogathoz képest kisebb. Részben ennek kompenzálása is indukálhatta a belső membránrendszerek kialakulását (vagy inkább: ez utóbbiak létrejötte segíthette a sejtméret megnövekedését).

A sejtek alakját meghatározó tényezők:

- felületi feszültség (a szabadon lebegő, vagy a szomszédjaihoz csak gyengén kapcsolódó sejt közel gömbalakú);
- a környezetével való kapcsolat (a sok szomszéd sejthez kapcsolódó sejt poligonális, a szabad felszínen lévő sejt lapos);
- a citoszkeleton (aktin, mikrotubulusok, intermedier filamentumok, ld. később): csillók, mikrobolyhok, állabak, stb.

A sejtmag, ha a sejt aránylag kicsi, követi a sejt alakját, nagy sejt esetén közel gömbalakú, de lehetnek bizzar, behúzódnak, karéjos magformák, mivel a magnak is saját 'vázrendszere' van (ld. később).

## II. A plazmamembrán

SbJ. 11-17. old. megtanulandó, kivéve a lipidek leírását a 12. oldalon, odáig, hogy „A foszfolipidek amfipátiasak...”, amelyet elég elolvasni (Biokémia oktatja). A lipidszerkezet és a membránszerkezet összefüggéseit, az amfipátia (a molekula egyik vége poláros, a másik nem) jelentőségét azonban érteni kell. Lényeges megérteni, hogy a sejtmembrán dinamikusan változó, részeiben megújuló struktúra, nem egyforma szerkezetű a két oldalán (aszimmetrikus), ill. a sejt különböző területein (pl. apikális és bazolateralis membránterületek). Flip-flop, raftok, laterális diffúzió megértése szükséges.

„A lipid lettősréteg aszimmetriája...” kezdetű bekezdésből (ld. 15. old.) az „A kolin... ...szabályozásában” c. részt elég elolvasni, és nem kell tudni a 'raftok' kémiai összetételét sem (szfingomielin, koleszterin, GPI: Biokémia!).

Az „A sejtburkok” c. fejezetből az „Ezek az oligoszacharid láncok... ...lipid kettősréteggel.” szakaszt elég elolvasni.

Foszfatidil- jelzi, hogy a molekulához foszfátid kapcsolódik (általában egy OH-csoporttal észtert képezve).

Glikozil: jelzi, hogy a molekulához glükóz kapcsolódik.

Glikoproteidek és proteoglikánok – mindkét név fehérje- és szénhidrát-részből álló molekulát jelöl. Utóbbiban azonban a szénhidrát-rész dominál, amely általában ún. savas glikozaminoglikánból (GAG) áll. Ezekről többet ld. az extracelluláris matrix leírásánál.

Inozitol: hat szénatomos gyűrű, minden szénatomon egy H és egy OH csoporttal.

N-acetil-: arra utal, hogy a vegyületben lévő aminocsoporthoz egy ecetsavmolekula kapcsolódott, hasonló kötéssel, mint ahogy az aminosavak amino- és savas csoportjai kapcsolódnak.

Ligand: a biológiában általában az egyes receptorokhoz kötődni képes anyagok gyűjtőneve. A kémiában az ún. 'komplekképződés' során a központi kationhoz nem ionosan, hanem ún. komplexkötéssel (szabad elektróppárral) kapcsolódó anionokat vagy semleges molekulákat nevezik így. Komplexek formájában vannak jelen a szervezetben a nehézfém-ionok az enzimekben, hemoglobinban, stb.

A szfingomielintől neve ellenére (σφιϋξ – facsaró, fojtó) nem kell megijedni. Tkp. igen hasonlít a glicerolipidekhez, ld. SbJ II/2 ábra. A szfingozin hosszú szénláncú vegyület, egyik végén glicerinnel hasonló, de aminocsoportot is tartalmazó részlettel. Ha ehhez egy zsírsav kapcsolódik, akkor keletkezik a jegyzetben többször említett ceramid. Ehhez foszfátid (szfingomielin), vagy szénhidrát (glikolipidek, köztük gangliozidok) keletkeznek.

Az ilyen kémiai részleteket, ill. az SbJ 12. oldalán szereplőket vizsgán nem kérdezzük, de a későbbiek megértéséhez szükségesek lehetnek.

SbJ 17-22. old.: (**A plazmamembrán transzportfolyamatai.**) Nem tanulandó meg részletesen, de ajánlatos elolvasni. Tudni kell a membránokon való átjutás fő formáit:

- Egyszerű diffúzió - a kémiai (ionok esetén: elektrokémiai) grádiens mentén ld. lent), azaz passzívan átjutnak a lipid- és fehérje-rétegeken (csak néhány kismolekulájú anyag, pl. alkohol, glicerin, urea; kevésbé a víz; gázok, pl. O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>). Kevésbé specifikus, a koncentrációgradienssel arányos a sebessége, nem telíthető.

A diffúziót segíthetik:

- Csatornák: a membránba épülve szelektíven átengednek bizonyos ionokat, molekulákat, de nem mozognak együtt velük. Lehetnek állandók, vagy membránfeszültség-változás, ill. szabályozó anyagok hatására nyílók-záródók. Speciális csatornarendszert képeznek a 'gap junctionok' (ld. később), a sejtek között.
- Transzporterek (carrierek): az átvitt anyaggal együtt mozognak. A transzporterrel felgyorsított, de passzív diffúzió a 'facilitált diffúzió'.

Ezek szelektívek bizonyos anyagokra, valamint telíthetők, tehát egy bizonyos szint után sebességük nem nő a koncentrációval, hanem állandó marad, mivel a csatornák, ill. a transzporterek száma véges.

Az aktív transzportozáshoz a sejt energiatermelése is kell. Lehet:

- Elsődleges (primer): közvetlenül az ATP energiáját használja fel (pl. a Na-K-pumpa).
- Másodlagos (secunder): egy másik anyag koncentrációgrádiens mentén történő diffúziójával 'viteti' magát, de ezt a grádienszt a sejt aktívan tartja fenn (pl. a Na-K-pumpával). A két, összekapcsolt diffúzió (kotranszport) történhet egyirányban (szimport, pl. glükóz a  $\text{Na}^+$ -al), vagy ellenkezően (antiport,  $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^+$ ).

Endo- és exocitózis különböző formái – ilyenkor tkp. nem a 'membránon át', hanem azzal körülvéve jutnak részecskék, anyagok a sejtbe, vagy onnan ki. Mindig aktív folyamatok.

A fehérjemolekulák többféleképpen is átjuthatnak a membránokon:

- kapu-transzporttal – ld. a sejt magnál, nem igényel térszerkezeti módosulást;
- transzlokonok révén (ld. pl. SBJ 72. oldal) nem membránba csomagolva (endoplazmatikus retikulumba, mitokondriumba, lizoszómába, peroxiszómába);
- membránba csomagolva (vezikulákban), ilyen tkp. az exo-, endocitózis is.

Különleges transzportrendszerek az ABC-rendszerek, köztük a multidrog-rezisztencia protein (elolvasásra ld. SBJ 22. és 82. oldalon).

A sejtmembránba beépített vízáteresztő csatornákat képezik az akvaporinok (ld. 19. old.) Ősi molekulatípus, az egész élővilágban (növényekben is) elterjedt. Sejt típusonként eltérő lehet, eddig 11 forma ismert. Egyesek glicerint is átengednek (akva-gliceroporinok).

Itt jegyeznénk meg, hogy részben a sejtmembrán szelektív permeabilitása, részben a transzportrendszerek miatt (pl. a Na-K-pumpa) a különböző ionok egyenlőtlenül oszlanak el a sejtmembrán két oldalán, kívül és belül. A citoplazmában a  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , és foszfátionok vannak túlsúlyban, a sejten kívül (a szövetnedvben) a  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , és a kloridionok. A gyors ionpermeabilitás- és koncentrációváltozások ( $\text{Na}^+$  be,  $\text{K}^+$  ki) okozzák az akciós potenciált, vagy a szekréciót, izomösszehúzódást ( $\text{Ca}^{2+}$  be). Az oldott részecskék (moláris) összes koncentrációja viszont egyforma mindkét oldalon (izozmosis). Ha a sejten kívül nagyobb ez a koncentráció (a közeg hiperozmotikus), a sejt zsugorodik (vizet veszít), ellenkező esetben (hipozmotikus közegben) vizet vesz fel, és duzzad, akár szét is reped. Az ozmózist részletesebben ld. a fizikában. Az extracelluláris pH 7.4 (igen gyengén lúgos), az intracelluláris igen gyengén savas. A sejtmembrán belső oldalán a külsőhöz képest -90 mV feszültségkülönbség van. Az ionok mozgását részben ez befolyásolja (pozitívakat befelé segíti, kifelé gátolja, stb), részben a koncentrációviszonyok, a kettő eredője az 'elektrokémiai potenciál' ami fentebb szerepelt.

#### IV. Az endoplazmatikus retikulum

SbJ 61-64. old. megtanulandó.

A 62. oldal utolsó bekezdésének megértéséhez annyit szükséges tudni, hogy a glükóz a bélhámsejtekbe ill. a vesetubulus-sejtekbe felszívódva glükóz-6-foszfáttá alakul (ti., hogy vissza ne diffundáljon). Ugyanígy a glikogénből is glükóz-6-foszfát alakon át szabadul fel a glükóz. Ez a funkció anyagunknak nem sarkalatos pontja.

SbJ 65-70. old. ld. később, Biokémia.

SbJ 70-74. old. („Fehérjeszintézis DER-hez...”-tól): elolvasásra ajánljuk, rövid összefoglalását ld. lejjebb.

Ez a fejezet és a következő kapcsolódik SzR 142-144. old.-hoz.

Lényeges a kétféle riboszómán (szabad, ill. rER-en kötött) képződött fehérjék eltérő sorsa (ld. SbJ IV/4. ábra, le kell tudni rajzolni).

- A szabad riboszómán képződött fehérje a citoszolba kerül. Ezek a sejt saját fehérjéi lesznek. Ezeket a fehérjéket szignálrendszer (specifikus peptidrésztlet) segíti a megfelelő organellum (pl. a mitokondrium) felismerésében, és fehérje-import rendszerek (transzlokonok) a bejutásban. A 'kapu-transzportot' (az ábramagyarázatban említik) ld. később, a sejtagnál.
- A kötött riboszómákon azok a fehérjék képződnek, amelyeknek az mRNS-ében egy szignál-peptidszakaszt kódoló rész van. Ezeknek a fehérjéknek a szintézise is szabad riboszómán indul meg, de a szignál felbukkanásakor egy felismerő-mechanizmus (SRP, ld. elolvasásra SbJ70-71. old.) átviszi a riboszómát a rER-re (rER – 'rögös' endoplazmatikus retikulum, eredetileg a dER volt elterjedt – 'durva felszínű' ER, a 'rögös' előnye, hogy magyar rövidítése megegyezik az angoléval: 'rough' ER.). A kötött riboszómán képződő fehérjék transzlokonok segítségével, a translációval párhuzamosan jutnak be a rER üregeibe (IV/11. ábra). A rER-ben készülő fehérjék (SbJ IV/4 ábra):
  - magába az ER-be épülnek, ti. annak saját fehérjéi (ill. lipidjei);
  - a Golgi felé továbbítódnak vezikulákban, itt osztályozódnak, és:
    - tovább szállítódnak a lizoszómákba;
    - szekréciós vezikulákba kerülnek, és exocitózissal ürülnek;
    - szekréciós vezikulákba kerülnek, és a sejtmembránba épülnek.

Ritka kivétellel a szabad riboszómáról a citoszolba kerülő fehérjék is kijutnak a sejtől, nem a Golgin át, hanem közvetlenül. A lizoszómák is viselkedhetnek szekréciós vezikulaként, és ürülhetnek a külvilágba. Mivel a sejtek apikális és bazolaterális membránja eltérő felépítésű, külön-külön transzportot viszi a vezikulákat az egyikhez és a másikhoz.

Jegyezzük meg:

- a fehérjék címkézve vannak rendeltetési helyük szerint, a címke lehet szénhidrátészlet (glikozilálás), peptidészlet, vagy a térszerkezet során egymás mellé került aminosavakból 'szignálfolt'.
- minden állomáson a fehérjék 'ellenőrzésre' kerülnek (elsőnek már a dER ciszternáiban), a hibás fehérjék sorsa (elolvasásra: SbJ 97-99. old.):
- térszerkezetük javítása chaperonnal (hő-sokk fehérjék);
- lebontás a lizoszómális rendszerben (ide a citoplazmából transzlokonnal kerül);
- lizoszómán kívüli lebomlás proteaszómákban
- aggregáció (pl. Alzheimer-kór).

A proteaszómákról a fogalmat, valamint a feladatát (SbJ 97. old. alja, 98. old., ábra alatti vastagbetűs sorok) jegyezzük meg.

Érdemes itt megismerkedni a **VII. A vezikuláris transzport** sajátjaival.

SbJ. 101-110. old. elolvasását ajánljuk, megtanulandó summájukat az alábbiakban foglalhatjuk össze (ld. még SbJ 2. old. szövegét is, valamint tanulmányozzuk a SbJ IV/4, ill. V/4 vázlatokat).

A sejt membránrendszerei egymással szoros kapcsolatban vannak. Ez a kapcsolat megnyilvánulhat morfológiai folytonosságban: a sER és a rER átmegegy egymásba, ill. a magmembránba. Ahol nincs átmenet (ti. a Golgi-apparátus, a lizoszómák és a sejtmembrán felé), ott a funkcionális kapcsolatot az egyes rendszerek között vándorló vezikulák valósítják meg, ez a vezikuláris transzport. Ennek fő lépései általánosságban:

- címkézés (hová kerüljön, és ott mi legyen a tartalmával);
- lefűződés a 'kiindulási' rendszerről (ezt gyakran spec. fehérje-burokrendszer segíti, pl. klatrin, ld. az endocitózisnál);
- vándorlás;
- célfelismerés és kötődés ('dokkolás');
- öszeolvadás a 'célrendszerrel'
- a feleslegessé vált vezikularészek visszaszállításra kerülhetnek.

Általában kétirányú, a vezikulákat alkotó membrán-alkotórészek a tartalom célbajuttatása után visszatranszportálódnak a 'kiindulási' helyre. A vándorlásban a már említett, és később részletezendő citoszkeleton elemei, a mikrotubulusok vesznek részt. A molekuláris részleteket más tárgyak (Biokémia, Élettan) oktatják majd.

## V. A Golgi apparátus

SbJ 75-76. old. megtanulandó (az SbJ 77. oldal tetején lévő VTC-vel bezárólag).

SbJ 77-84. old. elolvasásra ajánljuk. A Golgi polarizáltságát, a cisz-, mediális és transz-Golgi részek kapcsolatát, szerepét (fogadó-osztályozó, átalakító, koncentráló-kibocsátó) azonban tudni és érteni kell (ld. lejjebb, összefoglalva). Az V/4. ábrát le kell tudni rajzolni, de a Golgi-apparátus egyes részeiben történő folyamatokat nem kell külön-külön megtanulni, csak összességükben.

A Golgi-apparátusba (először az ún. VTC-be, ld. SbJ 77. old. tetején) érkező fehérjék sorsa ismét ellenőrzés, javítás, de főleg osztályozás, és további címkézés. Ezután különböző helyekre lerülhetnek:

- vissza a rER-be (pl. annak a vezikulákat alkotó, azokkal idetranszportált sajátfehérjéi)
- a Golgiban maradnak, mint annak alkotói;
- a lizoszomális enzimek a lizoszómák felé (6-foszfo-mannóz jelölésűek);
- többségük pedig a sejtmembrán felé, abba való beépülésre, vagy a sejtől való kikerülésre, kiválasztásra. Ezek a Golgi-állomány adott részében szelektív aggregációval 'gyülekeznek', mielőtt vezikulába kerülnének.

A továbbírányítandó fehérjéken a dER-ben kapott eddigi egységes oligoszacharid-jelölés (Mész a Golgiba!!!) helyett specifikus, a végleges sorsukra utaló szénhidrát-jel alakul ki. A sajátos összetételű 'tutajok' (raftok) speciális lipidjei is a Golgiban képződnek (pl. glikolipidek). Itt képződnek és kapcsolódnak fehérjékhez a sejt közötti állományba kerülő, ill. a nyákszerű mirigyváladékok anyagát alkotó glikozaminoglikánok (régiesen: mukopoliszacharidok, ld. részletesebben az extracelluláris mátrix anyagainál.).

A Golgiból a sejtmembrán felé tartó 'szállítmányok' sorsa exocitózis, amely lehet:

- 'konstitutív szekréció': nem igényel külön szabályozást, többé-kevésbé állandó; kis hólyagocskákban történő beolvadás a sejtmembránba, annak felújítására, így szabályozódhat pl. a sejtmembrán receptorainak, ioncsatornáinak sűrűsége, összetétele. Így jutnak ki a sejtől a glikokalix molekulái is.
- 'regulált szekréció': csak külön 'parancsra' történik (vagy szűnik meg), kiürülés glikoproteinek, ill. proteoglikánok formájában, általában sok szialsavat tartalmaznak, szekréciós vezikulákban.

Az exocitózis, pontosabban: a vezikulák fúziója a sejtmembránnal  $Ca^{2+}$  igényes folyamat. Itt is feltételezik aktin, ill. miozin részvételét. Az exocitózis mellett endocitózis is történik (ld. lejjebb). Ha az exo- és endocitózis nincs egyensúlyban, a sejt felülete nő vagy csökken, ami térfogat- vagy alakváltozást követel.

Nem csak hormonok, vagy emésztőenzimek szecernálódhatnak ezen az úton, hanem pl. a sejtközötti állomány anyagai, kollagén, proteoglikánok, valamint a nyálmirigyek szintén proteoglikánokból álló mucinja, stb. is. A sejten belül a fehérjék általában egy pre-pro-protein alakban vannak, azaz előbb egy szignál-molekularészletnek kell lehasadnia a szekrécióhoz, majd egy további részletnek az aktiválódáshoz. Speciális szekréció történik pl. az oszteoklasztok működésénél, vagy a megtermékenyítéskor a spermium akroszomájából felszabaduló, a behatolást (ti. a petesejtbe) megkönnyítő enzimek esetében, gyulladáskor, immunanyagok termelésekor, ill. a szinaptikus transzmissziókor.

Speciális lépések is tarkíthatják a szekréció folyamatát. A nyák (mucin) nagy molekulású, savas szénhidrátkomponenseket tartalmazó proteoglikánokból áll, amelyek sok vizet kötnek meg. Ez a víz másodlagosan szívódik a citoplazmából a szekréciós vakuólumokba. Ugyancsak a citoplazmából diffundál vezikulákba a hisztamin a hízósejtekben. A pancreas szekréciós vezikuláiban (zimogén szemcséiben) viszont az emésztőenzimek koncentrálnak. Az is előfordulhat, hogy a szekréciós vezikulák a citoszólból töltődnek fel kismolekulájú anyagokkal (pl. hízósejtekben a hisztamin, egyes neurotranszmitterek). Mint már korábban szó volt róla, egyes, a szabad riboszómákon keletkezett fehérjék is kiválasztódhatnak, a Golgi-rendszer megkerülésével, a citoszólból a sejtmembránon át az ABC-transzporterek révén (ld. elolvasásra SBJ 82. old.).

A szekrécióra szánt, ill. a fagocitált anyag gyakran jól látható, ill. megfesthető. Érdekes megemlíteni, hogy a szekréciós anyag termelése általában 'tónusos', azaz állandóan folyik, kisebb-nagyobb ingadozásokkal, míg a szekréció maga 'fázisos' azaz rövid időn belül ugrásszerűen nő vagy csökken. Ezért a szekréttel teli sejt inkább csökken, míg az 'üres' fokozott elválasztásra utal.

## **VI. Az endoszomális-lizoszomális kompartment és az endocitózis**

SBJ 85., 90-93 (odáig, hogy VI/5. ábra), ill. a 97. oldal az aljáig kell.

SBJ 86-89, és 93-96. old. elolvasása ajánlott, kivonata alább szerepel. Az SBJ 96. old. tetején lévő TGN ('transz-Golgi-network') a Golgi 'kimeneti' része, ahol belőle a vezikulák kilépnek.

Kell az SBJ VI/3 és VI/5. ábra, de a VI/6. nem



Az exocitózis 'ellentéte' az endocitózis. Több formája lehet (SbJ VI/3. ábra).

- Fagocitózis: 'szilárd' részecske felvétele. A többsejtűekben nem táplálkozás, hanem inaktiválás, ill. immunológiai 'feltárás' a célja. A sejt károsodott saját szervei, részecskéi is lebomolhatnak így (autofagocitózis, ld. SbJ 91. oldal). Egész sejtek is fagocitálódhatnak. Vannak 'mikrofág' (pl. neutrofil granulocita) és 'makrofág' (pl. histiocyta) sejtek.
- Pinocitózis: a környező folyékony közegben lebegő részecskék felvétele folyadékkal együtt ('sejtivás').

Fajtái:

- Makropinocitózis: 0,2-5  $\mu\text{m}$  A sejt felszínén, a sejtmembrán alatti ('kérgi') aktin segítségével sűrű, finom nyúlványrendszer alakul ki ('raffling', 'ruffle border'), ezek veszik körül a 'bekebelezendőt'. Nem szelektív, gyakran 'tájékozódó' jellegű (mi is van a környezetben?). Hasonló 'ruffle bordert' találtak az exocitózis egyes eseteiben, pl. az oszteoklasztoknál.
- Klatrin-burkos vezikulák: (ld. SbJ VI/1, VII/2 ábra). 0,1-0,15  $\mu\text{m}$ . Szelektív anyagfelvételt biztosít (pl. bizonyos lipoproteinekét), a sejtmembrán külső oldalán megfelelő receptorok jelenléte szükséges, a belső felületén, a leendő vezikula területén klatrin-molekulák jelennek meg, amelyeknek stabilizálószerupe van. Ilyen burok kialakulhat a sejten belül, pl. a Golgi-apparátusról lefűződő vezikulák körül is.
- Kaveolák: (SbJ VI/2 ábra) 0,05-0,1 $\mu\text{m}$  Specifikus 'raftok' és a kaveolin fehérje teszik lehetővé az adott membránterület gyors lefűződését, jellemző, palackalakú vezikulákba. Receptorok is vannak a területén.
- Potocitózis: az endocitóziskor létrejövő vezikula nem fűződik le teljesen, a belekerült anyagok carriermolekulával kerülnek belőle a citoszólba.
- Klatrin- és kaveolin-independens (mikro)pinocitózis: lehet regulált (szignálfüggő) vagy konstitutív (nem szignálfüggő). Szintén 'raftok' területén alakul ki. Az előbbi szolgálhat kismolekulájú anyagok: szignálmolekulák, vitaminok, vas felvételére (megfelelő receptorokkal), az utóbbi a sejtmembrán 'felesleges' részeinek leválására.

A citokrinia: sejtől-sejtbe közvetlen átadás, pl. melanin a bőrben a melanocytából a környező hámsejtekbe. A rofeocitózis a hemosziderinként (vasoxid-fehérje komplex) tárolt vas átadása a makrofágból a fejlődő vörösvérsejtbe.

Az exo- és endocitózishoz hasonló mechanizmus működik az urothelium ernyősejtjeinek gyors alakváltoztatásánál: a felszín egy része speciális, merev 'raftokból' áll, amelyek 'endocitózisszerűen' behúzódnak (de nem fűződnek le), így csökkentve a felszínt szükség esetén. Exocitózisszerűen felnyúlva a felszínt ismét megnövelik.

A lizoszomális rendszer részei:

- korai endoszóma – tartalmazza és osztályozza a felvett anyagot (ennek egy része reciklizálódik a sejtmembránba);
- multivezikuláris test – előbbieket összeolvadásával keletkezik;
- késői endoszóma – ebbe olvadnak bele a multivezikuláris testek és ide kerülnek a Golgiból vezikuláris transzporttal az emésztőenzimek;
- lizoszóma – tele enzimekkel, emésztési folyamat;
- reziduális test – az emésztés maradványait tartalmazza (fénymikroszkópos formája: 'kopási pigment', 'lipofuscin szemcse').

A felvétel módja bizonyos fokig meghatározza az anyag további sorsát (ld. SbJ VI/3. ábrát). Az endocitózissal felvett anyagok döntő többsége a lizoszomális rendszer felé halad, először a 'korai endoszómába' kerül (ld. SbJ VI/5. ábra). Itt osztályozódik.

- Transzcitózis: az anyag elkerüli a lizoszómát, áthalad az egész sejten, majd exocitózissal kiürül. Gyakori endothelsejteknél (kaveolákkal). Így szívódik fel az anyai immunglobulin a csecsemő bélhámján át (itt viszont klatrin-burkos vezikulák szerepelnek).
- A felvett anyag a multivezikuláris testen át a késői endoszómába kerül, és emésztődik. (SbJ a 'receptor' és 'ligand' kifejezéseket használja, ezzel is emlékeztetve, hogy az endocitózissal felvett anyagot gyakran előbb receptor köti meg a sejtmembrán külső oldalán, a felveendő anyag tehát itt 'ligand' és együtt kerülnek a sejtbe.)
- Egyes komponensek (receptorok, sejtmembrán-részletek) vezikuláris transzporttal visszajutnak a sejtmembránhoz, vagy (pl. a sejt számára fontos felvett anyagok) másfelé, az ER-be, a Golgiba, esetleg a magba szállítódnak.

A receptorok a korai endoszómában leválhatnak, és reciklizálódhatnak a sejtmembránba, az endoszómába került sejtmembrán-részecskéikkel együtt. A lizoszómális 'emésztés' nem feltétlen jelent teljes degradációt, gyakran a sejt számára hasznos molekulák (vas, lipidek) szabadulnak fel így. Ezek általában a Golgi-rendszer felé transzportálódnak. Vagyis a sejtmembrán-lizoszóma ill. Golgi-lizoszóma vezikulatranszport is kétirányú.

A korábbi elgondolással szemben, úgy tűnik, nem egy enzimmel telt 'primer lizoszómával' kapcsolódik az endoszóma, hanem fokozatosan 'töltődik fel' a Golgiból, és alakul át lizoszómává. A lizoszóma tehát átalakult endoszóma, amely:

- endocitózissal vagy autofágiával szerezte 'tartalmát';
- lizoszómális komponenseket (enzimek, emésztés-rezisztens membrán-alegységek) kap a Golgiból;
- enzimei exocitózissal is kerülhetnek (ld. oszteoklaszt, spermium), még a Golgiból;
- transzlokációval is felvehet fehérjéket, ezek főleg a sejt saját, hibás, lebontandó fehérjéi.

#### 4. Sejtorganelumok

**A középiskolából elvárt alapismeretek:** mitokondrium, sejtközpont, citrátkör, oxidatív foszforiláció, peroxid, ATP, glikolízis, piroszőlősav, tRNS

**A Sejtbiológia jegyzet idevágó fejezetei:** VIII. A mitokondrium, IX. A peroxiszóma

A többi sejtorganelumról (sER, rER, Golgi, lizoszóma) az előzőekben írtunk, a szintén idetartozó sejtközpontot, azaz citocentrumot ld. SbJ 123. old. (megtanulandó).

SbJ 111-112. old. megtanulandó (a 'működés'-ig).

SbJ. 112-118. old.: a mitokondrium funkcióit fel kell tudni sorolni, részleteiket később biokémiából tanulják majd:

- oxidatív foszforiláció és az ezzel kapcsolatos protonpumpa-működés helye a belső membrán;
- citrátkör helye a mátrix (de a glikolízis citoplazmatikus!);
- zsírsavbontás, koenzim-A acetilálása (aminosavból, piroszőlősavból is) helye a mátrix;
- iontranszport, főleg kalcium (tárolás, citoplazma kalciumion-szítjének szabályozása), helye a belső membrán;
- egyéb anyagok transzportja (ADP, foszfát, zsír, aminosav, piroszőlősav – de nem glükóz! – befelé, ATP kifelé) belső membrán;
- saját fehérje- és lipid-szintézis (mátrix), főleg struktúr-anyagok, kardiolipin, stb. (más lipidek viszont a sER-ből, transzportrendszerrel kerülnek át);

- transzfer-RNS- és fehérjeimport (főleg a mátrix-enzimeké), a külső és a belső membránban egyaránt vannak transzport (transzlokon) rendszereik, de ezek nem egyformák;
- osztódás;
- vándorlás: tubulusrendszer mentén;
- szerepük van az apoptózis ('programozott sejthalál') létrejöttében is.

A mitokondriumok feltehetőleg az evolúció során valaha a sejtbe költözött (endoszimbionta) oxigén-felhasználó (aerob) baktériumokból származnak. Innen származhat fehérjeszintézisük és önreprodukciójuk is. Belső membránjuk 'bakteriális', a külső 'sejteredetű'. Ez utóbbi speciális csatorna-fehérjéi a porinok, átteresztőképességük 5 kDa. Kimutathatók az oxidatív foszforilációt végző részecskék, és riboszómák. A mitokondriális géneknek szerepük van a citoplazmatikus átörökítésben, és fontosak a származástani vizsgálatokban (ti. csak anyai oldalról öröklődnek). A mitokondriumok 'ozmométerként' viselkednek, hipotóniás oldatban duzzadnak, hipertóniásban zsugorodnak. A szteroidtermelő sejtekben csövek vannak bennük kriszták helyett, szerepük lehet a szteroidképzésben.

SbJ 118-120 old. (az osztódással kezdve) megtanulandó.

SbJ 121-122 old. (peroxiszómák) megtanulandó, egyes kivételekkel:

- „A plazmalogén...”-tól a 122. old. 3. bekezdés végéig
- „Szignáljuk...” tól a 4. bek. végéig (de elolvasni mindkettőt érdemes).
- „A Zellweger szindróma...” 122. old. 6. bek.

A citocentrum funkciói még (SbJ 123. old. elsősorban az osztódásban játszott szerepét írja le.):

- mikrotubulusok képzése (ld. később, 34. ea., SbJ X. A sejtváza);
- csillók alapi testjeinek képzése (34. ea., SbJ XII A sejtmozgás);
- képes osztódásra, minden sejtosztódás előtt replikálódik, ezért a sejtekben általában két centriolumot találunk. (A citocentrum és a centriolum kifejezéseket gyakran szinonimaként használják. Valójában a citocentrum a centriolumból és speciális fehérjéket tartalmazó szűkebb környezetéből áll.) Ugyanakkor a centriolum-replikáció alapja nem ismert, nukleinsavak jelenléte, részvétele nem bizonyított, sőt, a DNS-szintézis gátlása a replikációt nem zavarja (ld. Szabó és mtsai, Sejtbiológia, 2009, 269. old.).

## Sejtfractionálás

Az egyes sejtalkotórészek összetételének, működésének tanulmányozását elősegíti, ha a sejt többi részétől elkülönítetten, és 'feldúsítottan' kinyerjük őket. A frakcionálás előtt a sejteket (szövetet, szervet) homogenizáljuk, azaz nagyon finom péppé zúzzuk (erre külön eszköz, homogenizátor szolgál, lehet kézi, vagy motorral hajtott). A homogenátumot centrifugálva, az egyes sejtalkotórészek (eltérő ülepedési sajátságuk miatt) szétválaszthatók. Az ülepedést befolyásolja a részecske fajsúlya, de az alakja, felületnagysága is (közegellenállás, viszkozitás). A négy 'klasszikus' frakció: sejtmag, 'durva' mitokondrium-frakció (ti. mitokondrium mellett más részecskéket is tartalmaz), mikroszóma-frakció (a membránrendszerek széttöredezéséből származó vezikulák) és a citoszól. Az első kettő közönséges centrifugával, az utóbbiak csak ultracentrifugával különíthetők el. Elvben két útja van: a sebességi és az egyensúlyi módszer. Az előbbinél azt használjuk fel, hogy meghatározott idő után a különbözőképp ülepedő részecskék különböző távot tesznek meg. Az utóbbinál viszont olyan oldatot alkalmazunk, amelynek fajsúlya egyes részecskénél kisebb (ezek ülepednek), másokénál esetleg nagyobb (ezek felemelkednek, azaz flotálódnak), ismét másokéval azonos (ezek lebegve maradnak). Ha egyre kisebb fajsúlyú oldatokat rétegezzünk egymás fölé (grádienszt készítünk), az egyes sejtalkotórészek más-más oldatban

maradnak lebegve (ún. grádiens-centrifugálás). Legegyszerűbb közönséges cukrot (szacharózt) használni, de ennek tömény oldata erősen ozmotikus hatású, ezért alkalmaznak nagyobb molekulású, tehát kisebb ozmolalitású anyagokat is (pl. a fikoll nevű poliszacharidot). Az ülepedés egysége a svedberg (S), az azonos nevű svéd biokémikus tiszteletére.

A svedbergben kifejezett ülepedési érték  $S=(dt/dx)/(\omega^2x)$ , ahol  $dx/dt$  az ülepedési sebesség,  $\omega^2x$  pedig a centrifuga forgási sebességének négyzetéből és az ülepedő részecskének a forgás középpontjától mért távolságából számított gyorsulás. (Vö. középiskolás fizika: centrifugális erő, szög- és kerületi sebesség, ill. gyorsulás képletei.)

## 5. A sejtmag szerkezete és a kromoszómák

**A középiskolából elvárt alapismeretek:** maghártya, magvacska, kromatin, kromoszóma fogalma.

**A Sejtbiológia jegyzet idevágó fejezete:** SBJ III. A sejtmag szerkezete és működése

SBJ 23-27 old. megtanulandó. A III/2 ábrán az egyes 'átírásnál fontos komplexek' nevét külön-külön most nem kell megjegyezni (ld. Biokémia). „Internukleáris” helyett „intranukleáris” olvasandó az ábrán. A Cajal-testek ill. interkromatikus szemcsék (31, old.), mint később, a 42. oldalon megmagyarázzák, tkp. ún. 'transzkriptoszómák', a transzkripció enzimeinek komplexumai. A Hutchison-Gilford progeria leírása nem kell. A magpórus szerkezetéből (III/3) legalább annyit kell tudni, hogy 8 kisebb külső, és egy nagyobb centrális csatornából áll. Régebben egyébként a magmembrán-pórust üresnek, vagy egy elektronenz 'diaphragmával' elzártak tartották. Lényeges, hogy a póruson a fehérjék alakváltozás nélkül haladnak át (a sejtorganellumok transzlokonjain a chaperonok alakváltoztatás árán segítik át őket).

SBJ 28-30 old. Csak elolvasásra, de a nukleoporin, karioferin, exportin, importin fogalmát, ismerni kell.

SBJ 31-33 old. megtanulandó. Tudni és érteni kell a nukleoszkeleton szerepét (SAR, MAR) a kromatin territoriális szerveződésében, ami a transzkripció-szabályozás, és a kromoszómává rendeződés feltétele. A szövettani gyakorlat számára fontos, hogy a fénymikroszkóppal látott 'maghatárt' tkp. a perinukleáris heterokromatin rajzolja ki, valamint az intenzív fehérjeszintézisre jellemző magszerkezet jellemzői. A 'hisztonredő' -ről szóló bekezdés nem kell.

SBJ 34-42 old. ld. később, Biokémia. Azt azonban tudni kell, hogy a H1 hiszton a 'linker' szakaszhoz kapcsolódik, valamint, hogy a nukleoszómák alkotta 'gyöngysor' tekercs-alkaba ('szolenoid') rendeződik. A hisztonokon át a transzkripció szabályozható (ld. Biokémia, Genetika). A 42. oldalon kell a 'transzkriptoszóma' fogalma.

SBJ 43-44 old. megtanulandó, a magvacska működéséig. Ez utóbbiból elég annyi, hogy itt 'szerelődnek össze' a citoplazmából jövő riboszómafehérjék a magvacskában keletkező rRNS-sel.

SBJ 45. old. elég csak elolvasni, de azt, hogy a magvacska osztódás után újra kell, hogy képződjön, és azt, hogy mi a NOR, tudni kell.

SBJ 46-60 old. ld. később, Biokémia.

## 10. Sejtfelszíni specializációk, sejtkapcsolatok

**A középiskolából elvárt alapismeretek:** adhézió, csilló, sejtváz, szövet, hámszövet

**A Sejtbiológia jegyzet idevágó fejezete:** XI. fejezet (139-154.)

Az alább leírtak nem a jegyzet gondolatmentét követik, mindenütt utalunk a megfelelő oldalakra.

A sejt felszínének specializációit lényegében három csoportra oszthatjuk:

- felszínnövelők (mikroboholy, kefeszegély, interdigitális sejthatár, bazális csíkolat);
- mozgatók (csillók, ld. később a sejtmozgásnál, 34. előadás, SBJ 156-158. old., ill. SzR 121-126);
- sejtkapcsolatok (részletesen ld. lentebb).

Mindhárom elsősorban a hámszövetekben fejlett, de a sejtkapcsolatok fontosak az izom- és idegszöveteknél is, míg a kötő- és támasztószövetekben alig találunk példát a háromféle módosulat bármelyikére.

### A) Felszínnövelők

**A mikroboholy és a kefeszegély** között nincs elvi különbség, mindkettő a sejtől merőlegesen kiinduló citoplazmanyúlványok rendszere, de az utóbbi ritkább és magasabb. A mikroboholyok rendszere olyan sűrű, hogy a hézagaikat kitöltő glikokalix-szal együtt a fénymikroszkóp alatt homogén rétegnek tűnnek (kutikula, PAS-sal jól festhető). A boholyok belsejében aktin-kötegek vannak. Az ún. sztereocilium is egy nagy, mikroboholyoszerű, gyakran elágazódó sejtnyúlvány. Ld. még SBJ 135. old., ill. SzR 120-121. old).

**Az interdigitális sejthatár** azt jelenti, hogy a két sejt közös határa nem egyenes, hanem ujszerű behúzódtat-kitüremkedést mutat. A felszín növelése mellett némi összetartó ereje is van. Gyakran kapcsolószervezetek is kialakulnak itt, a nagy felület nagyobb számú (azaz összességében erősebb) kapcsolat létesítését teszi lehetővé.

**A bazális csíkolat**, mint neve is mutatja, a sejt (hámsejt) alapi részén található, amellyel a szomszédos kötőszövethez kapcsolódik. A sejtmembránnak a sejt alapjára merőleges párhuzamos betüremkedéseiből áll, amelyek között mitokondriumok sora található. Feladata a kötőszövet felé történő anyagleadás (főleg víz és kis ionok) könnyítése, a felület növelésével. Fénymikroszkópban csak csíkolatnak látszik, jól fixált anyagon és vékony metszeten. Két fő előfordulása emberben a vesetubulusok, és a nyálmirigy kivezetőcsőrendszerének ún. ductus salivarisa. Ha nem is vehető észre, jelenlétére utalnak a magasra feltolt sejtmagok. Ld. még. SzR 126.

### B) Sejtkapcsolatok

A sejtkapcsolatok meghatározóak a szövetek, ill. szervek felépítésében, hiszen ezektől függ, hogy a sejt milyen más sejtekkel, ill. sejtközötti állománnyal tud kapcsolatot létesíteni.

#### I. A sejtkapcsolatokban résztvevő molekuláris kapcsolatok

Jó összefoglalásokat találunk a 146. és 154. oldalakon.

Megtanulandók:

SBJ 139-143 (az extracelluláris matrixig, amelyről a következő előadásban lesz szó)

SzR megfelelő része: 117-120. old.

Többféleképpen osztályozhatjuk őket:

- 1) Homofil vagy heterofil kapcsolatok (azonos vagy eltérő molekulák között). Egyes molekulák képesek mindkét fajta létrehozására.
- 2) Cisz- vagy transz, azaz ugyanazon sejten, vagy különböző sejtek között. Ugyanazon molekula szerepelhet mindkét típusban.
- 3) Gyenge vagy erős, ill. ideiglenes és stabil kapcsolatok.
- 4) Ionfüggő vagy nem-ionfüggő, az ion leggyakrabban kalcium.
- 5) A kapcsolat közvetlen, vagy egy harmadik molekula 'hídmolekula' közbeiktatásával jön létre. Főleg heterofilekre jellemző.

Néhány megjegyzés

- A 'CAM' – cell adhesion molecule – jelentése lehet tágabb, ill. szűkebb. Előbbi esetben minden sejtkapcsoló molekulát jelöl, tehát a kadherineket is (tkp. Ca-adherin, azaz kalcium-függő adhéziós molekula). Szűkebben az immunglobulin jellegű E-CAM, N-CAM, stb. közös neve.
- Igen kevés kivétellel a sejt-sejt kapcsolatot, és a sejt-alapállomány kapcsolatot eltérő molekulák hozzák létre. Az erre utaló rövidítések (CAM, SAM) nem molekulatípust, hanem funkciót jelölnek.
- A sejtek egymásratalálását általában homofil kapcsolatok hozzák létre.
- Minden sejtkapcsolat (sejttel vagy ECM-el) egyben szignál is a sejt számára (ld. Sbj 145/146). A sejtkapcsolatok egybe vannak építve a sejten belüli jeltovábbító szisztémákkal.
- Az azonos sejten lévő ún. cisz-kötések szerepe lehet más kapcsolómolekulák 'semlegesítése', esetleg rajtuk keresztül a sejt 'öningerlése' történhet (hasonlóan az autokriniához, ld. Sbj 170. old.)
- A gyenge, ideiglenes kapcsolatoknak elsősorban a sejt-vándorlás, és bizonyos sejtes reakciók során, míg az erős, állandó kapcsolatoknak a vándorlás megállításában, a végleges szöveti szerkezet kialakításában van szerepe.
- Nem véletlenül vannak immunglobulin-jellegű molekulák a sejtkapcsolatot biztosítók között. Tkp. itt egy kiterjedt, ősi felismerő-rendszerről van szó, aminek az immunitás csak egyik része. Feltételezik, hogy a szaglás is hasonló mechanizmussal rendelkezik, ez biztosíthatja a rendkívül változatos szagok felismerését. Lehetséges, hogy a feltételezett, de még nem bizonyított idegsejt-, ill. szinapszis-szintű memória is ezen a molekularendszeren alapul (az immunológiai felismerésről, ill. és memóriatárolásról ld. Immunológia tantárgy).
- A fehérjemolekulák leírásánál általában a domain egy nagyobb, jellemző szerkezetű részletet ('tartományt') jelent, a 'repeat' ismétlődő részletet, a 'motif' jellemző részletet, amely más molekulán is előfordul.

## II. Sejt-sejt kapcsolószerkezetek

Az elektronmikroszkóppal tanulmányozható struktúrába szerveződött kapcsolatok lehetnek:

**1) tight junctionok** (zonula occludens) a hámsejtek közötti réseket zárja le, másik szerepe a bazolateralis és apikális membránterületek elválasztása (ld. Sbj 147-148: „I. Sejt és sejt közötti szoros sejtkapcsolat”, ill. SzR 117)

**2) zonula adherens** (néhol fascia- vagy punctum adherens) és **dezmoszóma**: mechanikai (ld. Sbj 148: „II. Sejt-sejt, ill. sejt és mátrix közti kapcsolat” II/1 pont, és Sbj 149-151, II/3 pont ill. SzR 119)

**3) gap junctionok** (nexus, macula communicans) a szomszédos sejtek citoplazmáját köti össze, információ-, anyagátadás, összehangolja a sejtek működését (ld. Sbj 151-153: „III. Sejt-sejt közötti kommunikációs kapcsolat”, ill. SzR 120)

## Megjegyzések

- Fentiek, főleg a 'tight'- és 'gap' junction-ök vizsgálatára igen alkalmasak a freeze-etching és -fracture módszerek.
- Minden sejtkapcsolati rendszer kapcsolatban van a citoszkeletonnal, de elsősorban azok, amelyek a mechanikai kapcsolatot biztosítják. A citoszkeletonális elem lehet mozgást biztosító aktin, vagy 'merev' intermedier filamentum. Bővebben ezekről a citoszkeletonról (is) szóló 34. előadásban, ill. Sbj „X. A sejt-váz” fejezetében.
- A mechanikus kapcsolatokat létrehozó molekulák közül a sejt-sejt kapcsolatot biztosító kadherineket, ill. a sejt-sejtközötti állomány kapcsolatát biztosító integrineket kétféle eloszlásban fordulhatnak elő: diffúzan, vagy koncentráltan, elektronmikroszkóppal látható struktúrává szerveződve. A 'tight' és 'gap' junction-ökben kapcsolat létrehozó molekulák mindig struktúrákba szerveződve vannak jelen. Más molekulák, pl. az immunglobulin jellegűek, szelektívek, stb. nem szerveződnek struktúrákba.
- A zonula adherens és a dezmoszóma felépítése, ennél fogva elektronmikroszkópos képe hasonló. Mindkettőben háromféle molekula van:
  - valamilyen kadherin: ez okozza a denzitást a sejtközötti részben, amely itt kissé tág;
  - citoszkeletonális elemek: ezek legyezőszerűen a kapcsolat felé irányulnak,
  - a kettőt összekapcsoló 'horgonyzófehérjék': ezek okozzák a denzitást a sejtmembrán belső oldalán. Ld. Sbj XI/10. ábra, 150. old., valamint összefoglaló ábra: Sbj 154. old., XIII/15.
- A zonula adherens és a dezmoszóma közötti különbség elsősorban az, hogy a citoszkeleton milyen elemei kapcsolódnak hozzájuk (aktin ill. intermedier filamentum). A 'zonula' helyett előfordulhat 'fascia' vagy 'punctum' alak is.
- A plakoglobin említése a zonula adherenssel kapcsolatban bizonyára elírás: ez a molekula a dezmoszómára jellemző. A plakoglobint és hasonló jellegű molekulákat összefoglaló család a 'plakinok'.
- Az integrin és disztroglikán (Sbj 144-145. old.), valamint az Sbj 149. old. II/2 (hibásan a jegyzetben: I/2!) a 151. old. II/4 alfejezetek, mint sejt-kötőszövet kapcsolatok, tkp. a következő előadáshoz tartoznak.
- A 'gap junction'-öket eredetileg szigorúan homofilnek tartották, és a konnexin típusát, (amelyet a molekulásúlyával jellemeztek) specifikusnak az adott sejt típusra. Az utóbbi időben azonban találtak heterofil (más típusú konnexonokból álló), sőt, heteromer (többféle konnexin egy konnexonban) kapcsolatokat is. 'Gap junction' az alapja az ún. elektromos szinapszisnak mivel lehetővé teszi az ingerület egyik sejtről másikra terjedését (ld. a szívizomnál). A 'réskapcsolat' név onnan ered, hogy ez a kapcsolat eredetileg igen hasonló volt a 'tight'-hoz, csak nagyobb feloldás mutatta ki a 'rést' a membránok között. Vannak a sejtekből a kötőszövet felé irányuló 'fél-konnexonok', az ezeket létrehozó molekulák a pannexinek, szerepük még kevésbé ismert (ezek tkp. már a sejt-mátrix kapcsolat elemei, amit a 11. pont tárgyal).

## 17. Sejt-kötőszövet kapcsolatok, lamina és membrana basalis, extracellularis mátrix

### A középiskolából elvárt alapismeretek:

Kollagén, kötőszöveti rostok, izomszövet, ideg, sejtközötti állomány, alapállomány, cellulóz, aminosoport, poliszacharid, diszacharid, észter, peptidkötés

**A Sejtbiológia jegyzet idevágó fejezete:** XI. fejezet maradék részei, SBJ 143-146., 149 (II/2 pont), 151. old. (II/4 pont) most megtanulandók.

SzR idevonatkozó részei: 171-178. old.

A kötőszöveti rostok tanulására egyértelműen SzR javallt.

### A) Sejtközötti állomány

*szövet = sejtek + (sejtközötti állomány = kötőszöveti rostok + kötőszöveti alapállomány)*

A szövet pontos definíciója ennél bonyolultabb (ld. SzR, ill. tantermi előadás), de a sejtközötti állomány, ill. az alapállomány viszonyának megértéséhez elég a fenti.

A kötőszöveti alapállomány tkp. egy nagy 'kocsonya', amely általában folyékony, pl. a kötőszövetben, de lehet szilárd is, pl. a porc esetében. Fő komponensei fehérjékből és különleges szénhidrátokból (glikozaminoglikánok, GAG) állnak. Ez utóbbiak szerkezetének megértéséhez támaszkodjunk SzR 174-177. old.-ra-re (addig is, míg a Biokémia alaposabb ismereteket nem nyújt). A glikoproteidek szénhidráttartalmú fehérjék, ilyenek általában a sejtől kikerülő fehérjék. Proteoglikánok esetében nagy, és általában savas GAG kapcsolódik aránylag kis fehérjéhez. Mindkét csoport tagjai jelen vannak integráns membránfehérjeként, ill. az „external coat”-ban is (ld. SBJ 14. és 16. old.).

I) Proteoglikánok: jelleg és funkció meghatározói

II) Hialuronsav: az összeszerelés 'gerince'

III) Adhéziós glikoproteinek: az összeszerelők

Feltehetőleg a kötőszöveti alapállomány 'elődje' az evolúció során az 'external coat' (glikokalix) glikoproteinjei és proteoglikánjai voltak. Ezek a sejtek között annyira felszaporodtak, hogy azokat más sejtektől teljesen elválasztották, és a sejtektől többé-kevésbé függetlenedtek. Nem szabad azonban elfelejteni, hogy a kötőszöveti alapállomány molekulái e látszólagos függetlenség ellenére állandó megújulásban vannak. Termelőik fibroblastok, ill. -citák, a porcban, csontban chondro-, osteoblastok, ill. -citák, akár csak a kötőszöveti rostok esetében.

### I) Proteoglikánok

A kismolekulájú fehérjerészt 'core proteinek' hívják, ennek segítségével tudnak a proteoglikánok más ECM-komponensekhez, pl. hialuronsavhoz kapcsolódni, térhálót alkotva. A GAG-láncok 'lámpakefeszéren' kapcsolódnak a 'core'-hez. Az összekapcsolódás vázlatát ld. SzR 2/26. ábra, 176. old. A GAG-ok diszacharid alegységekből állnak. A proteoglikán funkcióját a GAG határozza meg.

**A leggyakoribb GAG-ok és előfordulásuk:**

	diszacharid alegysége	előfordulásra példa
heparánszulfát	-glukuronsav-szulfát+ glikozamin-szulfát	lamina basalis
kondroitinszulfát	-glukuronsav+ N-acetilgalaktózamin-szulfát	porcszövetek, stb.
dermatánszulfát	-iduronsav+ N-acetilgalaktózamin-szulfát	bőr, inak
keratánszulfát	-galaktóz+ N-acetilgalaktózamin-szulfát	cornea



A szulfát itt az  $-SO_3H$  csoportra utal, amely valójában ún. szulfocsoport (nem helyes 'szulfátról' beszélni, mivel nem a kénsav sójáról, hanem észteréről van szó, a 'szulfát' nem tud disszociálni, de a nevek már megrögzödtek). Az  $-uron$  a cukor savszármazékára utal, az acetyl- azt jelenti, hogy az aminocsoport (peptidkötéshez hasonlóan) ecetsav kapcsolódik. Az iduronsavnak megfelelő cukor, az 'idóz' egy OH-csoport térbeli helyzetében tér el a glükóztól (akárcsak, egy másik OH-nál, a galaktóz). A feltüntetett diszacharid alegységek ismétlődése alkotja a GAG láncot. A 'core protein' és a GAG együtt határozza meg a molekula nevéket, pl. perlekán, verzikán, stb., ált. jellegzetes  $-kán$  végződéssel. A négy diszacharid neve, előfordulásának példája megjegyzendő, a többit elég megérteni. A **heparinban** még egy szulfátcsoport van a heparánszulfáthoz képest, a glükózon, ezért intenzíven metakromáziás a festődése (ld. hízósejtek).

Egyes proteoglikánok szolubilisen maradnak (pl. foszfakán), mások lehetnek integráns membránfehérjék (pl. a szindekán), vagy a membránhoz kapcsoló (cerebroglükán). A korábban már említett 'external coat' alkotásában fontos szerepük van, mint sokoldalúan kapcsolódó molekuláknak. Ezek a molekulák segítik elő a mikrobolyhok és a kefeszegély nagy adszorbeáló és felszívó-képességét (bél, vese). Előfordulnak a központi idegrendszerben is, ahol a sejt vándorlás és az axonnövekedés fontos szabályozói. Hasonló anyagok vannak a **mucintartalmú** váladékokban nyál, nyák: nyálmirigy, kehelysejt), ez teszi ezeket vízmegkötővé és sikamlóssá, valamint PAS-pozitívvá. Régebbi nevük miatt '**mukopoliszacharid**' volt.

**II) A hialuronsav** glukuronsav+acetylglükózamin alegységekből álló, rendkívül hosszú molekulájú (néha 1mm, molekulásúlya million körüli), hatalmas vízkötő képességű szénhidrátszármazék (tehát szintén glikozaminoglikán). Nincs 'core proteinje' (tehát nem alkot proteoglikánt), és nem szulfatálódik. Ugyanakkor képes kötni bizonyos proteoglikánok core-proteinjeit, ezáltal a sejt közötti állomány 'gerincét' képezi (ld. SzR 2/26 ábra).

### III) 'Adhéziós glikoproteinek'

Segítenek az alapállomány, a sejtek, és a rostok összekapcsolásában.

**Lamininek** A lamininek három alegységből épülnek fel ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) amelyeknek több izoformája van, ezeket számokkal jelöljük. A különböző alegységek kombinációjából számos laminin jöhet létre, amelyek más-más sejtek számára képezhetnek lamina basalist, A sejtek laminin-receptorai a laminin egy arginin-glicin-aszparaginsav (röviden RGD) szekvenciáját 'ismerik fel' és kötik meg. Inkább 'kétdimenziós', lemezszerű rendszerek kialakításában vesznek részt.

**Fibronektin** Rokonai: kondronektin, vitronektin, hialuronektin, A fibronektin elsősorban a kötőszöveti rostokat kapcsolja össze az alapállománnyal, de az integrinen át sejtekkel is, mivel van RGD részlete. Főleg háromdimenziós rendszerek kialakítását segíti elő. A lamininnel együtt előfordulnak a központi idegrendszerben is, ahol a sejtváándorlás és az axonnövekedés fontos szabályozói.

Úgy Sbj, mint SzR érzésem szerint kicsit félreérthetően írja le e vegyületeket, mintha 'ezek lennének' a glikoproteinek', vagy legalábbis azok fő képviselői. Valójában szinte minden extracelluláris, ill. a sejtmembránból 'kilógó' protein glikoprotein. Az a fontos, hogy megkülönböztessük őket a proteoglikánoktól: a glikoproteidek szénhidrát-része rövid, általában nem-módosult cukrokból áll –pl. oligomannóz,-esetleg glikozaminokból. Az a leírás Sbj 143. old.-on (mely szerint a 'proteoglikánok' által alkotott gélszerű alapállományba ágyazódnak a fibrilláris fehérjék, amelyek lehetnek szerkezeti elemek: kollagén és elasztin, ill. adhéziós fehérjék: laminin és fibronektin), két ponton is félrevezető:

- nem 'kollagén' és 'elasztin' van beágyazódva, hanem a belőlük készült kollagénrostok és elasztikus rostok
- a laminin és a fibronektin viszont az alapállományhoz sorolandó (tehát nem 'abba van beágyazva'), tkp. ezek a molekulák biztosítják az összeköttetést a sejtekkel és a rostokkal

A sejtközötti állomány dinamikus struktúra. Ha 'változnak az igények' (pl. a fejlődés során, vagy gyulladásos folyamatokban, kötőszöveti átépülés, érképződés, stb. esetén) az alapállományt, ill. a rostokat le kell bontani. Ezt a mátrix-metalloproteázok (MMP-k) végzik, amelyekben fémion, általában cink van. Ide tartozik a kollagenáz is.

A sejtközötti állomány másik komponenséről, a rostokról itt csak egy-két dolgot említünk. A kollagén rostokra jellemző a nagy glicin-tartalom, a tripla-helix struktúra, és az ennek kialakításához szükséges utólagos prolin- és lizin-hidroxilálás (ld. SzR 166. old.). Ez C-vitamint igényel, ez magyarázza a skorbut tüneteit (foglazulás, stb.). Az intracellulárisan képződő prokollagénből egy rész lehasadásával tropokollagén keletkezik, ez szecernálódik, és extracellulárisan elemi kollagénrostokká áll össze. Az egyes peptidláncok hidroxilizin-oldalláncaiból képződő keresztkötések (csak érdekességképpen: lizinonorleucin, aldol, ill. hidroxipiridin 'hidak' létrejöttével ld. Biokémia) segítik a kollagénkötegek kialakulását.

Az elasztin hasonlóan képződik intracellulárisan, utólagos lizin-hidroxilálással. Pro-, tropoelasztin itt is a közbenső átomások. Extracellulárisan 4-4 lánc hidroxi-lizin oldalláncaiból egy nitrogéntartalmú aromás gyűrű kondenzálódik, ez tartja össze az elasztint rugalmas térhálóvá. Ha az elasztint lebontjuk (elasztázzal), a hidrolizátumban megjelenő gyűrűs, 4 lizin-maradékot tartalmazó molekula a dezmozin. Az elasztinképzéshez réz-ionok jelenléte is kell.

## B) Sejt-mátrix receptorok, ill. sejt-mátrix kapcsolatok

Ezeket szokás a CAM-okkal szemben SAM-oknak nevezni (szubsztrát-adhéziós molekulák, a 'szubsztrát' itt a sejtközötti állományra utal).

Két fő típusuk van:

**I) Integrinek** (SbJ 144-145. old., ill. 146. teteje)

és a nem-integrin jellegűek. Utóbbiak közül legismertebb a

**II) Disztroglikán-disztrofin komplex**, (ld. SbJ 145. old. az ábra felett).

Megjegyzések

- Mindkétféle laminin-receptor a sejteket a lamina basalishoz köti, ezen keresztül kapcsolódnak a sejtek a sejtközötti állományhoz.
- Az integrinek igen változatosak, alfa alegységüknek kb. tucatnyi, a bétának 4 formáját ismerjük, ami negyven feletti kombinációt jelent. Nevüket onnan kapták, hogy a sejteket és a mátrixot szövetté 'integrálják'. Elhelyezkedhetnek diffúzan, vagy tömörülhetnek elektronmikroszkóppal látható kapcsoló struktúrákba. Ha ebben intermediér filamentumok horgonyzódnak le, '**hemidezmoszóma**' keletkezik, míg aktinmolekulák esetében '**fokális adhéziós komplex**' (FAK). Ld. SbJ 149. ill. 151. old. Mivel RGD-felismerő helye is van, fibronectint is köthet.
- A bőr hámsejtjeinek dezmoszómális kapcsolatának szétválása okozza a pemphigus nevű életveszélyes betegséget: a bőr nagy hólyagokban leválik, mint égéskor. A lamina basalisban lévő kollagén-IV, vagy egyéb molekulák károsodása, a hám és kötőszövet kapcsolatának szétválása kevésbé súlyos (pemphigoid).
- A disztroglikán is két alegységből áll, proteoglikán, az egyik alegység transzmembrán, a másik extracelluláris, és hidat teremt az előző és a laminin, vagy egyéb lamina basalis komponensek (agrin, perlekán) között. Az intracellulárisan kapcsolódó disztrofin-(máskor utrofin) molekula aktinműködő. Hiánya okozza a Duchenne-izomdisztrófiát, és más betegségeket. Különböző szövetekben eltérő molekulásúlyú disztrofinok (ún. disztrofin izomorfok) fordulnak elő. A komplexnek még számos intracelluláris tagja van (disztrobrevis, szintrofin, szarkozpán, szarkoglikán), amelyek a sejtmembrán-receptorokkal, kálium-csatornákkal, az akvaporin-molekulákkal (ld. SbJ 19. old.), receptorokkal, ill. az intracelluláris szignálrendszerrel tartanak kapcsolatot. Fontos az izomzatban, a vérerekben.

## C) Lamina basalis: a sejt és a kötőszöveti alapállomány közötti 'interface'

A lamina basalis fő alkotója a kollagén-IV, amelynek sajátos térszerkezete segíti a 'kétdimenziós' szerveződést. A laminin a kollagén-IV-réteg és a lamina basalisban nyugvó hámsejtek között helyezkedik el rendezetten, a sejteken lévő receptorokkal kapcsolódva. A szintén glikoprotein nidogén és entaktin segítik a kollagén-IV kapcsolódását a lamininhez, úgyszintén a kollagén-VII-ét, ami viszont a kötőszöveti kollagénrostok kapcsolódását biztosítja a sejtekkel ellentétes oldalon. Hozzájárulnak a lamina basalis kialakításához bizonyos heparánszulfátok (perlekán, szindekán). Ezek a nidogénnel és az entaktinnal a lamina basalis tömöttebb részében (lamina densa) vannak. A kevésbé elektron-denz lamina lucida (a sejtek felőli oldalon) tartalmazza az integrin-molekulák idenyülő részét, és egyes vélemények szerint kollagén-V-öt. A laminin-molekulák mindkét rétegbe betérnek átérnek. A kötőszövet felőli oldalon rácsrostok hálózata kapcsolódik hozzá (lamina reticularis), ezzel együtt jön létre a membrana basalis. Membrana basalis-szerű réteg van az izomrostok ill. az idegrostok körül (endomízium, endoneurium).

A lamina basalisnak fontos irányító szerepe van a fejlődésben, hámregenerációban. A szaruhártya hámsejtjei pl. regenerálódhatnak, amíg az alattuk lévő ún. Bowmann-hártya ép. Indukálja is a hámsejtek már említett apikális-bazális polarizáltságát. Ld. még SBJ 143. old., ill. SzR 170-173. old.

Előfordulhat, hogy a lamina basalis mindkét oldalán sejtek vannak. Ez történik pl. ahol az ereket bélelő hámszerű endothel szoros kapcsolatban kerül más hámszerű sejtekkel: a veseglomerulus ún. 'podocitáival', a tüdőhólyagocskák laphámjával, vagy az agyban az ereket körülvevő gliasejtekkel (ld. a részletes szövettanban). Ilyenkor tkp. két lamina basalis olvad össze, a zona reticularis hiányzik, és a lamina densa mindkét oldalán (ti. mindkét sejtréteg felé) lamina lucida található.

### **Előadásaink nem ölelik fel az alábbi fejezetet:**

#### **XIII. A sejt működésének szabályozása**

Ezzel kapcsolatos jelenségekről már volt szó a sejtmembrán, ill. a sejtkapcsolatok tárgyalásakor. A témát részletesebben a Biokémia ill. az Élettan keretében tanulják.

**A középiskolából elvárt alapismeretek:** receptor, hormonok és hatásaik, enzimműködés szabályozása, fehérjeszintézis szabályozása, sejtben belüli hírvivő rendszerek.

SBJ 169-171. megtanulandó (a következő alcímig: 'Ligandok hatása...'), különös tekintettel a parakrin és az autokrin szekrécióra. A többit is érdemes elolvasni, segít a fejlődésbiológia egyes jelenségeinek megértésében.

Rövid, megjegyzendő summázata:

- A szignálok általában molekulák, de lehetnek más természetűek (pl. mechanikai érintkezés, sejtkapcsolódás, potenciálváltozás).
- A kémiai szignálok két fő csoportja a sejtmembrán-receptorokon hatók, ill. a sejtmag-receptorokon hatók. Egyesek azonban hathatnak más organellumokon is.
- A membránreceptorokon hatók a sejtekben 'másodlagos messengereket' aktiválnak (pl. cAMP, kalcium). A sejtben belüli bonyolult szignálutakat ld. később (Biokémia). Ezekre gyakran alkalmazzák a 'kaszkád' kifejezést, amivel arra utalnak, hogy az egymást követő lépések egymást erősítik.
- A magban hatók esetében fontos, hogyan jutnak át a membránon (pl. endocitózis kül. fajtái) és hogyan jutnak el a magig (pl. hordozók révén).
- A sejtmagra, a génekre való hatás általában két fázisban történik. Először 'általános', a transzkripciót segítő fehérjéket kódoló gének (ún. korai, 'early' gének, pl. c-jun, c-fod) aktiválódnak. Ezek segítik a specifikus válaszáért felelős gének aktiválását. Ld. még XIV/3 ábrát is.
- Vegyük észre a foszforiláció-defoszforiláció általános szabályozó szerepét a legkülönbözőbb folyamatokban (enzimaktiválás, citoskeleton felépülése, génaktiválás – hisztonok! -, transzportmechanizmusok).

## 26. Sejtosztódás, őssejtek, sejt differenciálódás

Itt foglalkozunk a fejlődésbiológia néhány egyéb alapfogalmával is.

**A középiskolából elvárt alapismeretek:** mitózis, meiózis, amitózis, pro-, ana-, meta-, telofázis, mitotikus orsó, citocentrum, DNS-megkettőződés, genom, diploid, haploid, poliploid, egyedfejlődés, törzsfejlődés, evolúció, mutáció, indukció

**A Sejtbiológia jegyzet idevágó fejezete:** XIV. A sejtosztódás szabályozása

### A) A sejtosztódás szabályozása

SbJ 181-185. megtanulandó, kivéve a

181. old. 3. bekezdést, amelynek csak első két mondatát raktározzuk el, a ciklinek szerepének lényegéről, ill. a Cdk-ról.

183. old. „A korai embrionális sejt ciklus”: csak az első két mondat kell (odáig, hogy: „...MPF... .. újabban M-Cdk”, a Cdk-t a 181. old. 3. bek. első két mondata magyarázza), valamint „A standard sejt ciklus” első bekezdése.

184. old. A G-null fázis tkp. az az állapot, amikor a sejt spec. működését végzi, elválaszt, felszív, mozog, stb. A XIV/1. táblázat feletti mondatban „ezekben a sejtekben” nem a sejtekre általában, hanem csak a G-null fázisban levőkre vonatkozik. A táblázatot nem kell reprodukálni. Úgyszintén nem kell memorizálni az összes növekedési faktor nevét és hatását, de példákat tudni kell, és elvárjuk, hogy a nevek és hatások esetleges későbbi előfordulás esetén 'ismerősen csengjenek'.

185. old. elegendő a 2. bekezdés végéig '(XIV/3. ábra)', maga az ábra kell. A többi elolvasása, a 186. old. aljáig, segítheti az ábra megértését, de részletesen megtanulni nem kell.

Az SbJ XIV/3 ábrához néhány megjegyzés:

Az ábra nem csak az osztódásszabályozás (a G0-ból a G1-be való átmenet), de számos más, membránreceptoron át történő szabályozás sémáját mutatja, ezért célszerű megismerni. A 'kináz' általánosságban fehérjét (enzimet, vagy mást) foszforilálással aktiváló enzimet jelöl (κινειν = mozgatni). Itt ún. Tyr-kinázokról van szó, amelyek a tirozin aminosav -OH -csoportját foszfo-észtereszítik. A többszöri kináz-működés egy jelerősítő 'kaszkádot' alkot (valahogy úgy, mint amikor minden ember értesít tíz másikat). A 'transzkripció faktorok' értelemszerűen azok az enzimek, stb., amelyek a transzkripcióhoz szükségesek (részletesebben ld. Biokémia), itt: a 'korai gének' DNS-ének transzkripciójához.

A 'korai gének' a sejt 'általános válaszát' tükrözik, azaz RNS-t képeznek további transzkripció faktorok szintéziséhez (ami a citoplazmában történik). Ez utóbbi faktorok a specifikus válaszhoz szükséges 'késői gének' transzkripciójához szükségesek.

A 'korai' és 'késői' gének nem csak az osztódásnál, hanem egyéb sejtaktiváló folyamatoknál is szükségesek, pl. az idegsejtek aktivizálódása is követhető vizsgálatokkal.

A növekedési faktorok elnevezése onnan származik, ahol hatásukat megismerték. Hatásuk azonban sokkal kiterjedtebb annál, amire a név utal (még a jegyzetben hozott példánál is!), többféle sejtre, szövetre, többféle működésre terjedhet ki. Köztük és a citokinek között a fő különbség a támadáspontban, ill. a hatásmechanizmusban van, bár a 'végeredmény' lehet hasonló.

SbJ 187-188. old. megtanulandó, kivéve azt a bekezdést, hogy „Az onkogének, vírusok...”  
Megj.: a „sejtvonal” tkp. egy sejt utódait jelöli. A sejtvonal nem feltétlenül jelent transzformált sejtet, de a transzformált sejteket is sejtvonalként, sorozatos tenyésztéssel alakítják ki, így végül azok a sejtek maradnak meg, amelyek pl. mutáció révén állandóan osztódók maradnak (immortalizáltak).

Azt a jelenséget, hogy a kiültetett, tenyésztett sejtek általában 50-szer osztódhatnak, **Hayflick-limit**nek nevezzük. (Ez  $2^{50}$  -en, azaz kb.  $1126 \times 10^{12}$  - 1126 billió - sejtet jelentene; példaképp: 5 liter vérünkben kb. 25 billió vörösvérsejt van). Az osztódások számát a kromoszómák végén lévő telomer/telomeráz rendszer szabályozza (ld. elolvasásra SbJ 217-218. old.).

Keressük meg, és hasonlítsuk össze a jegyzetben említett 3 fő sejtosztódásszabályozó rendszert (telomer/telomeráz, protoonkogén-onkogén gének és tumor-szuppressziós gének) hatásmechanizmusát és biológiai szerepét!

SbJ 189-192. old. kihagyható, más tantárgyakra (pl. Biokémia) tartozik. De jegyezzük meg a „G0 - G1 átmenet” c. alfejezet első három mondatát (a „...restrikciós pont”-ig, ez utóbbi magyarázatát ld. a 182. old. tetején).

SbJ 193. old.: megtanulandó a G<sub>2</sub>-M átmenet, onnan, hogy: „Ezután az MPF...” (ti. a G<sub>2</sub>/M ellenőrzőponton való sikeres átjutást követően). Az MPF (M-fázis promoting faktor) fogalmát ld. a 183. oldalon. Nem ő a lényeg, hanem, hogy milyen változások történnek a sejtekben osztódás előtt. A lamina nuclearist ld. a magszerkezetnél, a MAP-ot és az aktomiozint később, a sejtváznál. Az oldal legutolsó mondata (GTP, Ras, stb.) nem kell.

SbJ 194-198. old.: megtanulandó (addig, hogy:”... az utódsejtek között.”). A kromoszóma kialakulása c. részben egy mondat félrérthető: „...a DNS hosszúságának egytizedére csökken.” Természetesen a hossza nem csökken, csak össze van hajtogatva. Az SMC-re és a sclerodermára vonatkozó 1-1 mondatot nem kell tudni.

SbJ 199-203: elég elolvasni, kivéve az „A citokinézis” c. részt a 202 oldalon, ez megtanulandó.

BGy 50-56. old. elolvasását ajánljuk, ill. a C) és D) pontok megtanulandók.

BGy 73-80. old. elolvasását ajánljuk, de ezen belül a 74. old. B) pont az oldal aljáig megtanulandó, úgyszintén a 'sávtechnika' lényege (odáig, hogy 'Q-sávok'). A fogalmazás itt kissé félrérthető, a sávtechnika nem (csak) a kromoszómák 'azonosítását', hanem a kromoszómán belüli 'tájékozódást' is szolgálja. Az itt említett mutációk jelentése:

- Delécio – a kromoszóma egy darabja kivált,
- Inverzió – a kivált darab megfordulva visszailleszkedett,
- Transzlokáció – a kivált darab átkerült egy másik kromoszómára.

Ezek az ún. 'kromoszóma-mutációk'. A 'pontmutáció' a kis helyen történő (általában egy bázist érintő) mutáció, a 'genommutáció' a kromoszómaszerelvényben okoz változást. Ez utóbbiak pl. aneuploidia – a kromoszómák számának változása, de nem 'n' (a haploid kromoszómaszám) kerek többszöröseként, általában valamelyik párból több van, vagy egynek nincsen párja. Oka a rossz szétválás (non-diszjunkció). Poliploidia: az 'n' megsokszorozódása. Mutációk keletkezhetnek ivar- vagy testi sejtekben (szomatikus mutáció). Utóbbi esetben csak az illető sejt utódaira öröklődik, amelyek ezáltal genetikailag eltérnek a többiektől (mozaicizmus).

**Szexkromoszóma:** a nőkre jellemző XX-kromoszóma egyike, heterokromatin-röggként. A neutrofil granulocitákon 'dobverő'-szerű mag-nyúlványt okoz, de kimutatható más sejteken, pl. a szájnyálkahártya sejtjein is. Ha nőben olyan mutáció fordul elő, amely az egyik X-kromoszómát érinti, csaknem mindig a 'jó' kromoszóma marad aktív, és a nő látszólag egészséges. A 'rossz' kromoszómát öröklő férfi viszont beteg lesz (ld. Genetika, nemhez kötött öröklődés). Ritkán előfordulhat, hogy nőben is a 'rossz' kromoszóma válik aktívva ('lyonizáció').

**A meiózis** lényegét, az ivaros folyamatokhoz szükséges kromoszómaszám-redukciót a középiskolai tanulmányok alapján ismerni kell, ez feltétele a fejlődéstan során a megtermékenyítésről hallottak-olvasottak megértéséhez. A meiózist részletesen az ivarmirigyek szövettanánál kell majd megtanulni. Ekkor

SbJ XV. fejezete (205-211. old.) megtanulandó (de a 209-210 old. lényegében az SzR idevágó anyaga ismétlése), kivéve a meiózis szabályozásának részletezését (211. oldal aljától: „a cAMP és ezzel együtt a PKA...”), amit elegendő átolvasni.

BGy 57-60. old. elolvasásra ajánlott.

**Chiazma** ('kereszteződés) – a crossing-over bekövetkezésének helye a kromoszómán.

**Amitózis.** Régebben rendszeresen megemlítették ez a formát, amelyben a mag anélkül kettőződik meg, hogy mitotikus orsó és kromoszómák alakulnának ki, a kromatin pedig nem egyenlően oszlik el a két utódmag között. Ma ezt nem igazi osztódásnak tartják, csak a magállományok egyes nagy sejtekben (ernyősejtek, máj) történő megkettőződésének.

**Plazmódium, szincícium.** Mindkettő sokmagvú sejtet jelöl, de keletkezésük módja eltérő. A plazmódium a sejtmag ismételt osztódásával keletkezik, a sejttest osztódása nélkül. Tipikus példája a malária kórokozója. A szincícium viszont egyszemű sejtek összeolvadásával keletkeznek. Ilyen a harántcsíkolt izomrost, az osteoclast, a chondroblast, a tejfogakat bontó odontoblast, a kórbonctanban majd megismerendő idegentest-óriássejtek, ill. a syncytiotrophoblast a placentában. A megakariocita viszont nem sokmagvú, hanem poliploid óriássejt, amelynek bonyolult alakú magja metszetben különálló magok rendszerének tűnik.

## B) Fejlődésbiológiai fogalmak

BGy 56-60. old., ill.

SbJ 213-221 elolvasása javallt. Utóbbiból azért jegyezzük meg az öregedési elméletek nevét, és 1-1 mondatban a lényegét.

SbJ 223-224 megtanulandó, valamint a 224-225. old. 1-3. pontjainak első 1-1- mondata.

SbJ említi, hogy a programozott sejthalál nem mindig apoptózissal történik. Példa erre az elszarusodó hámsejtek pusztulása.

SbJ 226-228. old. elolvasandó. Megjegyzendők az apoptózishoz vezető tényezők, hatások neve, lényege (1-2 mondat a bekezdések elején):

- TNF (tumor nekrosis faktor) és más 'halál-ligandok';
- Bizonyos növekedési faktorok vagy citokinek hiánya;
- Mitokondriális hatások (228. 2. bek., addig, hogy: citokróm C).
- Gátló hatásúak (Bcl csoport) hiánya:

SbJ 229-230 kell, addig, hogy az apoptózis szerepe néhány betegség kialakulásában.

Apoptózisra kerülnek a sejtek elsősorban:

- Kijavíthatatlan DNS-, ill. osztódási hiba esetén. Ebben fontosak a tumorszupresszor gének.
- A fejlődés során 'nem találják helyüket'. Pl. idegsejtek nem tudnak megfelelő kapcsolatot kialakítani.
- A fejlődés során feleslegessé válnak.
- Súlyos károsodás esetén, ami amúgy is pusztulásukhoz vezetne.

SzR: 64-65. old.

**Totipotens** sejt, amely egy organizmus mindenféle sejtjét létre tudja hozni. **Pluri-, multipotens** sejt, amely sokféle sejtet hozhat létre. **Unipotens** – már csak egyféle sejté alakulhat. Az egyedfejlődés során a sejtek potenciája beszűkül, DNS-ük egyre nagyobb része van jelen véglegesen 'olvasás előtt elzárt' formában, azaz nem történhet róla transzkripció (ld. konstitutív heterokromatin). A fejlődési potenciának ez a beszűkülése a **determináció**, azaz annak meghatározása, hogy a sejtől milyen sejt fejlődhet. Ezután következik a **differenciálódás**, melynek során a sejt alakja, működése elnyeri végső formáját. Ha a sejtet idejekorán más környezetbe helyezik (átültetik más testrészre/állatba, vagy kiültetik szövettenyésztetbe), a fejlődése bizonyos határok között (determináltságától függően) más irányt vehet.

**Dedifferenciálódás** a differenciálódással ellentétes folyamat, az éretlen sejtire jellemző tulajdonságok visszatérése. Ez kizárólag a differenciálódás bizonyos fokáig el nem jutott, nem végdifferenciált sejtek esetén lehetséges (pl. kifejllett idegsejtek, szívizom sejtek esetén lehetetlen!). Ez is lehet a **regeneráció** bizonyos mértékű forrása. A magzatburkos gerincesekben (hüllő, madár, emlős) azonban a dedifferenciálódás ritka, és a regeneráció zömmel nem-determinált 'tartalék' (ös-

és progenitor-) sejtekből történik. Nem azonos a regenerációval a **kompenzatórikus hipertrófia**, amikor a megmaradt szerv- szövetrésztet megnagyobbodásával próbálja a kiesett részt funkcionálisan pótolni.

**Őssejtek** - olyan sejtek, amelyeknek legalább egyik leánysejtje az anyasejttel egyező sajátságokat mutat. Ilyenkor a másik sejt továbbfejlődik (aszimmetrikus osztódás, szimmetrikus osztódásnál két egyforma sejt keletkezik). Az őssejtpopuláció ezáltal önfenntartó. Az őssejt potenciája változó lehet, a mesenchymális őssejt pluripotens, de az ivarsejteké unipotens. **Progenitor** sejt az, amelynek fejlődési potenciája már beszűkült, várható, hogy milyen sejtekké fog fejlődni. Általában már csak bizonyos számú (szimmetrikus) osztódásra képes. **Prekurzor** sejt valamely érett sejtfeleség előalakja, nem teljesen differenciálódott formája. A két fogalmat nem mindig választják szét következetesen.

A meghatározott számú osztódás után ún. **posztmitotikus** sejt jön létre, amely már nem osztódik tovább. Egyes sejt típusok, pl. az idegsejtek, ezután vándorolnak a sejtek végleges helyükre, és kezdenek differenciálódni. Lehetséges azonban, hogy a proliferáció a végleges helyre vándorlás után (is) történik, pl. az ivarsejtek esetén. A nem megfelelő helyre jutott, vándorlásában vagy differenciálódásában meggátolt sejt általában spontán, programozott sejthalállal elpusztul (**apoptózis**, ld. SBJ 229. old.), úgyszintén azok, amelyek bármely szempontból 'feleslegesnek' bizonyulnak - azaz kellő számú sejt-sejt kapcsolatot nem képesek létesíteni vagy nem kapnak elegendő növekedési faktor szignált.

A fejlődés említett lépéseinek szabályozásában fontos szerepe jut a növekedési faktoroknak, az extracelluláris mátrixnak, ill. a más sejtekkel való érintkezéseknek, kapcsolatok kialakulásának. Ezek **indukálják** bizonyos tulajdonságok kialakulását, másokét pedig elnyomják, átmenetileg, vagy véglegesen. Az indukálás menetének ábrázolására is alkalmas a XIV/3. ábra (SBJ 185. old.) A legkorábbi lépések közé tartozik a test fő irányainak (tengelyeinek) meghatározódása. Az indukációs hatások az említett ábra sémája alapján egy-egy testtáj, szerv területén a génaktivitást, a transzkripciós folyamatokat szabályozzák (részletesebben ld. fehérjeszintézis, Biokémia). Számos résztvevő faktorok nevéből nem következtethetünk a hatásra (pl. 'sonic hedgehog', 'notch', ezek más sejtek által szecernált szignálfehérjék). A sejten belüli génaktivitást szabályozó transzkripciós faktorokat kódolnak a Hox, Pax, Krox, Nkx gének, stb., amelyeknek sok számozott variációja van. Ezeket át valósul meg a külső 'jelek', indukciók hatása.

A **Hox gének** tartalmaznak egy konzervatív DNS-szakaszt (ez a 'homeobox', innen a Hox név, az általa kódol fehérjerész a 'homeodomén'), és egy génenként változatos szakaszt. A Hox gének egymásután helyezkednek el egy kromoszómán, ahogyan a test egyes tájékainak fejlődését antero-posterior irányban meghatározzák. Aktiválódásukat sok transzkripciós faktor és sejt felszíni receptortól származó hatás irányítja. Az antero-posterior tengely mentén a hox gén-család tagjai más-más kombinációban aktiválódnak. Ezek a gének irányítják az embrió eredetileg egyforma szegmentumaiban eltérő szervek kialakulását (ld. pl. a bélcső szakaszai, az ősvese származékai, a kopoltyúívek, az agytörzs, stb.).



A **Pax** (paired bokszt genes) szintén tartalmaz konzervatív 'boxot' (ezért tágabb értelemben rá és társaira is értik néha a 'homeobox gén' kifejezést. Nem annyira testtájak, inkább szervrendszerek irányítói.

Csak példaképp:

Pax-1 – sclerotomok, discus intervertebralisok, első három garattasak, végtagok, feji mesenchima, fülporc;

Pax-2 – vesetelep, pancreas, nyúltvelő, gerincvelő, szemserleg;

Pax-3 – dermatom, hátsó végtagbimbó, 1-2. kopoltyúív, szaglógödör, gerincvelő, ganglion spinale;

Pax 6 – szaglóhám, diencephalon, szemhólyag, corpus pineale,

Pax 7 – dermatom, miotom, velőcső dorsalis része, nyúltvelő;

Pax 8 – vesetelep, pajzsmirigy, velőcső, nyúltvelő.

Látható, hogy 'célterületük' egymással (és más, Hox, stb. génekkel, de a növekedési faktorokkal, szignálfehérjékkel, stb. is) átfedésben van. Ugyanarra a szervre különböző fázisban is hathatnak (pl. velőcső-nyúltvelő, szemserleg-szemhólyag). Ebből ered az egyes szervek fejlődésének változatos, egyedi szabályozó mintázata (2 faktor 4, 5 már 32-féle változatot produkálhat, ha a hatásuk időben is eltérő – azaz sorrendjük is számít- még többet, ld. kombinatorika).

Igen fontos felismerés, hogy a fejlődésszabályozó génrendszer ősi és konzervatív. Ha összehasonlítjuk a rovarok (pl. a *Drosophila*) szabályozó génrendszerét, az igen hasonló a gerincesekéhez, sőt, egymást helyettesíthetik is. Voltaképpen ui. az *indukált* sejt jellege dönti el, mi fejlődhet ki, az indukáló hatás ezt csak megindítja (pl. ősbibb típusú, 'alsóbbrendű' állatok petesejtje egy tűszúrás nyomán is létrehozza az illető állatot). A sportversenyen a startpisztoly ugyanúgy dördül mindenkinek, de az úszó úszik, a futó fut, a bíró eldönti a start helyességét, a néző meg összerenzen.

Az indukációs hatások hierarchikus láncot alkotnak. Van '**elsődleges organizátor centrum**' (az 'összaj' 'felső ajka', amely az ember (és ált.: hüllő, madár, emlős) esetében a majd megismerendő 'primitív gödör' elülső pereme. Ez indukálja a 'másodlagos centrumok' aktivitását. Az a sejt, ill. szerv, amelynek fejlődését egy indukációs hatás megindítja, maga is továbbiakat indukál. Ha a lánc megszakad, a fejlődés sem folyik tovább. Ezért vannak olyan fejlődési jelenségek, amelyek látszólag értelmetlenek, de az evolúció korábbi szakaszában, elődeinknél lényegesebbek voltak. Ha a további tanulmányok során 'értelmetlen' lépésekkel találkozunk a fejlődéstanban, gondoljunk erre. Ilyen pl. a hipoblasztok és a szikzacskó, a canalis neurentericus, az ősvese, a kopoltyúívek, az operculum (a halak kopoltyúfedőjének felel meg, ld. a fejlődéstanból később tanulandókat). Ilyen az allantois is, amely a hüllőknél és a madaraknál az amnion és a tojánhéj között elhelyezkedő, az egész embriót beborító lapos zacskó. (Ezekkel a fogalmakkal a fejlődéstan tanulásakor fogunk előbb vagy utóbb találkozni.)

Hogyan fejlődhetnek különböző irányba az azonos génállományú sejtek? Erre a fentiek megadják a választ: különböző, a környezetükből származó hatások miatt. De hogyan történhetett ez a korai szakaszban, pl. a zigóta osztódásakor, ill. a morula sejtjei között? Bár az osztódásnál a kromatinállomány egyformán oszlik a két sejt között, a citoplazma esetében nem ez a helyzet. Ebben fejlődésre ható faktorok eloszlása egyenlőtlen lehet, ezáltal a két utódsejtet eltérően befolyásolják. A zigótán egyébként is van egy kitüntetett irány, ti. ahol a spermium behatolt. A morula kialakulásakor a sejtek kétféle környezetbe kerülhetnek: belsők, csak sejtekkel érintkező sejtek, és külsők, a külvilággal is érintkezők. Így azután egyre nőnek a különbségek sejt és sejt között.

A gyenge sejtkapcsolatok szükségesek a vándorláshoz, az erősek pedig annak megállításához. Pl. az immunglobulin-szerű sejtadhéziós molekuláknak sok szialosavat tartalmazó formája (PSA, azaz polisziális CAM) sok vizet köt meg, ennek a hidrátburoknak a nagysága nem engedi olyan közel a sejteket, hogy erős kapcsolatokat alakítsanak ki a szomszéd sejtek hasonló molekuláival, ezért tovább vándorolnak. Ha ezek helyett a sejt szialosavmentes adhéziós molekulákat juttat a felszínére (a sejtfelszín receptorai, kapcsolófehérjéi állandóan cserélődnek!), akkor erős kapcsolat alakul ki, a

sejt nem vándorol tovább. Mint szó volt róla, az összeillő sejtek egymásra-találásában fontosak a homofil kapcsolatok, főleg a cadherineek. Fontos szerepe van az extracelluláris mátrixnak a sejt-vándorlás irányításában. Ilyen pl. a lamina basalis szerepét a cornea sérüléseinél (ld. a lamina basalis leírását a 11. ea. anyagánál).

A morfogenetikai (alakképző) folyamatokban alapvető szerepe van az egyenlőtlen növekedésnek. Pl. ha egy megnyúlt képződmény egyik oldala elmarad a növekedésben, görbület alakul ki. Amikor arról beszélünk, hogy valami megkisebbedik, beszűkül, besüllyed, akkor általában a valóságban a környező struktúrák azok, amelyek megnőnek, kiemelkednek. Itt érdemes megjegyezni, hogy, bár látszólag az idegek, erek 'átfúrják' az izmokat, csontokat, valójában fordítva történik: a csont, izom nő össze körülöttük.

### 31. Citoszkeleton és sejtmozgás

**A középiskolából elvárt alapismeretek:** sejtváz, aktin, miozin, mikrotubulus, csilló, csúszó (sliding) hipotézis, amőboid mozgás, ostor, ATP, kalcium jelenlétének szüksége

**A Sejtbiológia jegyzet idevágó fejezetei:**

X. A sejtváz

XII. A sejtek mozgása

#### A) A sejtváz

A citoszkeleton egyes elemeivel már eddig is találkoztunk (intermedier filamentumok, aktin: a sejt-kapcsolatokhoz 'horgonyozva', mikrotubulusok az osztódási orsóban, ill. a sejtorganelumok mozgásakor). Ezt a nagy vonalakban már ismert rendszert most részletesebben tanulmányozzuk.

Vegyük észre az azonosságokat:

- alegységekből épülnek fel;
- a szükségletnek megfelelően felépülnek vagy lebomlanak, ill. átrendeződnek;
- 'asszociált proteinek' járulnak hozzájuk, amelyek részben egybentartásukért, részben más sejtalkotókhoz ill. egymáshoz való kapcsolódásukért felelősek.

Az aktin és a mikrotubulusok a mozgás szolgálatában állnak, minden sejtben hasonlóak. Az intermedier fehérjék jellemzők az őket tartalmazó sejt típusra.

SbJ 123-129. old. megtanulandó, kivéve a 125. old. utolsó bekezdését, ezt elég elolvasni. A 124. oldalon (3. bekezdés 2. sora) az „és” két oldaláról kimaradt: „alfa” ill. „béta”.

SbJ 130-135. old. megtanulandó, kivéve „Az aktin polimerizáció...” kezdetű bekezdés (130. old., 2. bek.), amelyből elég annyit tudni, hogy ATP hidrolízisét, ill. kálium- és magnézium ionokat igényel, G a globuláris, F a fonális aktin neve, és ennek polaritása van, tehát két vége nem egyenértékű. Az SbJ X/9 ábra nem kell, a X/10 igen. - A 130. oldal első bekezdés utolsó sorában az „aktin” előtt „gamma” kellene, hogy álljon.

- Az aktinhoz kapcsolódó fehérjék (actin binding proteins, ABP-k) esetében inkább a hatás mint a név a fontos, de példaképpen néhány nevet a funkcióval együtt tudni kell.

- A **spektrin** (pontosabban: a spektrin-család tagjai) is tekinthetők 'aktin-kötő' fehérjéknek (kérgi aktin, ld. 134. old., rögzítése), de úgy is felfoghatók, mint egy 'membrán-szkeleton' alkotói, ti. a sejtthártya alatt húzódó hálózatot alkotnak számos sejtfeleségben (vagy talán mindegyikben). A vörösvértestek alakjának megtartásában (a hemoglobin sajátságai mellett) fontos a spektrin-váz. A spektrin 'membránszkeleton' ankirin (αγκυρα – horog, horgony, vö. 'anchor') köti a membránhoz.

A 'membránszkeletonnak' az ioncsatornák, receptorok, raftok, stb. eloszlásának fenntartásában is tulajdonítanak szerepet. A neuronban a spektrin rokona, a fodrin található, és a már említett disztrofin, ill. utrofin is a spektrin 'família' tagjai, tekinthetők egy 'membránváz' hálózatnak, amely egyfelől aktint köt, másfelől a sejtmembránban lévő disztroglükánhoz rögzül. Elsősorban az izomban, de az agyban (glia-ér kapcsolat, szinapszisképződés) is van szerepe.

- Az „Azok a külső szignálok...” (135. old. fent) bekezdésben az egyes szignálmolekulák nevét nem kell tudni, elég annyit megjegyezni és megérteni, hogy a különböző alakzatok, aktinelrendeződések (lamellipódium, filopódium, stresszfonalak) kialakulását különböző intracelluláris szignálok hozzák létre. (A kis G proteinekről az érdeklődő hallgató olvashat a 173. old. alján, de ezzel majd a Biokémia és az Élettan fog részletesen foglalkozni.).

SbJ 136-138. old. megtanulandó, de a polimerizáció részletei (dimer, tetramer, protofilamentum, domének, motívumok) nem sarkalatosak. Azt viszont jegyezzük meg, hogy a polimerizáció és a lebomlás spontán történik az alegységekből, a kettő arányát az alegységek foszforilációja (kináz működés) a lebomlás, a defoszforilációja (foszfataz) a felépítés irányába tolja el. SbJ nem tér ki arra, hogy az intermedier filamentumoknak (gyakran rövidítik IF-nek) miért nem polarizáltak, holott monomerjeik még azok (ti. 'fejük' és 'farkuk' van – a polarizáltság itt nem elektromosságtani értelemben értendő!). Az ok –mint a X/15 ábrán látható – az, hogy a dimerek ellentétes irányban (fej a farkhoz) fekszenek össze, ezáltal a polarizáltság elvész.

Az IF-eknek is vannak asszociált proteinjeik, az ún IFAP-ok. Molekulasúlyuk szerint különböztetik meg őket. Különleges szerepet tölt be a plektin. Ez a fehérje tkp. egy IFAP, de kapcsolódhat az aktinfilamentumokhoz is, tehát képes összekötni a két rendszert. Részt vehet a magmembránhoz, ill. sejtmembránhoz való horgonyzásban is, mivel tkp. a plakinok közé tartozik, amik az IF-ekat a sejtkapcsolati helyekhez kötő fehérjék (ld. dezmoszóma, dezmoiplakin).

Az, hogy az intermedier filamentumok jellemzőek egy-egy sejt- ill. szövettípusra (bár a kivételek egyre szaporodnak), onnan adódhat, hogy szoros összefüggésben vannak a sejt- kapcsolatokkal. Ez utóbbiak viszont meghatározzák a szövet jellegét, hiszen rajtuk múlik, milyen sejtek, ill. sejtközötti állomány kapcsolódhat. Vannak adatok, mely szerint a két rendszer együtt változik. Pl. amikor az egyedfejlődés során hámjellegű szövet mesenchimális jellegű lesz, eltűnnek a dezmoszómák, és ugyanakkor a keratint vimentin váltja fel. Úgy tűnik, az intermedier filamentumok különböző típusai közül (ld. a táblázatot) csak a keratin képes dezmoszóma kialakulásában részt venni. Az intermedier filamentumok vizsgálatát a daganat-diagnosztikában is felhasználják, a daganat eredetének, ill. 'érettségének', a daganatos szövet differenciáltságának vizsgálatára.

## A citoskeleton intermedier filamentumainak fehérjei.

Csoport	Név	Molekulasúly	Polipeptidek száma	Előfordulás
I. típus	Savas keratinok	40-57 kDa	15 fölött	Hámszövet
II. típus	Bázikus keratinok	53-67 kDa	15 fölött	Hámszövet
III. típus	Dezmin	53 kDa	1	Izom
	GFAP	50 kDa	1	Asztroglia
	Vimentin	57 kDa	1	Fibroblast, általában: éretlen sejtek
IV. típus	Neurofilament, könnyű	62 kDa	1	Neuronok
	Neurofilament, közepes	102 kDa	1	Neuronok
	Neurofilament, nehéz	110 kDa	1	Neuronok
	Nesztin	240 kDa	1	Neuroepithelsejt éretlen származékai
V. típus	Lamin A	70 kDa	1	Minden sejt magja
	Lamin B	67 kDa	1	Minden sejt magja
	Lamin C	67 kDa	1	Minden sejt magja

A táblázat csak a fontosabbakat tartalmazza. Az utóbbi években felfedezettek még a szinemin, tranzitin (madarakban, nestin helyett), fakinin (szemlencse), filenzin (szemlencse), internexin (éretlen idegszövet), szinkolin (izomszövet), periferin, szinemin – nem megtanulásra, csak érzékeltetendő, hogy a számuk még növekszik. A molekulasúlyadatokat elég nagyságrendben tudni. Az intermedier filamentumok alkothatnak heteropoliméereket, amelyek különböző IF-fehérjék alegységeiből állnak, de csak rokon csoportokon belül (I és II; III és IV; V tagjai).

### B) Sejtmozgás

Itt csak a sejtbioológiai vonatkozásokkal foglalkozunk, az izomszövet morfológiai tulajdonságai a tankönyvből (SzR) tanulandók meg. A rendszer bizonyos funkcióival a sejtalak, sejtkapcsolatok, ill. az osztódás kapcsán már foglalkoztunk. Aktin-miozin rendszer működésének tulajdonítanak szerepet az exo-, endocitózis egyes eseteiben, így pl. a szinaptikus vezikulák kiürülésében is. Az aktin-rendszer által kialakított 'ruffle'-nak is van szerepe az exo-, endocitózisban, pl. az osteoclastoknál.

A három fő mozgásforma:

- amőboid;
- csillós-ostoros;
- izommozgás (ez utóbbi kezdetleges példáját egyes egysejtűeknél is megtaláljuk: 'sejtizom')

A harántcsíkolt izom működése egy igen ősi, általános sejtmozgási formának igen magas szervezettségű evolúciós módosulata.

Vegyük észre a hasonlóságokat

- az izomműködésben és a csillós mozgásban: mindkettőben szerepelnek 'motoros' fehérjék;
- az izomműködésben és az amőboid mozgásban: mindkettőben aktin szerepel; valamint, hogy a sejtmozgásokban is szerepe van a sejtkapcsolatoknak, az intermedier filamentumoknak, és a citoskeleton-horgonyzó fehérjéknek (izomszövetben: dezmin, titin, nebulin). Különleges szerepében látjuk a sER-t (szarkoplazmatikus retikulum), valamint a

gap junction-t (elektromos szinapszis szívizomsejtek között). A szívizomsejtek közötti mechanikus összeköttetések részben 'fascia adherensek' (aktinkötők, a miofibrillumok végén), részben dezmoszómák (IF-kötő, a miofibrillumok közötti hézagok végén). Hasonló kapcsolatok vannak az izomnak az innál való végződésében (**myotendinális junctio**).

SbJ 155-168. old. megtanulandó, néhány kivétellel. A molekulasúlyokat elég nagyságrendben tudni. A troponinnak és a tropomiozinnak leírása (163. old. 2. bek.: „a két szál...”), elég annyi, hogy a tropomiozin köti a troponint az aktinhoz, a troponin pedig megköti a kalciumiont és közvetíti annak hatását, elsőségti az aktin és a miozin ideiglenes összekapcsolását. Ennek a 'sliding mechanizmus' lépcsőről-lépésre való leírásakor a 3. lépésben van jelentősége. Ezeket a lépéseket (1-5. a 165-166. oldalon, ill. a XII/11. ábrán), nem kell megtanulni (ld. majd: Biokémia!), csak elolvasni, és megérteni, hogy ez a már tanult 'miozin lépeget az aktinon', (134. old.) egy módosulása. Úgyszintén jegyezzük meg, hogy az izomelernyedéshez ATP jelenléte (de nem bomlása!) kell (ld. hullamerevség). Ld. még SzR 121-126. old. (csillók), ill. 256-266. old. (izom).

Hány aktin jut egy miozinra? Korántsem hat! A séma a 161. oldalon mutatja, hogy ugyanezt a rendszert az aktin 'szemével nézve' azok körül 3-3 miozin van. Tehát a valódi arány:  $\frac{6}{3} = 2$ , az aktin javára. A simaizomban ez az arány 10-12 a miozin javára, és a rendezettség kisebb.

Mi a 'miofibrillum'? Amit eredetileg a XIX. szd-ban leírtak, az valószínűleg, az akkori durvább fixálási eljárások miatt, az aktin és miozin fehérjék együttes kicsapódásából származó szálszerű műtermék volt. A mai 'izommodellben' aktin- és miozinfilamentumok egy összetartozó nyalábját értjük rajta az izomroston belül. A 'szarkomer' és az A,I, stb. sávok az egész izomrost szélességére kiterjednek, nem csak a miofibrilluméra, mint azt esetleg a 160. old. alján lévő szöveg alapján gondolnánk.