

# 26. II Metabolizmus és transport: metabolom kialakulása, metabolikus profil

proton → organelleum metabolikus lehetőségeit meghatározza  
metabolom → lokális enzimatikus aktivitás } együtt határozzák meg  
→ transzporterek

## Kompartimentáció előnyei:

- enzimet közel kerülhet, lokalizáció emeli a szubsztát-koncentrációt → hatékonyabb enzimatikus
- prekursor transzportja befele, szubsztát kiakciózódás kifelé transzportja → magas konc. (mitochondr. mátrixban a legmagasabb a NADH/NAD<sup>+</sup> arány) → term. ox. működéseinél kedvez.
- kedvező mikrokönyezet (pH, [kalcium], redoxpot.)
- membrán reakciókat közötti váltást is jelent  
↳ transzport gyakran sebességmeghatározó, szabályozott lépés

## Metabolikus profil

Egyes kompartmentumokban az IM anyagcsere meghatározott folyamatok járnak le.

Mitochondrium → a sejt „erőműve”, oxidatív energiatermeléssel járó folyamatok, citrát-ciklus, zsírsav  $\beta$ -oxidáció, oxidatív foszforiláció

Peroxisóma → olyan oxidatív folyamatokat katalizál, melyekhez ATP szintézise nem kapcsolódik

ER → anabolikus organelleum, exportra szánt molekulák!

Lizozóma → IC, EC - mátrixmolekulák katabolizmus

Citoplazma → anaerob energiatermelő folyamatok, bioszintetikus utak: glikolízis, glükóz direkt oxid., glikogén anyagcsere, zsírsav-, nukleotidszintézis

Organelleknek saját, saját jellemző  
proteommal és metabolommal rendelkeznek.

PROTEOM: adott időben és helyen kifejezett fehérjék összessége,

METABOLON: ————— " ————— kis molekulású metabolitok  
összessége

membránok felületét biztosítanak → enzimek  
enzim funkcionális láncok növekedését segítik  
- membrán transzport enzimszpecificitást biztosítanak

# A Mitochondrium funkciói, mitochondriális betegségek, mitochondriális DNS

Felnyitáskor látható, palackos v. gömb alakú organellesek.

- külső, belső membrán, membrántözi tér, mátrix alkotja
- belső membrán kriszták formájában behüremkedett  
↳ felületnövelés
- külső membránon pórusok
- belső zórt, csak transzporterekkel keresztül átjárható

MÁTRIX	BELSŐ M.	M. KÖZTITÉK	KÜLSŐ M.
magas feh. tartalom citált-citlus, β-oxidáció, vas-kén k. biogenezis, hem szintézis	fehérjegyordag term. oxidáció ox. foszforiláció fehérjéimpot, metab. transzport csatornái	fehérjében szereplő citokrom c, apoptotikus faktori, antioxidáns és redox enzimeket	pórusformáló fehérjék, apoptotikus faktori, proteínimport komplexei

Saját genetikai állománya: kétzártú cirkuláris **DNS**

2 riboz. RNS-t; 22 transfer RNS-t, 13 mitokondri. fehérjék kódol

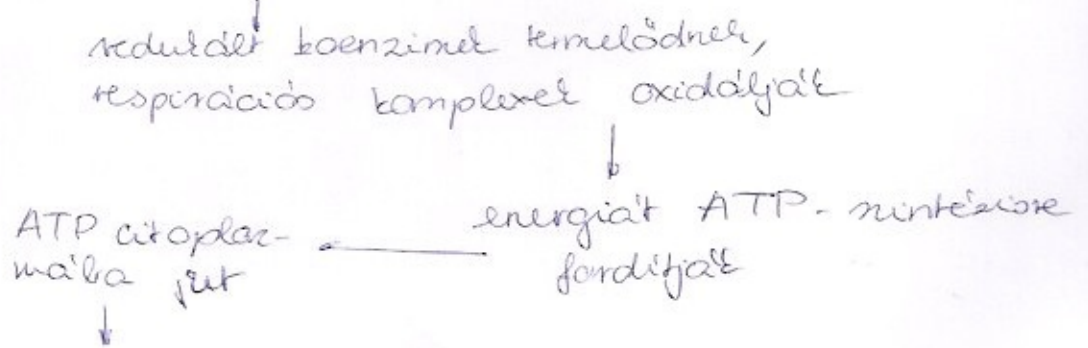
A többi fehérje a sejtmagban kódolt.

A DNS kevés nem-kódoló szekvenciát tartalmaz, a fehérjék kódolókban pedig minőséget intronot.

Genetikai kódja különbözik az univerzálisaktól

DNS + saját fehérje → NUKLEOID  
mátrix felé néző felszínhez kapcsolódik

Mitochondriumra van: saját fehérjefoldozó + proteolitikus apparátusa  
↓  
felhasználja: pinavat, zsírsavat, AS-akat



ATP-t használó enzimekhez jut

E folyamat sérülése: ATP-hiányhoz, sejtpusztuláshoz vezethet.

Belegységel csoportjai:

- nukleárisan kódolt és a transport útján bejutó enzimek genjeinek károsodása → ritkák!
- mitot. genomban kódolt fehérjék defektesa

Mit. genom → 16563 nukleotidpárból álló cirkuláris DNS-mol.

- ↳ nehéz lánc: sok guanint → 2 rRNS, 12 fehérje, 14 tRNS
- ↳ könnyű lánc: citozinban dúlt → 1 fehérje, 8 tRNS + kempalátja

mt.DNS replika'ója:

- RNS-szintézis mindkét láncról, az egész genomot tartalmazza, mit. ribonukleotid vagyis a tRNS-eket
- poli-A végét politranskripc. hozzáadása

Egyes kódot is mást kódolhat, mint a nukleáris genomlan.

A kódolt polipeptid → respirációs komplexet részei

Specialis jellemzők:

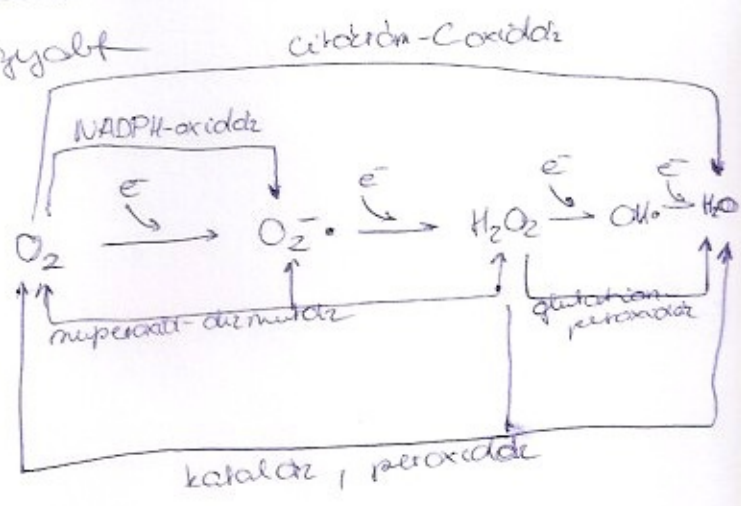
- 1) autonóm módon viselkedik
- 2) anyai ágon öröklődik
- 3) replikatíven segregálódik
- 4) kül. növeki érzékenység a mutációkra
- 5) evolúciós sebessége sokkal nagyobb

Belegységel

- **Mirszerm mutáció**  
egy adott AS helyett egy új AS jelenik meg  
↳ debr örökletes optikai-katódológiai neuropathiaiban (LHON) gyakori

- **Proteinszintézis mutáció**

MERRF szindróma, súlyos kln.-i zavarok  
MELAS szindróma



- inzeroids - delioids muta'idek
- Keams - Sayre - sindrome → nemm. ideg károsodásával
- mtDNA mennyiségével változhat az oldk  
haldlós újvilótti respir. sz.

# Mitochondrium

→ Rései:

1. Matrix (vibrál) vízfűző háló
2. belső membrán (+ kristalle) form. sz. a prof. csúcsra
3. intermembrán térsz. citoplazma rész csúcsra
4. külső membrán poliszolát alkotó felület

→ Főadata - ATP nagy → energiát

→ DNS:

- 2 másolat citoplazmában
  - 16 nukleon
  - 22 kóda + 22 kóda kóda
- |         |        |
|---------|--------|
| ↓       | ↓      |
| mtG     | mtC    |
| 12 gén  | 1 gén  |
| 2 rRNS  | ↓      |
| 14 tRNS | 8 tRNS |
- 1 regionális kóda (CO) is lehet
  - rRNS mutat mind 2 kódot

→ Fő. mint:

- primer kóda
- székelykóda (gyógyászati)

→ Genetikai kód: kódszótár a nukleotidok → csak a mit. kóda 2 kóda

→ Betegségek

- ← mitochondriális kóda (kóda)
- ← mitochondriális kóda

→ Respirációs lánc komplexek elrendezése: membrán

- I NADH dehidrogenáz
- II Succinat
- III Ubinkinon - citoplazma oxidoreuktáz
- IV citoplazma oxidáz
- V ATP szintézis → F<sub>1</sub>-F<sub>0</sub>

→ Kísérletek a nukleáris kódtól

- ① mt DNS elválasztás 1-2 sejttől a nukleáris
- ② ———— nagy mennyiségű nukleáris
- ③ ———— megfigyelhető azonos mértékben  $\leftarrow$  mutatja a mt DNS jelenlétét
- ④ kult. növényi szövetek nukleáris
- ⑤ Evolúciójának korszak 10 v. g. előtt

→ Mit. genom mutációk betegségei:

- Term. ex. *mitochondriale Lebererkrankung* (maladie)  $\rightarrow$  *mitochondriale*  $\leftarrow$  *genetisch* a *maladie*

① *Mitochondriale neuropathia*

→ *mitochondriale neuropathia* a *mitochondriale neuropathia*

- *Lebererkrankung* *mitochondriale neuropathia* (LHON)

*Lebererkrankung*

① *Lebererkrankung*  $\rightarrow$  *mitochondriale neuropathia*

② *Proteomutációk*

- *Lebererkrankung*  $\rightarrow$  *mitochondriale neuropathia*

- *Lebererkrankung* *mitochondriale neuropathia*  $\rightarrow$  *mitochondriale neuropathia*

- MELAS *mitochondriale neuropathia* *mitochondriale neuropathia* *mitochondriale neuropathia*

- MELAS, *mitochondriale neuropathia*, *mitochondriale neuropathia*, *mitochondriale neuropathia*, *mitochondriale neuropathia*

③ *Lebererkrankung - Lebererkrankung*

- *Lebererkrankung* - *Lebererkrankung*: *mitochondriale neuropathia*

④ *mitochondriale neuropathia* *mitochondriale neuropathia*

- *mitochondriale neuropathia* *mitochondriale neuropathia*

PEROXISOMA

- FM  $\phi$  lakkok
- 0,05-1  $\mu$ m
- Membran lakkok  $\rightarrow$  frakcionáltales (centrifugálással)
  - $\downarrow$
  - Rönggü mikroszkopikus frakció
- Májsejt H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-tartalék 2-5% -a
  - $\rightarrow$  1000 dt 1 sejten
- Fehérjék importálva,  $\phi$  szintézis
  - $\rightarrow$  endoszintrionta elv.
- ER-ből fejlődnek le
  - $\rightarrow$  mellékmembrán, így a fel. membránok továbbérintik
- Fehérjék N-terminális glikozilálva
- PEROXINOK: fel. importált fehérjék (ld. 2.10.16)
  - $\rightarrow$  ha működik  $\rightarrow$   $\phi$  PEROXISOMASZÁRVA
- Érési hely.: (citoplazma)

pre v

erős

erős

- néhány membránfel.
- nincs matrix

- importált, szintézis membránfel. tartalmaza

- ⊕ fel. import
- $\downarrow$
- membrán

$\downarrow$   
import

$\downarrow$   
⊕ elv. 1. biogénis membrán  
OSTRÓK!



- Peroxisomok:

PEX

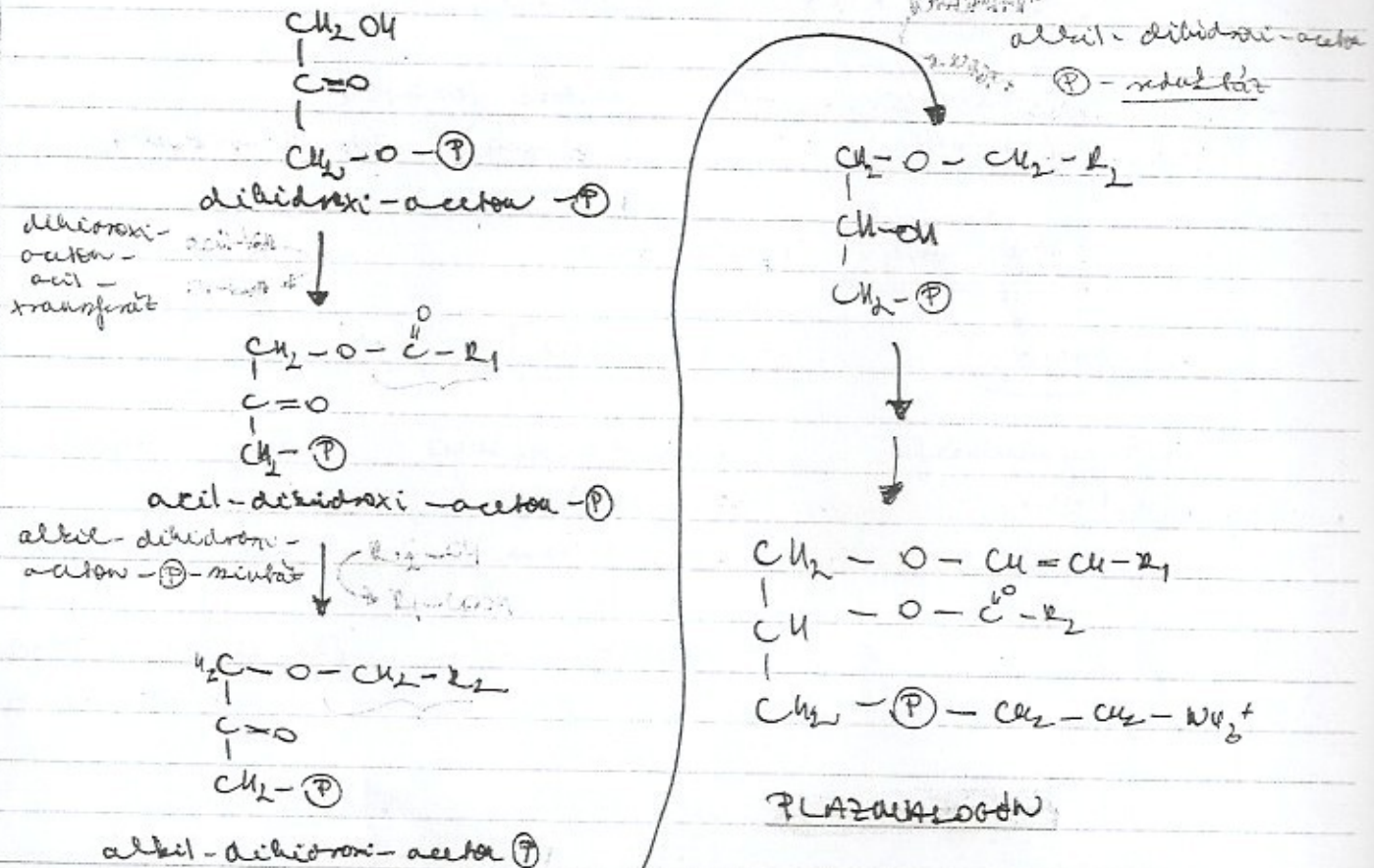
19: membrán jialalalósatos fell

↳  $\phi \rightarrow \phi$  peroxizóma

- 5: peroxizómális target meloenciálzat ismétel a fel-Éen
- 7: — " —
- 14: — den zótvádeez (bejuttatja a fel-Éet)

- Metabolikus utak: csak a peroxizómában

1. ETER LIPIDEK SINTÉZISE (membránalkotó)

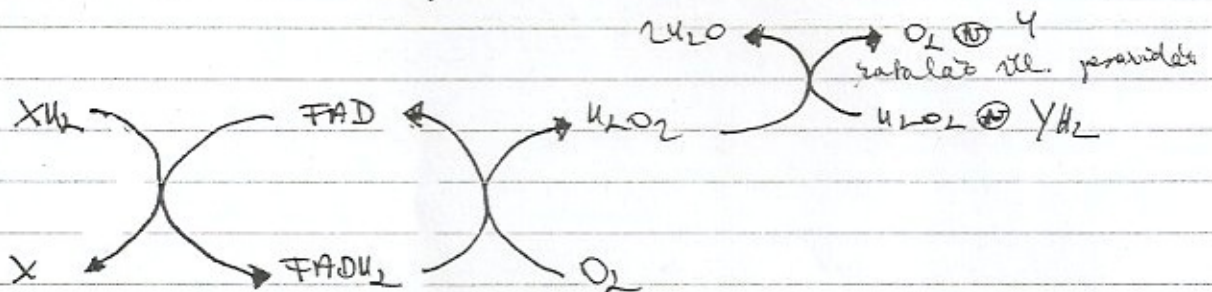


- nagyon hosszú C-láncú zsírsavak α ja
- zsírsavak < oxidációja ld. lent.

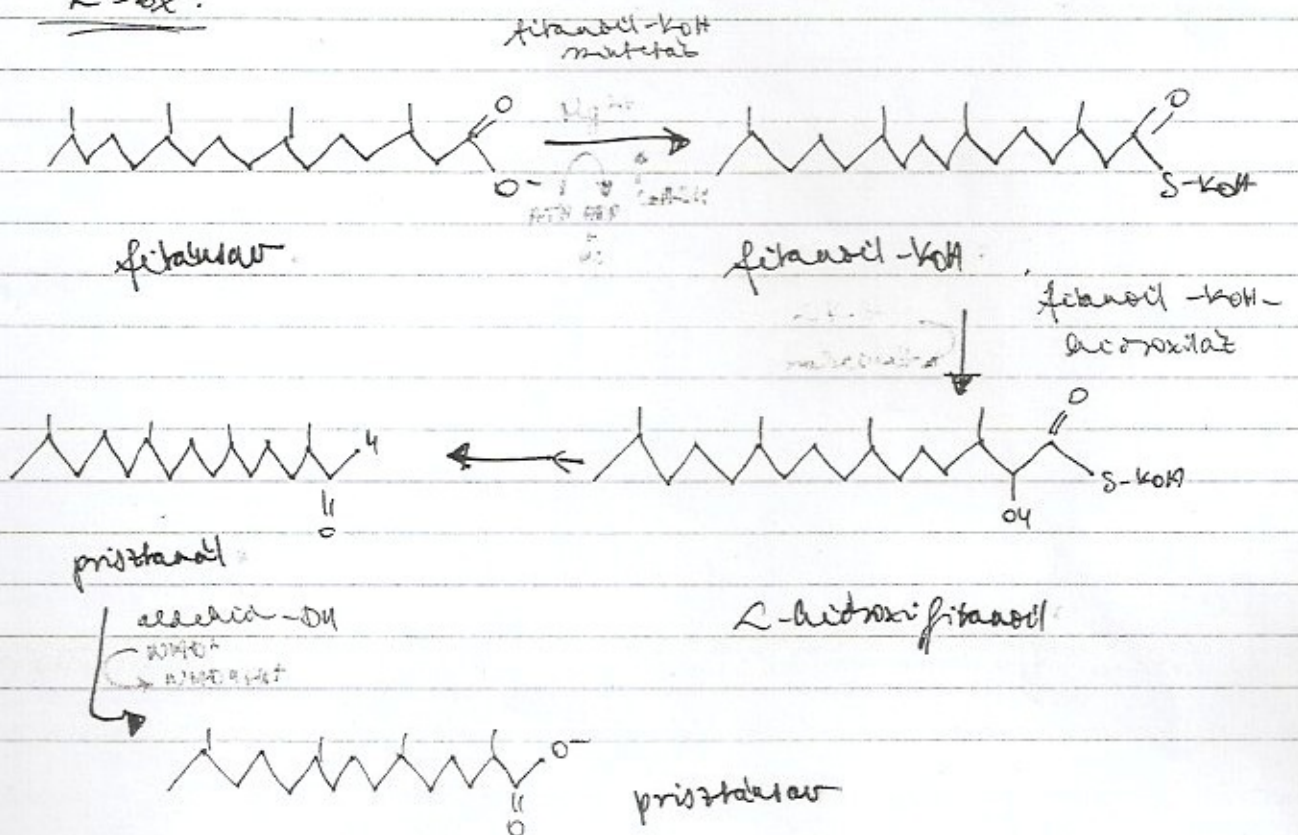
- jellemző mlg:
- koleszterin mint.
  - epetár ---
  - β ox.

- Első lépés a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> termelése folyamatosan
- φ dehidrogenáz, de még jobb
- E-termelés nélkül oxidál

↳ változtatja a redoxáló erőviszonyokat



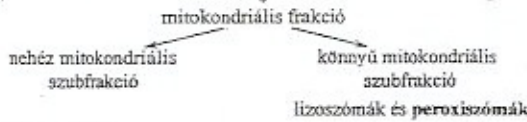
L-ox:



## A peroxiszómák jellemzői

### Peroxiszóma

- fénymikroszkóppal nem látható vezikula a citoplazmában
- felfedezés: biokémiai úton: *in vitro* vizsgálatok; egyes enzimek aktivitását a membránok integritásának megbontása növeli



De Duve, 1974  
orvosi Nobel-díj

### Más elnevezések:

- mikroperoxiszóma (kicsik),
- glioxiszóma (növények),
- microbody (élesztő és más gombák),
- glikszóma (*Trypanosoma*)

### Jellemzőik:

- Átmérő: 0,05–1 μm, májsejt térfogatának 2–3%-a, fehérjetartalma a sejtének 1–1,5%-a, átlagos májsejtben kb. 1000 peroxiszóma van
  - osztódásra képesek
  - fehérjéiket „importál” szerzik be eukarióta sejttel szimbiózisban éltek, genetikai anyaguk elveszett
  - számuk és méretük ugyanazon sejten belül is időben igen változatos
- meglévő peroxiszómák nőnek és osztódnak
- a vezikuláris transzport gátlószerei a peroxiszómák biogenezisét nem befolyásolják
- más vezikuláris organelumokból (pl. ER) lefűződnek
- ER mellett vannak,
  - fehérjeszekréció zavarai érintik a peroxiszómák képződését
  - fehérjék N- és O-glikoziláltak
  - peroxinok mutációja → peroxiszómális fehérjék retenciója az ER-ban

## A peroxiszómák jellemzői

### A peroxiszóma érése

preperoxiszóma: kis vezikula néhány membránfehérjével, mátrixban

éretlen peroxiszóma: mátrixfehérjék importjához szükséges membránfehérjéket mind tartalmazza

mátrixfehérjék szintézise szabad riboszómákon, import.

érett peroxiszóma, ami további fehérjeimporttal és membránszintézissel tovább növekszik és osztódik

Peroxinok: fehérjék importjához szükséges fehérjék mutációik esetén nincsenek peroxiszómák (vagy ghostok)

- Pex19*: membrán kialakulásához kell – hiányában nincs peroxiszóma

### Fehérjeimport

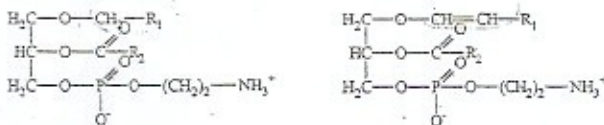
- szintézis a citoplazmában *irányítószekvenciával*
  - PTS1 (peroxisomai targeting signal): S-K-L-COOH (1 lehet más)
  - PTS2: NH<sub>2</sub>-R/K-L/V/L-X-X-X-X-H/E-L/A
- Pex5* a PTS1-et, *Pex7* a PTS2-t felismeri és megkötö a citoplazmában
- transzport a peroxiszómához (nem tudni, pontosan hogy)
- Pex14*-hez kötődik mind a *Pex5*, mind a *Pex7*
- egyéb peroxinok segítségével nem pontosan ismert ATP-függő módon a fehérjék bejutnak, a szabadbá vált *Pex5* és *Pex7* meg visszamegy szemben a mitokondriális transzporttal: nagy, oligomer natív fehérjék transzportja is lehetséges

## Metabolikus utak a peroxiszómákban

### Csak a peroxiszómában

- éter lipidék szintézise (betegségek tüneteit főleg ennek hiánya okozza)
- „nagyon hosszú szénláncú zsírsavak” (VLCFA) oxidációja, (>22)
- zsírsavak α-oxidációja

peroxiszóma nélkül nem lehet élni

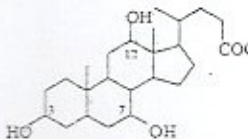
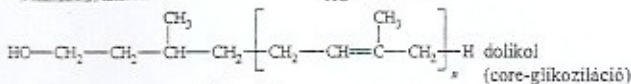


plazmanil-etanolamin

plazmenil-etanolamin

### Mennyiségileg igen jelentős

- zsírsav β-oxidáció (az összes akár 50%-a),
- koleszterin szintézis,
- dolikol szintézis,
- epesav szintézis



- 3, 7, 12: kólsav
- 3, 7: kenodezoxi-kólsav
- 3, 12: dezoxikólsav
- 3: litokólsav

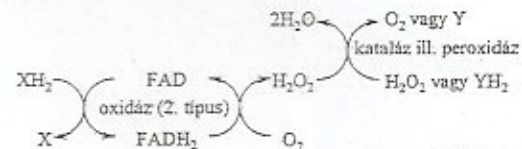
- oxidázok és a kataláz működéséhez kötött e<sup>-</sup>-transzfer – O<sub>2</sub>-fogyasztás akár 20%-a
- egyéb reakcióutak, melyek máshol is megvannak – nem életfontosságúak

## Metabolikus utak a peroxiszómákban

### Miért jó a peroxiszómális funkciókat elkülöníteni külön organelumba?

- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ot termelő – sejt számára potenciálisan veszélyes – folyamatok a citoplazmától el vannak különítve
- ugyanakkor: e reakciók nem életfontosságúak, mert van H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> képződéssel nem járó alternatívájuk
- peroxiszómális oxidázok: redukáló ekvivalensek felhasználása energiatárolás – ATP-szintézis – nélkül → védekezés a tápanyaghiány ellen („reduktív stressz”) ellen

- kompartmentalizáció + peroxiszómális membrántranszport szabályozása: energiatárolással ill. anélkül járó lebontás közötti arány. változtatásának lehetősége



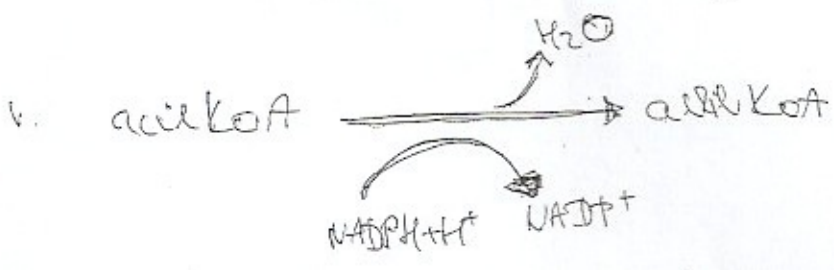
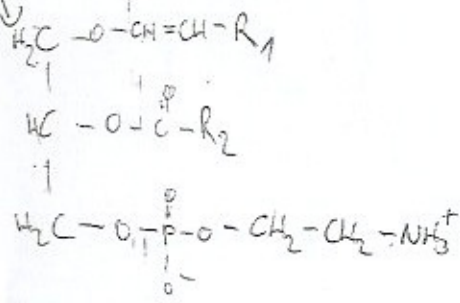
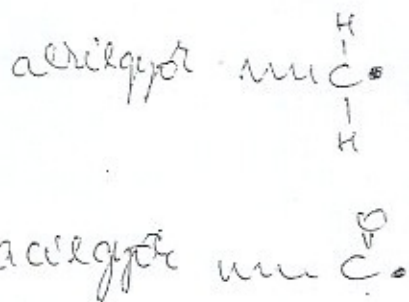
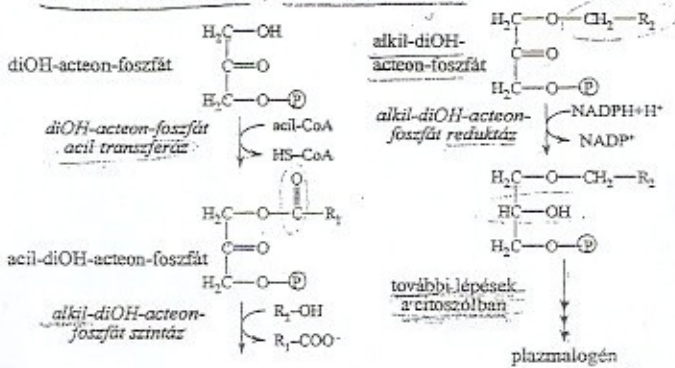
sem szubsztrát szintű, sem oxidatív foszforiláció nincs, az E hővé alakul

21.

Metabolikus utak a peroxiszómákban

Éterlipidek szintézise

- reakcióút 3 enzime a peroxiszóma integráns membránfehérjéje, 1. és 2. aktív centruma intraluminalis, 3-6 a citoszól felé néz



Metabolikus utak a peroxiszómákban

Peroxiszómális eredetű kórképek:

Valamely enzim génjének mutációja

- egyetlen reakcióút zavart, általában többé-kevésbé enyhe lefolyású kórképek
- pl.: Refsum-kór
  - fitanoil-CoA hidroxiláz hiánya: fitánsav  $\alpha$ -hidroxilációval nem tud lebomlani
  - szövetekben, serumban főlhalmozódik  $\rightarrow$  retinitis pigmentosa, cerebellaris ataxia, perifériás neuropathia és más neurol. kórképek
  - th.: fitánsav (azaz tejtermékek és hús) bevitelének megszorítása

A peroxiszóma biogenezisében szerepet játszó fehérje génjének mutációja

- valamennyi peroxiszómális funkció károsodott  $\rightarrow$  többnyire igen rossz kimenetelűek
- pl.: Zellweger-kór
  - Pex5 mutációja, AR öröklődik, gyakoriság: 1:25000-1:50000
  - működőképes peroxiszómák teljes hiánya  $\rightarrow$  éterlipidek hiányoznak, VLCFA-ak főlhalmozódnak, fitánsav főlhalmozódik
  - klinikai tünetek már csecsemőkorban: fejlődési visszamaradottság, arc-és agykoponya deformitások, hepatomegalia, veseciszták, izomtónus csökkenése

# III./21. Citoszkeleton felépítése, MF, aktinotóka fel., MT, IF sejt-specifikitása ...

## CITOSZKELETON

- eukarióta sejtben
- $\emptyset$  képez kompartmentumot
- dinamikusan szerveződik

### Feladat:

sejt alakja, sejtmozgás, metabolizmus, jelátvitel, IC transport, sejtösszettség

3 típus alkotja: mikrofilamentumok, intermediér filamentumok, mikrovezikulumok

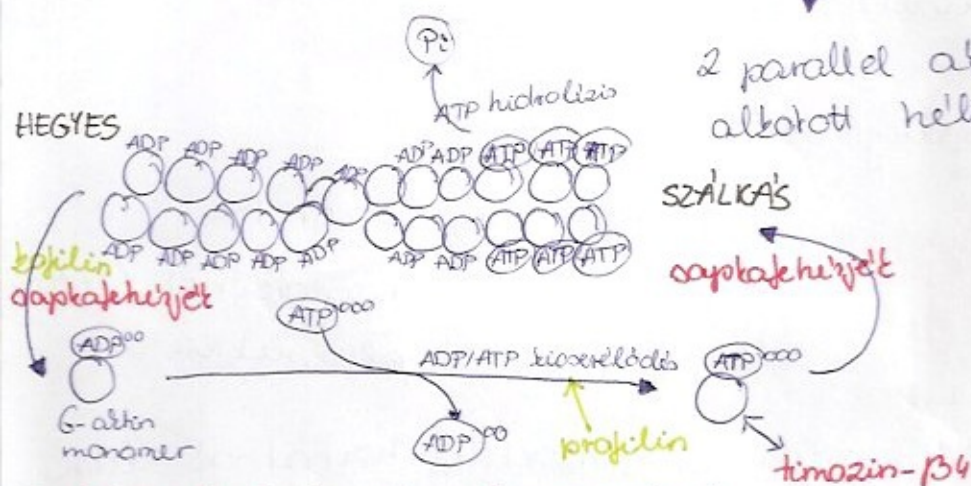
## Mikrofilamentumok/aktin filamentumok

- feladata: sejt alakjának fenntartása, sejtelfogat állandósága, alakváltoztatás, sejt-sejt kapcsolatok
- főleg a PM alatt koncentrálnak
- $d = 6 \text{ nm}$ , 2 aktin-láncból állnak

**AKTIN** - 6 izoforma  $\rightarrow$  4 izomsejtben  
 $\rightarrow$  2 ubikviter

itt főleg  $\beta$ -aktin  $\rightarrow$  fibrilláris F-aktin fej-nyak polimerizáció (G és F forma) val filamentumok

2 párhuzamos aktin lánc által alkotott helix



## Polimerizáció - depolimerizáció:

- megképződés: 3 G-aktin monomer  $\rightarrow$  spontán trimer + FH2 dimerek (formin)
- ATP-aktin kapcsolódik, majd hidrolizál
- ADP-aktin lassan disszociál (kopfilinnel gyorsítható) monomerelel mozgásait saptafehérvék gátolják!

**szabályozás:** sejt jelátviteli mechanizmusai  
citoszkeleton a fehérjéket a R- $\alpha$  mellett  
lokalizálja  $\rightarrow$  gyors, pontos sejtválasz

Aktin monomer készletet fenn kell tartani:

- **cofilin** - filamentum fragmentáció, aktin monomereket felszabadulába
- **profilin** - ATP-aktin képződés
- **timozin- $\beta_4$**  - polimerizáció gátlója, ATP-aktint 1:1 arányban köti
- **Arp2/3 komplex** - új filamentum magjának képződése, elágazó hálózat

Filamentumokból kialakuló szerkezetek:

aktin-kötő fehérjék felelnek (pl:  $\alpha$ -aktinin, faszain, filamin, fimbrin, villin)

## Intermediér filamentumok

- feladat: sejt alakja, sejtelifogat szabályozása, sejt-sejt kapcsolat
- diffúzabb eloszlás  $\rightarrow$  nukleáris lamina a maghátya alatt
- fibrilláris monomereket polimerizációjával alakulnak ki

↓  
2 parallel elrendezésben  
kettős hélixet (dimer)

↓  
2 dimer antiparallel irányban  
tetramert

↓  
protofilamentumok

↓  
protofibrilleumok

↓  
IF;  $d = 10$  nm, 32 lánc

végsős szerkezet:

int. fil. asszociált proteinek (IFAP)  
alakítják ki pl: plektin

Kölcsönhatásukat hathatónak lehetne  
a MF-kal, MT-akkal is

- Nem polárisak, de stabilabbak a MF-eknél,  
széles foszforiláció hatáskörrel szerelődnek
- motorok nem kapcsolódhatnak

A homo-, v. heteropolimeret alegységei specifikusak:

- **vimentin** - mesenchimális sejtekben
- **neurofilamentum** - IR
- **keratin** - epithelsejtek
- **lamin** - sejtmag

## Mikrotubulusok

- feladat: IC anyagállítás, mitotikus orsó létrehozása, csillók, astorok mozgása
- rigidek, de dinamikusak  
d = 23 nm, 15 nm-es lumen átmérő
- **tubulin** alegységet polimerjei  
↳  $\alpha$ - és  $\beta$ -tubulin dimerjei  
↓  
a protofilamentumból 13 hozza létre a csőcsőke falát
- polarizáltak, az alegységet felváltva, párhuzamosan rendeződnek el (- és + vég)
- - vég a **centroszómához** kapcsolódik (mikrot. szerv. központ) MTOC  
↓  
2 centroszóm + pericentriális mátrix  
↓  
9 mikrotubulus-triplet képezi      N-tubulin, a - véget köti
- **dinamikus instabilitás** - polimerizáció hirtelen átmeny depolimerizációba  
tubulin-dimer GTP-t köt → polimerizáció után hidrolizál → erős tubulin-tubulin kötés  
Ha a polimerizáció gyorsabb, mint a hidrolízis  
ilyenkor + végén GTP-sapka! ↳ **NÖVEKEDÉS**  
Ha nem → **depolimerizációs katasztrófa**

A folyamata sebessége: MAP-októl függ (mikrotub. assz. protein)  
pl.: MAP1, 2, tau - stabilizálják a mikrotubulusokat

- **colchicin** - befagyasztja a dinam. instabilitást
- **nocodazol** - polimerizációt gátol
- **taxol** - stabilizálja a mikrotubulusokat, gátolja a mitózist, citosztatikum

## Citoskelettel és membránnal kapcsolódása

- feladat: lehangonyozás, nő a sejt ellenállása, vezikuláris transzport pályái
- aktin mikrofilamentumok az adhéziós molekulákkal kapcsolódnak
  - ↓
  - TM fehérjék, a citoskelettel és egy másik sejt adhéziós molekulájával vagy EC matrix makromolekuláival kapcsolódnak
- pl.: kadherin, szelektin, CAM, integrin
- **spektin** - ut-ebben a szerkezeti alapja a kapcsolatnak,  $\alpha$  és  $\beta$  alegységekből álló tetramer
- **ankirin** - spektin-aktin hálózatot köti a membrán band 3 fehérjéjéhez
- **protein 4.1** - spektin-aktint a glikoforin TM-fehérjéhez

Stresszfilamentumok (aktin MF kötegei) a PM transzmembrán integrin fehérjékhez kapcsolódnak

↓  
EC mátrixmal kapcsolat

$\alpha$ -aktinin általi keresztlötésel tartják össze őket  
+ kell: talin, vinculin is!

- Aktin citoskelettel a **zonula adherens** is kapcsolódik (kadherin fehérjéivel)
  - ↳ TM fehérjék, EC doménnal, DXD, DXNDN szekvenciák jelezőek a Ca-függő adhézióért

A citoplazmái C-term. doménhez katenin köti az F-aktint



# KONTRAKTILIS RENDSZER

Izomtípusok közös tulajdonsága:

miozin és aktin együttműködése

Aktinmonomerekből

↳ polimer, fibrosus **F**-aktin keletkezik

- olyan doménet, melyet a miozintfehez tudnak kötödni
- az izom vastag filamentumait képezik

Miozint → II. típusú miozincsaládba

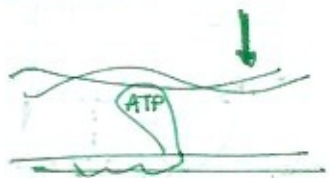
- 2 azonos nehéz lánc alegység
- mindegyiken globuláris fej + farokrészt
- további könnyű láncok csatlakoznak
- „vagy a fejhez” kötegekbe rendeződnek
- túlszimmetrikus vastag filamentumot képezhetnek



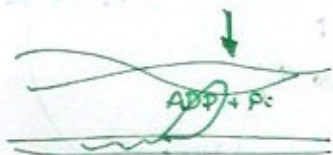
- miozintfejen:
  - 1) aktinkötő domén
  - 2) ATP-áz
  - 3) fej flexibilisen illeszkedik a nichoz (45°-90°)



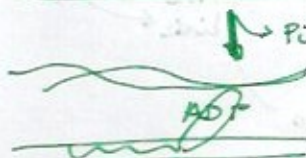
→ rigor konfiguráció



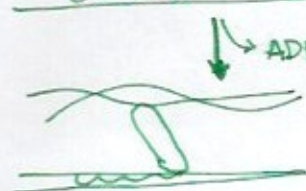
→ ATP kapcsolódik, kórist eltávolodik a fej



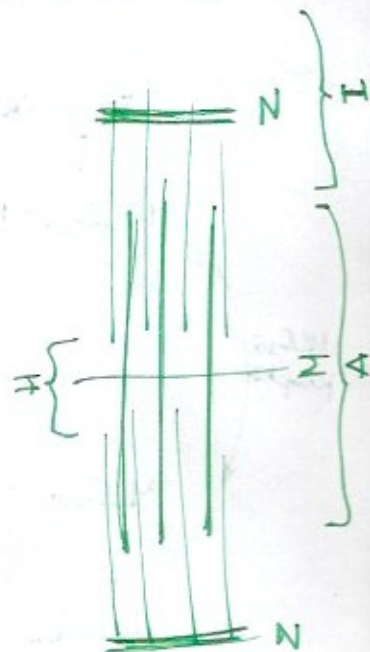
→ ATP hidrolizálódik, megváltozik a fej helyzete



→ A fej rögzül az új helyzetében



→ ADP leválik, rigor állapot



# VAZIZOM

veleány filamentumok:

Troponin + tropomyozin + tropomiosin

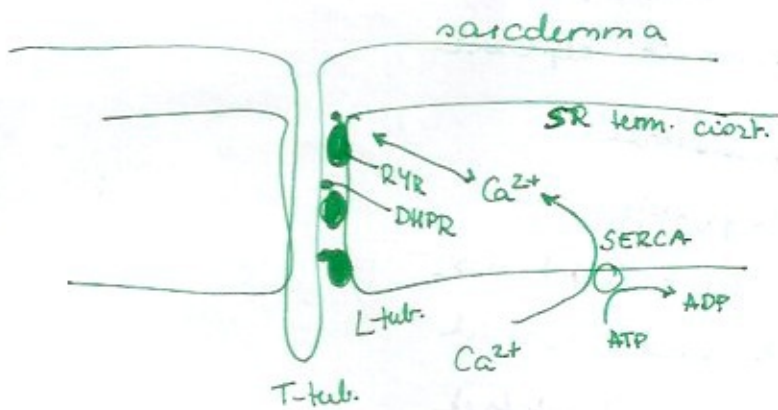
regulátor fehérjék

lefedik a miozintető doméneket

- tropomyozinhoz kötődik,
- $Ca^{2+}$ -t köt

így elhúzza a tropomyozint

KERESZTHIDRIZIKUS



2 terminális ciszterna + T-tubulus  
TRIAD

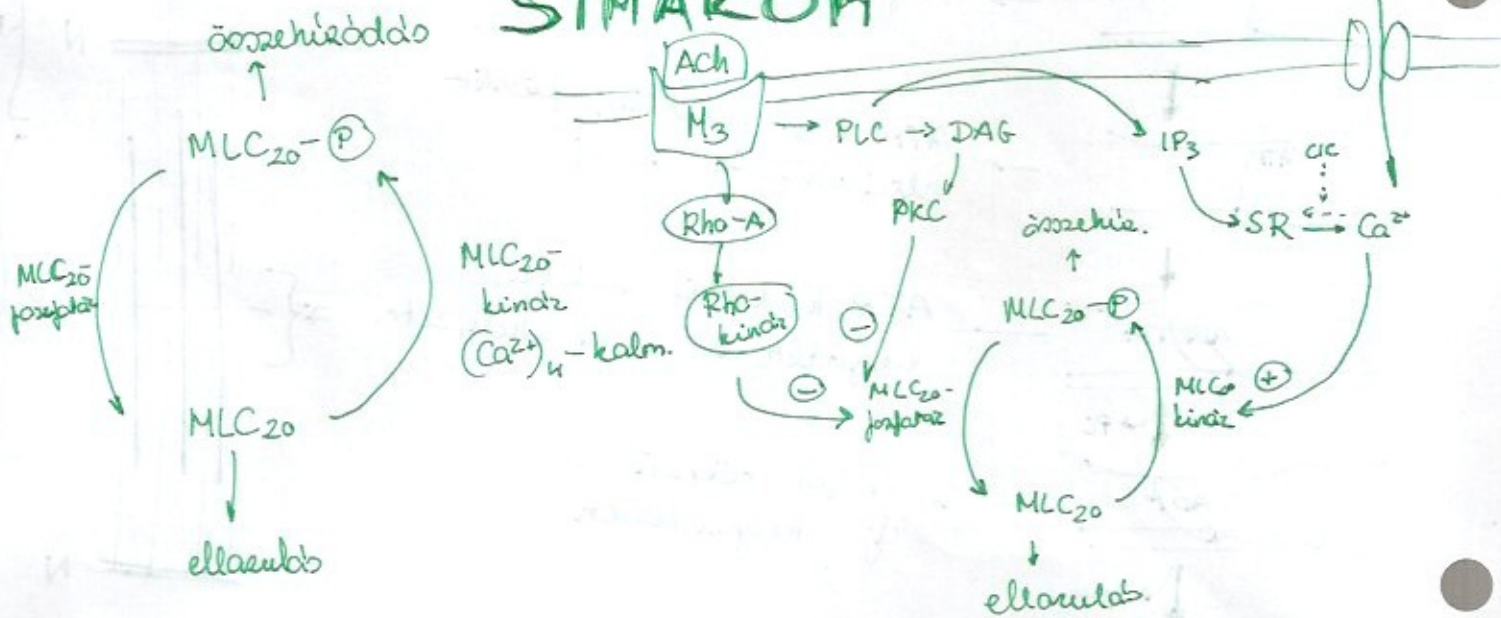
AP → DHPR feszültség szenzor → RYR  $Ca^{2+}$ -csapás nyílik →  $[Ca^{2+}] \uparrow$  → kontrakció

∅ kell EC  $Ca^{2+}$ -beáramlás!

eltávolítás:

- $Ca^{2+}$  ATPáz — SERCA

# SIMAZOM



# III. / 24. | Orgonellum - bioszintézis

Többféle elmélet:

- 1) de novo szintézis - genetikai kód szerint szintetizálódnak a fehérjék, lipidek → lassú, elő szerkezeten valószínűtlen
- 2) templát (létező orgonellum v. töredék) szükséges a szintézishez

## MITOKONDRIUM

- konstitutív biogenezis

interfazisban a méret nő, majd osztódnak, ahogyan egyszer osztódáshoz GTPáz aktiválódni, polimerizációra képes fehérjék kellene

↳ külső membrán fehérjével:

spirális kontraktilis szerkezet alkot

↓  
összeszomítja a mitokondriumot

↓  
hasadós

- indukálható biogenezis

↳ hipoxia, mitokondriális betegségek esetén pl.

mitokondrium - sejtmag közötti jelátvitel aktiválódhat, mitokondriális fehérjék expressziója ↑

- funkcióképtelen / túl sok mitokondrium eltávolítása

- legfontosabb mitokondriumcélú folyamat az autofágia
- aprai mitokondriumokat az ubiquitin - proteasóma rendszer semmisíti meg → csak anyagok maradnak!

## ER, MAGMEMBRÁN

A sejtosztódáshoz az ER egy része mindig átjut → templát

- növekedéskor a tubuláris - retikuláris elrendeződést retikulon fehérjék alakítják ki (integráns membrán fehérjék) in vitro is képesek létrehozni a szerkezetet!
- atlaszin fehérjék (GTPázok dinamin családja) elágazási pontokat hoznak létre → retikulonhoz kapcsolódva segíti a membránfiziót

- **kinezin-1** és receptora a **kinektin** megnyílja a membránt

**Nyitott mitózis** → magmembrán feltöredezik,  
(mikrotubulusok és lineák vesznek részt benne)  
ER átrendeződik

magmembrán fragmentumai eltűnnek, a mikrotubulusok elvont a kromoszómákat → szétválnak

ER megszűnik a környezettel között

↓  
újra rendeződik a szerkezet a telofázisban

a magmembrán belső felületén nagy DNS-affinitású fehérjék → kapcsolatot létesítenek a kromatinnal

↓  
ciszternális szerkezet alakul ki

**karlómer** képződés: magmembrán különálló kromoszómák körül alakul ki

↓  
DNS-replikációra is képesek

↓  
egységes sejtmagga' alakulnak össze

**mikronukleusz**: tumorokban található, többszörös sejtmag kromoszómaterés vagy defektív mitózis torza

## GOLGI-APPARATUS

ER és Golgi között kétféle irányú anyagforgalom mérete szigorúan állandó

↳ szabályozott lépés, új Golgi enzimet szintézise és exportja

## LIZOSZÓMA

- **érési modell**: korai endoszóma + PM-ből származó vezikulumok egyesülésével és érésével

- **vezikuláris transzport modell**: korai, késői endoszóma, lizoszóma állandó kompartmentumok, közöttük vezikulumok biztosítják az anyagforgalmat

- „**kiss-and-run**”: párusképződéssel járó fizikus epizódok hozták létre a kapcsolatot a késői endoszóma és a lizoszóma között

# PEROXISZÓMA

- osztódásra képesek, mátrix fehérjéiket másodlagosan szerzik be
- számuk és méretük változatos lehet
- membránok nem szintetizálódhatnak de novo (!), így 2 lehetőség van:

1) meglévő peroxiszómákból

2) más vezikuláris organellekből

mellette ált.: ER szomszédságában helyezkednek el, számos peroxiszóma-fehérje N-, vagy O-glikozilált, fehérjesszérelció zavarai ezt is érinthetik  
ellenesről: vezikuláris transport gátlószerei nem befolyásolják a biogenezisüket

**PEX-gének**: a biogenezisben szerepet játszó gének

↓  
peroxinokat kódolnak

↳ peroxiszomális membrán kialakulásához (Pex19p, Pex16p, Pex3p) fehérjék importjához szükségesek

Mutációjuk esetén elhínkhatnak a peroxinómak

Az újonnan képződött fehérjéket meglévő peroxinómak veszik fel → méretük folyamatosan nő

↓  
a kritikus méretet elérve

hasadnak (peroxinok; dinaminszerű fehérjék vesznek részt benne)

**PEX-gének zavarai**: peroxiszóma biogenezis zavarához

vezetnek:

(ált. PEX1 mutáció → AAA ATP-át kódol)

3 körkép:

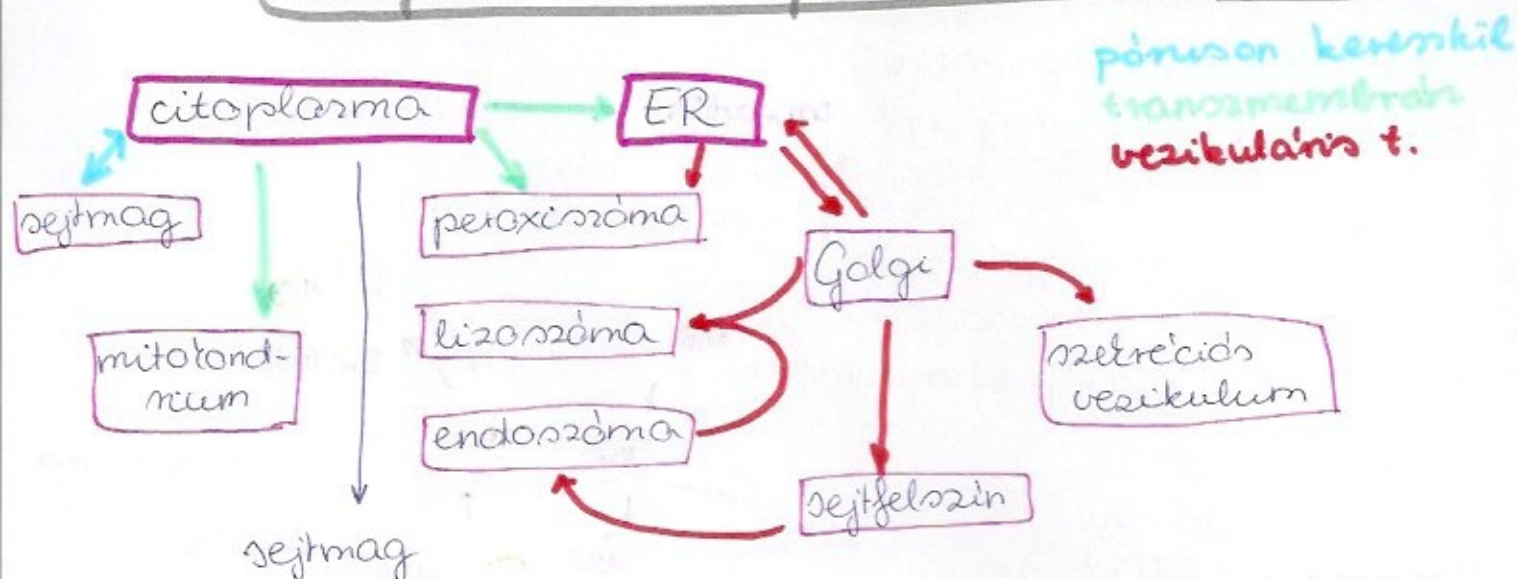
- Zellweger-szindróma (ZS)
- neonatális adrenoleukodisztrófia (NALD)
- osteosomóni Refsum-kór (IRD)

funkcióképes peroxiszómak teljes hiánya, plasmalogen-hiány, hosszú láncú zsírsavat felhalmozódása

Jellemző tünetek:

fejlődési visszamaradottság, koponyadeformitások, szemhinetel,  
hepatomegalia, veseciszták, izomtrópus csökkenése

# III. /25. Fehérjeimport mechanizmusa: a sejt- magban és a peroxiszómában



Fehérjek általában csak a citoplazmában képződnek (+ DER, mitochondrium)

Az organelumok sajátos proteommal rendelkeznek  
↳ fehérjéket el kell jutniuk a rendeltetési helyükre

- A jel a polipeptidláncon belüli szekvencia, vagy a fehérjetekeedésnél egymás mellett kerülő AS oldalláncok (szignál plet)
- célorganelumban lévő R ismeri fel
- az import TM, vezikuláris v. magpóruson keresztül transzporttal történik
- energiaigényes a transzport (mert vertonialis)
- csak a célorganelumban vessz fel végleges, natív szerkezetét

## SEJTMAG

- Magmembrán nagyméretű pórusain szabadon áramolhatnak macromolekulák
- Fehérjeforgalmat kell egyirányítani!
- > 40 kDa aktív transzporttal, hordozófehérjék segítségével energiát a GTP hidrolízisének energiája szolgáltatja
- A sejtmagi fehérjék jelet tartalmaznak: **NLS** - nukleáris lokalizációs szignál
- 2 lakus AS csoportot 10 AS-nyi szaraz választ el egymástól

polipeptidokban belsőjeiben van,  
nem hasad le cellabörtékés után

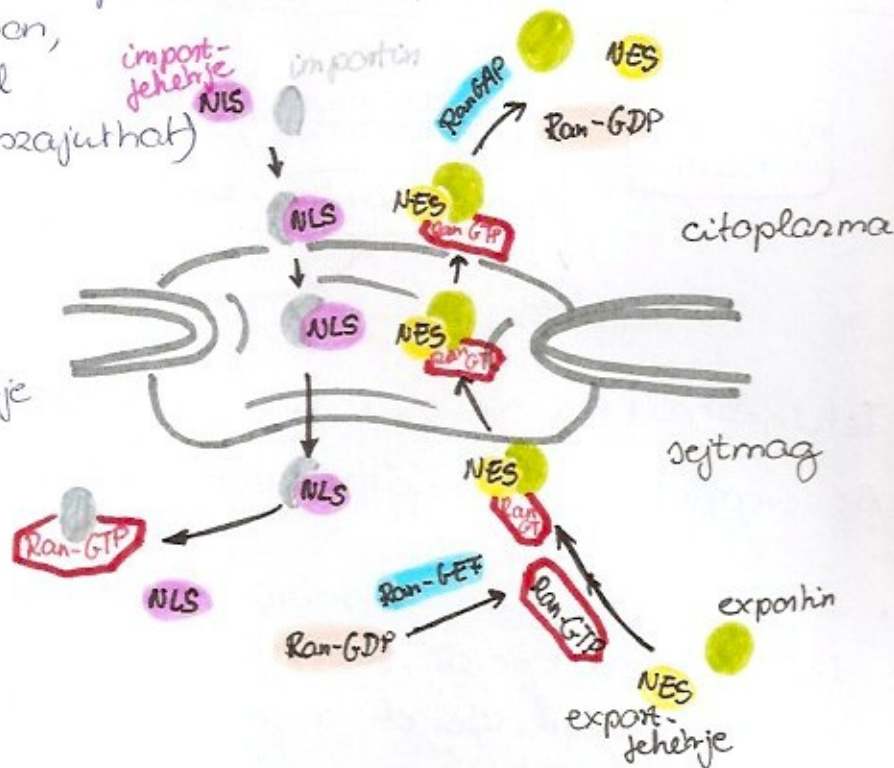
↓  
fehérjéket a citoplazmában  
hordozófehérje köti meg; pl: **importin** → heterodimer

α - NLS + köt  
β - stabilizál, fibrillumhoz köt

↓  
a komplex átjut a maggáron,  
Ran-GTP hatására disszociál  
(Ran-GTP, hordozófehérje visszajuthat)

↓  
Ran-GTP GAP hatására  
hidralizálja a GTP-t a  
citoplazmában, hordozófehérje  
felszabadul, Ran-GDP  
visszajut a magba

↓  
GEF a magban kicseréli  
a Ran-GDP GDP-jét GTP-re



- NLS-t nem tartalmazó fehérjék általában Phe-Gly szekvenciát tartalmazó nukleoporinok gátolják, és elősegítik a hordozófehérjék mozgását

Exportálható fehérjék **NES-t**, nukleáris export szignált tartalmaznak  
↳ hidrofób belső szekvencia

exportinok (hordozó) és a Ran-GTP is szerepet játszik benne  
A Ran-GTP itt stabilizálja az exportin - NES komplexet, a citoplazmában majd GAP hatására disszociál.

## PEROXISZÓMA - érett fehérjék importja

Peroxinok a peroxisomális fehérjék importjához is szükségesek.  
A kódoló gének a sejtmagban találhatóak, a fehérjék szabad riboszómákon szintetizálódnak a citoplazmában, transzláció után kerülnek a peroxiszómaiba.



Specifikus jel juttatja célba őket:

**PTS1** - C-terminális tripeptid Ser-Arg-Leu (SKL) - szekvenciával  
90%-ban ez található

**PTS2** - N-term.hoz közeli nonapeptid szekvencia ált. proteolízisen megy át a mátrixban

A fehérjefelvitel több lépésből áll:

- szignálszekvenciát citoplazmai szolubilis R-ök ismerik fel
- Pex5p fehérje két isoformája felismeri, közi a PTS1-et
- Pex7p a PTS2-t  $\longrightarrow$  a kapcsolódást a kajtafehérjék közreműködésével történik
- a komplexet a peroxiszómához uándarolnak, a membrán külső felületén horgonyoznak le
- a membrán integráns fehérjéi ATP-függő módon segítik elő az importot
- itt lehetséges natív fehérjék, sőt, fehérje oligomereket transzportja is

A fehérjék beépüléséhez is peroxint szükséges.

Már az ER-ben beépülhetnek a membránba, és vesikulákkal juthatnak a peroxiszómaiba.

Pex7p-defektus: izomériás kondrodiszplázia punktata

elégard szénhidrát zsírsavat lebontása és a plazma-  
logén bronzintézis kérossodik

# III. /26. Fehérjeimport mechanizmusa a lizoszómaiban és a mitokondriumokban

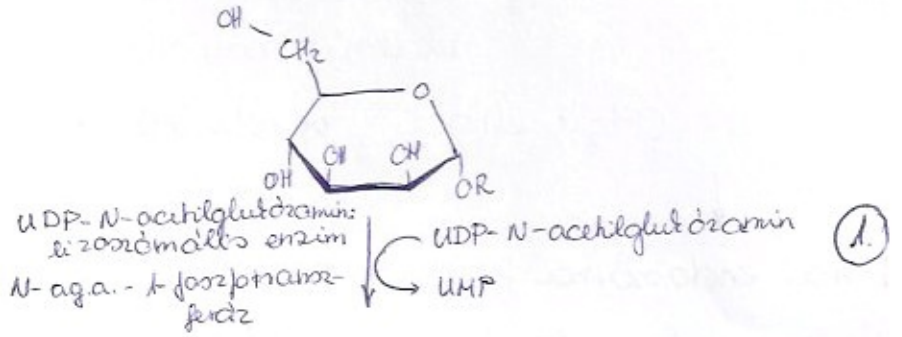
## LIZOSZÓMA

Az enzimeket az ER felszínehez csatlakozó riboszómaiban szintetizálják

↓ vesikuláris transporttal

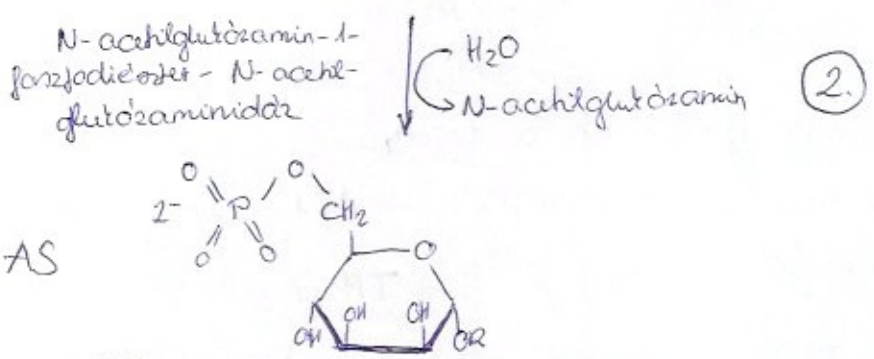
Golgi-apparátusba

**cisz-Golgi**ban foszforiláció:  
mannóz-6-P



1) a módosított fehérjék már mindenképpen a lizoszómaiba kerülnek, a specificitást a jelölt biztosítja

↳ egymás mellett kerülő AS oldalláncok



**transz-Golgi**ban a mannóz-6-P receptorok (MPR) kötik a MGP-ot tartalmazó fehérjéket.

Ennek feltétele a semleges, vagy enyhén savas pH-jü környezet.

**MPR** - foszforilált szénhidrátot kötő (R típusú) lektinek közé tartozó integráls membrán-fehérjék.

Megtalálható: transz-Golgi, korai, késői, visszatérő endoszóma, plazmamembrán, DE:



**ER**  
szintézis, glikozilálás, jelölt

↳ a receptor ezek között várandó, a citoszolikus domén szignál szekvenciái határozzák meg az útvonalat

A liszoszomális enzim-MPR komplexet **AP1**-t tartalmazó, **klatinnal** fedett vezikulumokban hagyják el a transz-Golgit

Az MPR **dileucin** motívumot tartalmaz, ezt **GGA**-fehérjék ismerik fel

ezek VHS-doménje (USGAS) és GTP-t kötő ADP-riboszilátsós faktor szükséges a kapcsolódáshoz klatrin kötésére is képesek!

A transz-Golgit elhagyó vezikulumok megvalónak a klatrin-burkolattól

↓  
**korai endoszóma** felé vándorolnak, egybeolvadnak vele felismerésben és fizióban **SNARE** fehérjék vesznek részt az érés során folyamatosan csökken a pH

↓  
M6P-tartalmú liszoszomális fehérje és az MPR elválik

MPR visszakerülhet a transz-Golgiába:

- korai endoszómából - **AP1**-tart. klatinnal fedett vezikulumokban
- késői - - - - - **TIP47** fehérje segítségével

↳ a hidrolázok a kiss-and-run modelle révén kerülnek át a liszoszómaiba

Az MPR vezikuláris transzporttal eljuthat a **plazmamembránig**

↓  
ott M6P-tartalmú ligandokat és más fehérjéket köthet

↓  
**AP2**-tart. klatinnal fedett vezikulumok révén internalizálódnak

→ végállomás a **korai endoszóma**

A M6P-jel nem az egyedüli lehetőség (pl. a savas foszfátok, glükocerebrozidok sosem tartalmazza)

1-sejt betegség: (mukopoliszidózis II.)

hiányzik az N-acetilglukozamin-1-foszfo-transferáz aktivitás, így a mannóz alegységek szétretalálódnak.

# MITOKONDRION

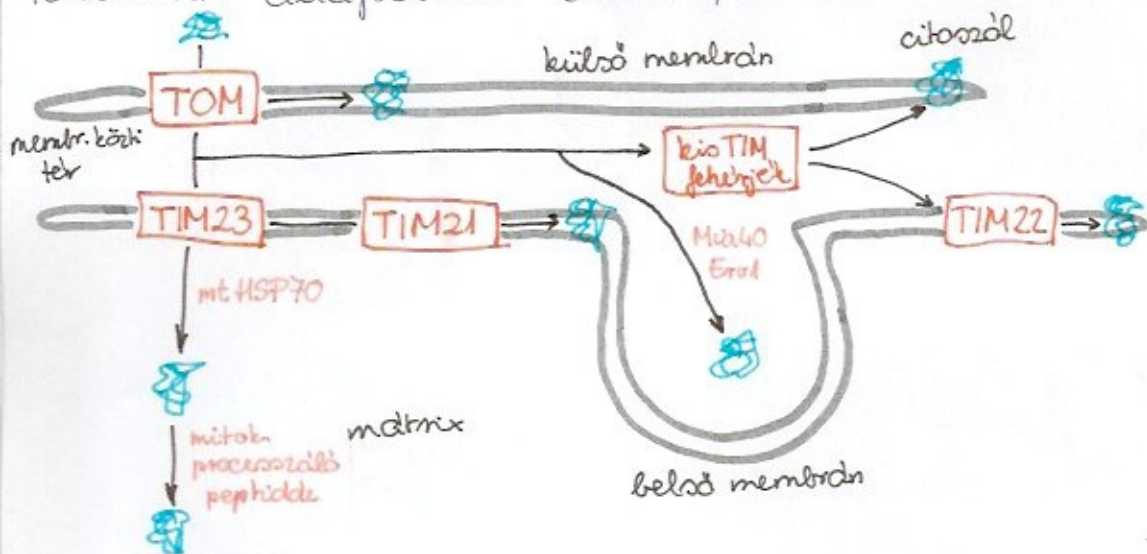
A proteom 99%-a a sejtmagban kódolt

↳ a szabad riboszómák fehérjei importálva jutnak be, és itt mehetnek: mátrixba, belső membránba, membránközi térbe, külső membránba

A mátrixfehérjéktől N-terminálisan 12-18 AS<sup>n</sup> hosszú amphipátikus hélix lehasad (MTS-szignál szekvencia)

A transzport poszttranszlációs, transzmembrán, denaturált fehérjék transzportja, ATP-t fogyaszt.

A mitokondriális fehérjéket a citoplazmában dajkafehérjék tartják tekeretlen állapotban (HSP70, HSP90)



Az importot 2 transzlációs komplex bonyolítja le:

- külső membránban a TOM

- belső membránban a TIM23

↓  
a transzport ATP- és membránpotencial-függő

→ motor komponens is tartalmaz, melynek része a mtHSP70 és a PAM (preszekvencia transzlációs assz. motor) szabályozza az ATP-és aktivitást

A mitokondriális fehérjék gyakran poszttranszlációs módosításokon is átesnek.

- processzálo pepszidázok lehasadják a szignál szekvenciát, és a mtHSP70 létrehozza az importált fehérje végző konformációját

- a membránközti tér fehérjében oxidoreduktáz aktivitású foldázok (Mia40; Ero1) disszulfidhidratat alakítanak ki.  
(Mia40 a protein disszulfid izomerázal,  
Ero1 az Ero1-gyel analóg funkciójú)

Stabil disszulfidhidrat található:

szekréciós útvonal és a mitokondrium membránközti tér  
fehérjeinél

### III. / 27. Fehérje - minőségellenőrzés az ER-ben, és a selejtfehérjék sorsa, ERAD

A nem-natív fehérjék felszínén hidrofób AS-oldallánok jelennek meg

↳ magasabb energiaszint, mint a natív

Konformációs selejték:

- felületi hidrofóbicitás,
- specifikus poszttranszlációs módosítások alapján észkelhetők.

↳ Az ilyen fehérjék továbbhaladását megakadályozzák

Foldinghibás fehérjék szenzorai az ER-ben:

**GRP78**, UDP-glukóz: glikoprotein glukoziltranszferáz (**UGGT**)  
és az **EDEM** fehérjék

### GRP78 (BiP)

- N-terminálison ATP/ADP és C-terminálison szubsztát kötőhely
- nagy mennyiségben expresszálódik
- nagy affinitással köti a nem-natív fehérjék hidrofób szarazait
- ADP → ATP cseréje a szubsztát elmozdít, további folding következik be
- szabályozás: **ko-chaperonok** - csak a monomer forma köt szubsztátot
- a stresszállás P-ainak aktiválásában is részt vesz

### N-glikoziláció, glikoprotein minőségellenőrzés

↳ kotranszlációsán kezdődik meg

Oligoszachariltranszferáz ismert jel a konszenzus glikozilációs motívumot (Asn - X - Ser/Thr)

↓  
aszparagin oldallánra átviszi a dolichal-pirofoszfát hordozón összerakott szerkezetet  
(2 N-acetilglukozamin, 9 mannóz, 3 glükóz)

N-glikozilált fehérjén oligomachanid oldallánc módosítása:

2 glükózt a **glukozidáz I és II** távolítja el, a glikoprotein a **kalnexint/kalretikulint**, az oxidoreduktáz az **ERp57**-et köti

a glikoprotein felszabadul a fehérje-fehérje kölcsönhatásokból

a faldinghibás fehérje a **kalnexin** ciklusba kerül

szekréciós pálya

A glikoprotein de/reglukozilálódik (glukozidáz II és UGGT katalizálással)

A glükóz egység beépítése visszaküldi a fehérjét a kalnexin ciklusba.

A fehérje többször is átmehet a cikluson, ezzel időt adva a glikoprotein érésére.

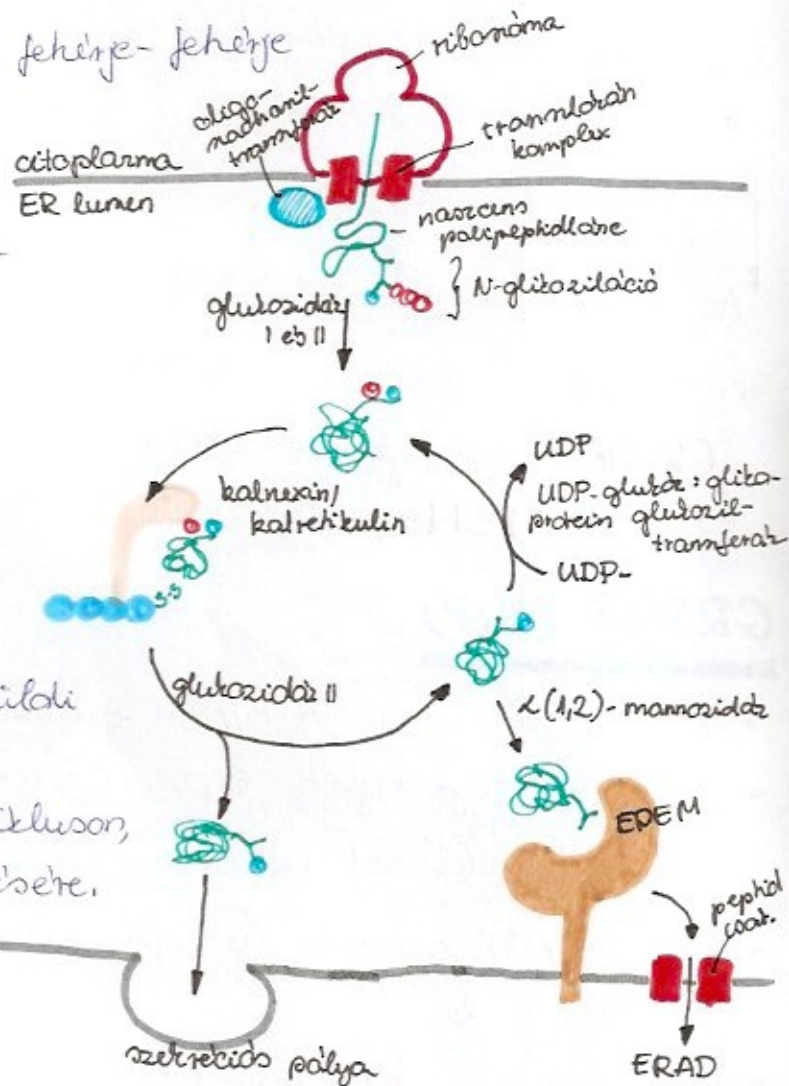
A mannosz egységeket lehasítással a véglegesen selejt fehérje a citoszolba jut vissza

proteasomális lebontás (ERAD)

A ciklus kijáratát az  $\alpha(1,2)$ -mannozidáz őrzi, lassú („mannóz-tízér”) így időt ad a faldingra

a mannoszvezetett fehérje EDEM-fehérjéhez kötődik

↳ mannozidáz-szerű doménnel, chaperon-szerű aktivitással is rendelkezik



# ERAD (Endoplazma's retikulumhoz kapcsolódó fehérjebontó)

A degradációra ítélt fehérjéket el kell távolítani a lumenből:  
felismerés; kitekeredés, retrotranszlokáció, deglikoziláció  
(peptid-N-glikandz), ubiquitinálódás, proteolízis

Részt vesznek benne:

N-glikandzok, dajkafehérjék, membránszatomok, ubiquitin  
konjugáló enzimek, proteaszómák

Különböző útonalán történik a citoplazmai domén, a  
hidrofób membránfehérjék, és luminalis fehérjék lebontása  
(ERAD-C; ERAD-M, ERAD-L)

A faldinghibás fehérjéket **felismeri** a  
**BiP** és **EDEM** fehérjék a lumenben

↓  
felszíni hidrofob-  
citab alapján      ↓  
rendellenes  
glikoproteineket

A naszárs polipeptid közben lekötözik, kalnexinhez, kalretikulim  
hoz kötődik.

Ha az **L-mannozidáz** eltávolít egy mannózt

↓  
polipeptid felzabodul  
és EDEM fehérjékhez kötődik  
EDEM1 - membránban  
↓  
EDEM2,3, - luminalis  
↓  
visszakerülnek a citoszólba  
(retrotranszlokálódnak)

Az ubiquitináció ER fehérjékre nézve specifikus enzimmel  
működik

↓  
ERAD faktort szállítják  
a proteaszóma komplexhez

↓  
deglikozilálódnak a peptid-N-glikandz  
(Png1) által - retrotranszlokációval egyidejűleg



↓  
proteasomális lebontás

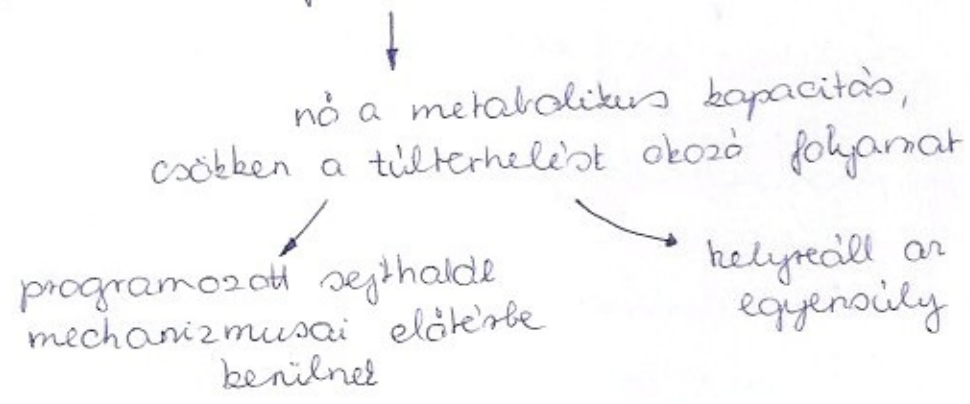
(felismerés → deubikvitinálás → transport a proteasóma üregébe → inkomplett hidrolízis)

e2 a szatasz mdr nem specifikus az ERAD-ra

### III. /28. Az organellek stressz koncepciója, Golgi stressz, peroxisomális stressz

Stressz: alkalmazkodást szolgáló válasz a követelmények és lehetőségek megilletent egyensúlyának helyreállítására

- fontos fiziológiai szerepe van
- környezeti, genetikai, redox-, pH- változások, transzkripciós, transzlációs stb. változások akut u. krónikus organellek stresszhez vezethetnek
- a stressz megzavarja a kompartmentum fő funkcióit
- a zavart szenzorok észlelik, majd **retrográd jelátvitel** (organellek → sejtmag) aktivitással beindítják transzkripciós szinten az adaptációs próbálkozásokat



### Golgi-stressz

ER-stressz által kiváltott fokozott kapacitás nagymennyiségű szekréciós fehérjét továbbít ide → Golgi-stresszt okoz

A fokozott igény a Golgi-funkciókra a szekréciós sejtekben fokozza a kódolt gének kifejeződését.

### Peroxisomális stressz

Szignálok: IC-on felszaporodott zsírsavak, hidrogén-peroxid  
↓  
indukálja a **PER** géneket

A peroxisóma így a kataláz aktivitása miatt inkább a hidrogén-peroxid lebontás irányában hat.

különböző lipidek IC felszaporodása **PPAR** magi receptorát aktiválóddalán keresztül fejt ki peroxisomális hatást

PPAR → ligand által indukált transzkripciós faktor, szteroid-tinoid-sterinoid családba tartoznak,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$  izoformák  
↳ 2 cinkujjosemi struktúra +  $\alpha$ -helikális szarvaszt tartalmazó DNS-kötő régió + ligand-kötő domén

Más természetes ligandjaikat is lehetek: linolsav, linolénsav, fitánsav, arachidonsav, stb.

- működésük feltétele a dimerizáció
- heterodimert alkotnak a 9-cisz-sterinoid R-nal (RXR)

↓ bármelyik ligandja aktiválja a dimert

↓  
PPRE-hez kötődhet  
(a DNS PPAR rezponzor eleméhez)

↓  
target gének expressziója  
fokozódik

PPAR $\alpha$  → májban a peroxisomális zsírsavoxidáció enzimkészletét indukálja, a zsírsavkötő fehérjét, zsírsavoxidáció enzimeit, CYP4A család stb.

PPAR $\beta$  → zsírszövetben indukálja a lipoprotein lipázt, a zsírsav transzlokázt, a zsírsavkötő fehérjét, a foszfo-enolpiruvát karboxilázt

A hiperlipémiához vezető állapotok a PPAR-akat aktiválják  
Ugyanaz a ligand más sejtben más célgeket expresszióját fokoztat.

PPAR $\alpha$ -hiány → normál táplálkozással nem figyelhető meg anyagcsere-zavar

PPAR $\beta$ -hiány → embrionális korban letális

III / 29.

Az ER stressz fogalma, az UPR, a EOR, szterinválasz, ER-stresszt okozó körtepek

Legfontosabb funkció → fehérjesszintézis, így a legtöbb stresszt kiváltó ok: fehérjesszintézis, posztranszlációs módosítás, falding

Sejt válasza a stresszre:

- növeli a sejt az ER méretét, kapacitását a szintézissel
- csökkenti a terhelést a transzláció leállításával, a kéretlen fehérjék proteolízisével

Teljesen stresszmentes helyzet az ER-ben sem lehet, alapvetően a jelpályákon mindig van

↳ tápanyagok ingadozó szintjéhez való alkalmazkodáshoz fontos

Fiziológiai helyzetekben is szerepe van (eustressz):

B- limfocita - plazmasejt átalakulás, májsejt ER proliferációjára

Patológiai stresszt (distressz) okozhat:

genetikai eltérés, exogén hatások

- fehérjeglükosziláció gátlószerei
- intraluminalis kalcium-szintet csökkentő szer
- intraluminalis redoxpotenciált befolyásoló redukáló- és oxidálószerek
- integráns membránfehérjék és szteroid fehérjék túlermelése

Az ER eseményeiről jelpályák szállítanak információt a sejtmagba:

- sejtfehérje - válasz (UPR)
- ER túltöltés válasz (EOR)
- szterinválasz

## UPR

A sejtfehérjék felhalmozódásáról a transzmembrán fehérjék adnak hírt az ER lumenéből.

3 fő receptorát ismerjük:

- IRE1
  - PERK
  - ATF6
- } ER membrán integráls fehérjéi

luminalis doménjük stresszmentes állapotban köti a BiP-et (ER-ben legnagyobb mennyiségben expresszálandó dajkaféherjék)

↳ inaktív állapotban maradnak a receptorok

Stressz esetén a seleytfehérjék nagyobb affinitással kötődnek a BiP-hez

↳ transzmembrán fehérjék így aktiválódnak

jelátvitel két mechanizmussal:

- dimerizáció és foszforiláció (IRE1, PERK)  
stressz-függő módon szabályozza a citoszolikus domén kináz aktivitását a R-ot di- és oligomerizációjával
- transzlokáció a Golgi és ott limitált proteolízis (ATF6)  
C-terminális domén 2 Golgi loka-  
lizációs szekvenciát (GLS1, GLS2) tartalmaz  
ATF6-ot a BiP kötődésébe szabályozza, az ATF6-ot  
visszatartja az ER-ben

Az aktiválódott receptorok jelátviteli pályákat indítanak be

- BiP kötés hiányában (stressz esetén) az ATF6 a Golgi-ba vándorol, aktiválódik
- 2 proteáz hasítja (SIP, S2P) → a felszabaduló N-terminális és leucin hídzoát (GZIP) transzkripciós faktorként funkcionál
- Kötődik az ERSE-1 és ERSE-2 szekvenciákhoz

↓  
dajkaféherjék és a CHOP proapoptikus transzkripciós faktor expressziója ↑

IRE1-en kináz és endonukleáz domének találhatóak, oligomerizálódva transz-autofoszforilálódik, vagyis aktiválódik

↳ tRNS ligázal, és NAD<sup>+</sup> függő foszforilációval kiharít egy darabot az XBP1 mRNS-ből

NF- $\kappa$ B aktiválódik

↓  
beindítja az immunválaszhoz szükséges  
interferon és citokinszintézist

## Szterinválasz

A teljesítmény fokozása a membránok biogenezisével jár  
↳ lipidet szintézist is erősíteni kell

↓  
mennyiségüket a koleszterin jelzi

↓  
ER-ben szintetizálódik és épül be,  
plazmamembrán felé halad

ER-ben a koleszterin- (szterin-) szintet **SCAP** fehérjéjének  
specifikus doménje (SSD) érzékeli

→ magas koleszterinszint esetén **Insig-1** és **Insig-2** vissza-  
tartja az **SREBP** fehérjét (szterinválaszban SREBP-2)

→ koleszterin hiányában SREBP felszabadul a komplexből,  
**SCAP**val a Golgiba szállódik, limitált proteolízissel  
megy át (SIP és SIP által)

↓  
bazikus helix-kurva-helix leucin hídokra  
transzkripciós faktorok (**bHLH-Zip**) közé  
tartozó fragmentum képződik

↓  
aktiválja a koleszterinszintézis  
enzimeinek transzkripcióját

## ER-stresszt okozó körképek

① **tárolási betegségek**  
szekréciós fehérje gélje meztalódik → feltekeredés zavara →  
ER lumenében reked

• **cisztás fibrózis** -

funkcióképes a fehérje, de sejtként ismeri fel

fehérjével iróddik

a transzkripciós faktor fótozza az UPR  
cell-gének a'iróddóát (promotórik tartalmaz  
egy UPR elemet - UPRE)

A fehérjék részt vesznek a foszfolipid bioszintézisben,  
a foldingban, mindregellendrésben, ERAD-ban.

A PERK doméneje oligomerizálódás után protein kináz aktivitást  
az eukarióta inaktivációs faktor 2 $\alpha$  (eIF2 $\alpha$ ) szintjét foszforilálja

- rövid élettartamú fehérjék túlnékel el gátolja a transzlációt
- a sejtől (ciklus D1) → leáll a sejtikus a G1 fázisban
- néhány fehérje transzlációját nem gátolja  
(ATF4 pl. → AS állapotban, glutathion bioszintézisben  
szereplő gének expressziója ↑)

PERK az Nrf2-t is foszforilálja

↳ ARE-hez kötődik, indukálja a biotranszformáció  
második fázisának sok enzimét

Ez a redox homeosztázis felborulása ellen nyújt védelmet.

A bZIP transzkripciós faktorok között jelentős együttműködés  
figyelhető meg

A jelátvitel sejtípusonként változik → rugalmasságot biztosít

## ER

Fehérjék torlódása indítja be, az ágensek az UPR-t rész-  
ben a'fedőek.

- kalciumfelszabadulást vált ki,  
a kalcium permeabilitás megváltozását okozhatja:
- idegen fehérjék Ca<sup>2+</sup>-ATPáz gátló hatása
- magasabb fehérje / foszfolipid arány
- mechanikai feszülésre érzékeny kalciumcsatornák  
megnyitása

Ca<sup>2+</sup>-szint → reaktív oxigenszalmazékokat termelő  
enzimeket aktivál

CFTR érintett, a hibás folding miatt nem jut el a rendeltetési helyére, ERAD mechanizmus lebontja le

- **$\alpha$ -antitripszin deficiencia**

nem működőképes a mutáns, ERAD lebontja

$\alpha$ -antitripszin  $\rightarrow$  májban termelődő elasztáz inhibitor, a mutáns nem szekretálódik

tüdőben EC állapotú pusztulás, következményes tüdőbetegség

- **Alzheimer-kór** ( $\beta$ -amiloid felhalmozódás)

a mutáns nem működőképes, ERAD nem tudja lebontani:

ER dilatációja, károsodása súlyosítja a kórlepet

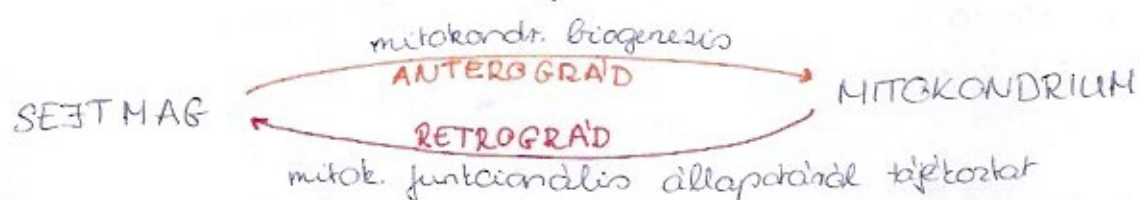
② **Szerzett humán kórlepet**

**prionbetegség**  $\rightarrow$  rendellenes prionfehérje bekelődik az ER membránjába, elkenilheti az ERAD-mediált degradációt



# III./30. Mitochondriális stressz és mitochondriális apoptózis

Mitochondriális válasz: hőmérsékletváltozás, túlzott tápanyag-bevitel, vagy hiány esetén.



- hms., kalória; izomunkta-, hormonváltozásokra érzékenyek, a nukleáris és a mitochondriális genom expresszióját szabályozzák
- csökkent mitochondriális képességről tájékoztat  
↳ **MITOKONDRIALIS STRESSZVÁLASZ**

Mitochondriális stresszhez vezetnek az oxidatív foszforilációt és terminális oxidációt károsító hatások:

- 1) genetikai - öröklött defektusok, mtDNA mutációk
- 2) környezeti - hipoxia, hő sokk, programozott sejthalál stb.

## Az MSR jelutólya:

Stresszjelnyilvánulás során  $[Ca^{2+}]$  emelkedik a citoplazmában

↓  
kalcium/kalmodulin-függő protein-kináz, PKC-t, kalineurint és a JNK/MAPK útvonalat aktiválják

↓  
TF-eket aktiválnak, ezek  $Ca^{2+}$ -transzportban és tárolásban szerepet játszó fehérjék génjeinek expresszióját növelik

A stresszválasz legfontosabb összetevője: **PGC-1 (PPAR $\alpha$  coaktivátor-1)**  
koaktivátorainak N-term. doménje interakcióba lép a hiszton acetyltransferázzal ↓

kromatin átrendeződik

↓  
TF-ek a génextpressziót fokozhatják

PGC-1 indukálható fehérje, számos környezeti hatás által (lásd albra).  
 Aktiválása is szabályozás alatt áll.  
 Foszfatacidja stabilizálja

IC koncentrációja nő  
 glutoneogenetikus hatását a  
 lizil deacetyláz **SIRT-1** aktiválja

deacetylált PGC-1: glükóz homeosztázist,  
 acetylált: mitokondriális biogenezist  
 szabályozza

(többi az albrón!)  
 Fokozott energiatermelés szükség esetén:  
 PGC-1 "master regulator" szerepet  
 játszik

Fokozott biogenezissel foszfolipid-  
 szintézise is szükség van

**MIDAS** fokozott expressziójával  
 valósul meg

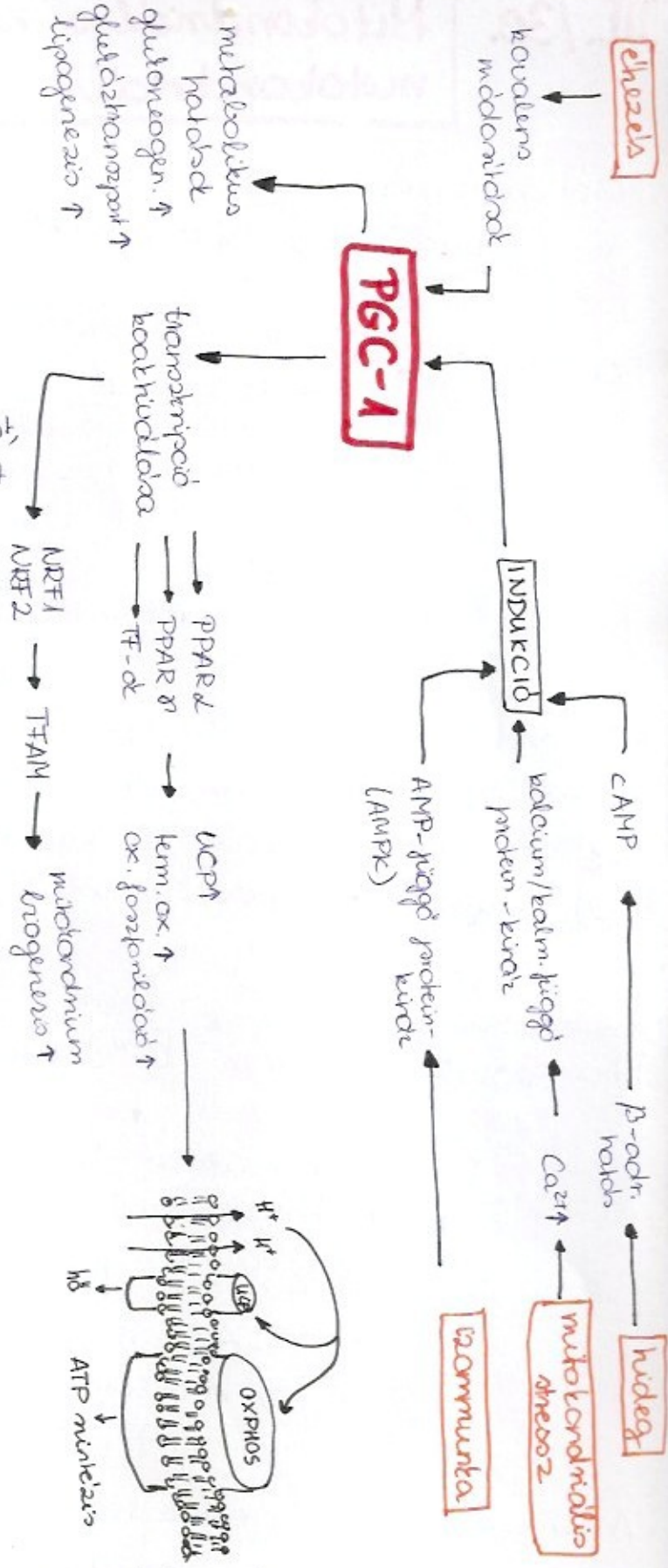
Mitochondriális UPR

Helyi dokkafehérjék működésétől is  
 függnek a mitokondriális funkciók.  
 importált fehérjéket az **mtHsp70**  
 húzza át a membránon

ko-chaperonjaival  
 foldingot hajt végre

A proteázok lebontják a felhal-  
 mozdó matrixfehérjéket

oligopeptid fragmentumok keletkeznek  
 ↓  
**UPR** beindítása



# Mitochondriális apoptózis

Okozhatja: e<sup>-</sup> transzport, oxidatív foszforiláció összeomlása, káros oxigénradikálokat felszaporodása, redoxpotencial változása, másodlagosan a DNS károsodása, IC [Ca<sup>2+</sup>] emelkedése is.



ezek a külső membrán permeabilitásfaktorához vezetnek, (Bax által létrehozott **MAC** felelős)



proapoptikus fehérjék jutnak a citoplasmába  
citokrom-c, Apaf-1, (d)ATP létrehozza az apoptoszómat



prokaspáz 9-et aktivál

Az apoptózis antiapoptikus fehérjék gátolhatják:

**Bcl-2** → csökkenti a MAC átjárhatóságát

**IAP** → kaspázaktiválódást gátolhat

↳ ezt a **SMAC / DIABLO** inaktiválja,

**Omi / htra2** specifikusan hasítja

Az apoptózis kaspáz-független úton is megvalósulhat  
(kaspázok csak normális redoxpotencialon fejtik ki teljes aktivitásukat)  
↳ oxidatív stressz esetén nem működnek!

**AIF** (apoptózis indukáló faktor) - belső membrán flavoprotein oxidoreduktáza.

Ha a külső membrán permeabilitása nő

↓  
kifejele tekintő részét a proteázot lehasítja,  
proapoptikus faktorként viselkedik

↓  
sejtmagban DNS fragmentációt,  
kromatin kondenzációt okoz

↙  
**endonukleáz G**  
is hozzájárul  
(AIF koaktivátora)

Súlyos hatást **mitochondriális permeabilitás transzió (MPT)** hozhat létre. → **MPTP** nyílik meg

↳ membránpotencial összeomlik,  
mitokondrium duzzad

megszűnik a protongradiens, az ATP-szintézis,  
a sejt elhasználja redukáló ekvivalenseit

↓  
nő a reaktív oxigénvegyületek  
termelése,  
az ionpumpa működése megszűnik

↓  
a bioszintetikus reakciók leállnak

↓  
NEKRÓZIS

# III / 31. Lizoszomális stressz, tárolási betegség, lizoszomotrop ágensek, lizoszomális apoptózis

## LIZOSZOMÁLIS STRESSZ

fő funkció: macromolekulát savas hidrolízist általi lebontása, ez károsodik a stressz esetén

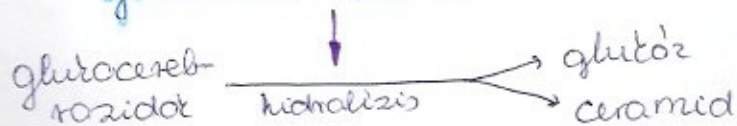
- örökletes → hiányzó enzim szubsztátja v. a transzporter ligandja felhalmozódik
- környezeti → reaktív oxigénradikálok emelkedése, lizoszomotrop ágensek, lumenális pH emelkedése, stb.

## Tárolási betegség

- leggyakoribb genetikai betegség
- lipidek, gangliosidok, mukopoliszacharidok, glikoproteinek, mukolipidek halmozódhatnak fel.
- stresszuálás: lizoszóma biogenesis ↑, membránfehérge-indukció (LAMP-1, LAMP-2) → majd sejtpusztulás (a defektest nem tudja megoldani)

Gaucher-bet → leggyakoribb,

glucocerebroszidáz autoszomalis recesszív örökletes hiánya



Súlyos formában neurológiai tünetekkel jár, gyorsan fatális kimenetelű

Fabry-bet → L-galaktoszidáz A X-kromoszómához kötött recesszív

örökletes deficienciája.

Glikoszfin galipidok halmozódhatnak fel, de az enzimterápia sikeres lehet.

Tünetek: akut hasi, csontfájdalmak, korneális lerakódások, proteinuria, szüphanaszok

## Lizoszomotrop ágensek

Azok a xenobiotikumok, amelyeket emeltek az intralumenális pH-t. Endocitózissal, vagy diffúzióval juthatnak be a lumenbe.

Lehetnek: aminok, proton ioncserélő, proton ATP-áz gátlószerei,  
antibiotikumok, parazitaellenes gyógyszerek

az alkalinizáció gátolja a hidrolázokat

↓  
nem-metabolizált szubsztátok  
halmozódnak fel

↓  
nö a lizoszómák száma és  
mérete, aktiválódik az apoptózis jelátvitel

## LIZOSZOMÁLIS APOPTÓZIS

A membrán jelentős károsodása nekrotizációhoz vezet, mert  
katabolikus enzimek szabadulnak el.

A kismembrán permeabilitásnövekedés lizoszomális apoptózishoz  
vezet.

lizoszomális proteázok szabadulnak fel

↓  
prokaspázokat, proapoptikus  
Bcl és Bax fehérjéket aktiválnak

Legfontosabb proteázok: **katepszinek**:

- katepszin B - ciszteinil - proteáz → Bcl aktiválás
- katepszin D - aszpartil - proteáz → kaspáz  
aktiválás  
↓  
szfingozin  
aktiválás

### III/32. Az apoptózis fogalma és formái. ER eredetű apoptózis és autofágia

A sejt pusztulásba két módon torkolhat:

**NEKRÓZIS** - a sejttartalom ellenőrizetlenül szétcsordók az EC térben, és fagocitózist és immunválaszt vált ki

**APOPTÓZIS** - programozott sejthalál, a sejt zsugorodik, a kromatin tömönül, a DNS feltöredezik, a sejtek apoptotikus testekké válnak.  
Lehet kaspáz-függő, vagy kaspáz-független.

A programozott sejthalál másik fajtája: **autofágia**

A sejt energetikai és redox státusza normális, új fehérjék is expresszálódnak → fiziológias folyamat

↳ extrinsic } lehet  
↳ intrinsic }

az organelum-tredek az intrinsic mechanizmusok közé tartozik.

• inaktív prokaspáz formában vannak jelen az apoptózis-specifikus kaspázok (ciszteinil aspartát-specifikus proteázok)

↓ limitált proteolízis  
aktiválódnak,

tetramer szerkezetet felhagyva

→ autoproteolízis az **iniciátor kaspázok** esetében

↳ proteolitikus kaspázok által

• a prokaspáz-2 CARD-ja a PIDD-vel és RAIDD-vel alkotja a PIDD domént

• A prokaspáz-9 Apaf-1-gyel, citokróm-c-cvel és d-ATP-vel apoptoszómát hoz létre

**effektor kaspázok** → egymás által aktiválódnak

Szubstrátjaik proteolízise alapvetően érinti a sejt működését

Antiapoptotikus fehérjék → Bcl-2 család: a fehérjéket jellemző a BH domének jelenléte (1→4)

- Bcl-2 alosalád
- Bax (nincs BH4)
- BH3-only

Bax a mitochondriummembránon szabott formát  $\rightarrow$  MAC  
külső

↓  
proapoptikus fehérjét szabadul-  
tat ki

A belsőn: MPTP

stb! stb!

táblit lásd apoptózisos tétel!

## ER eredetű apoptózis

Lumene az EC térhez hasonló, a károsodástól függ, az extrin-  
sic vagy intrinsic jelre is indul-e be

### INTRINSIC

stressz hatására a Bax és Bcl-2 proapoptikus fehérjék konfor-  
mációváltáson mennek át ↓

a raktározott  $Ca^{2+}$  felszabadul

↓  
kalpain aktiválódik,  
specifikus kaspáz kaspádot  
indít be

a kalciumot a mitochondrium veszi fel

↓  
membránpotenciál összeomlik,  
apoptikus úttonál aktiválódik  
(UPR)

↳ CHOP TF induciója

↓  
Bcl-2 antiapoptikus ↓  
Bax, Bcl-2 proapoptikus ↑

### EXTRINSIC

stressz esetén az IRE1 heterotrimeret képeshet a TRAF2 és az

ASK1 fehérjékkel

↓  
IKK (c-fun N-terminális kindz) aktiválása

↓  
apoptózis



ASK1 (mitogén-aktivált proteín kináz kináz kináz 5 - MAPK5 5)

különféle stresszhatásokra aktiválódik

inaktívan: homo-dimerizálódik, szignálonként hoz létre

oxidálóerőt aktiválhatja,  
az addig kötődést gátoló teoredoxin  
és oxidálódik

ASK1 disszociál,  
homodimerizálódik,  
autofoszforilálódik

↓  
aktív MAP3K5

ASK1 - ENK aktiválásához vezet:

- reaktív oxigén termékek túlermelése
- kalcium kiáramlás
- IRE1-R-on keresztül aktiválódik

## ER stressz és autofágia

Autofágia: preventív mechanizmus, gátolása jótorna az apoptotikus sejtválaszt, indukciója rezisztensebbé teszi a sejtet.  
Alternatív ERAD mechanizmus, nagy mennyiségben eliminálódhatnak a rendellenes fehérjék.

Az mTOR-kináz az egyik fő szabályozó.

↓

inaktív állapotában az Atg1 kináz defoszforilálódik, jótornodik a kináz-aktivitása

↳ fontos markere az autofágiának

} jelátvitelben szerepel:  
[Ca<sup>2+</sup>], IRE1, PERK

