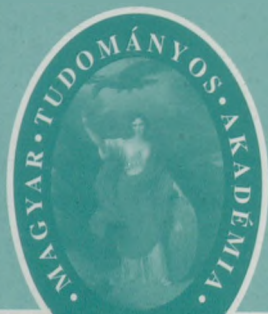


SZÉKFOGLALÓK A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIÁN

FRIEDRICH PÉTER
FEHÉRJÉK, ENZIMEK,
EMLÉKEZET



1825

Szerkesztő
GLATZ FERENC

Olvasószerkesztő
Pótó János

ISBN 963 508 220 7
ISSN 1419-8959

Kiadja
a Magyar Tudományos Akadémia, 2000
Felelős kiadó: Szabó B. István
Kiadói szerkesztő: Burucs Kornélia
Nyomdai előkészítés: MTA Történettudományi Intézete kiadványcsoportja
Tördelő: Csányi Attila
Nyomdai munkálatok: AKAPRINT Nyomdaipari Kft.
Felelős vezető: Freier László ügyvezető igazgató

Friedrich Péter

az MTA rendes tagja

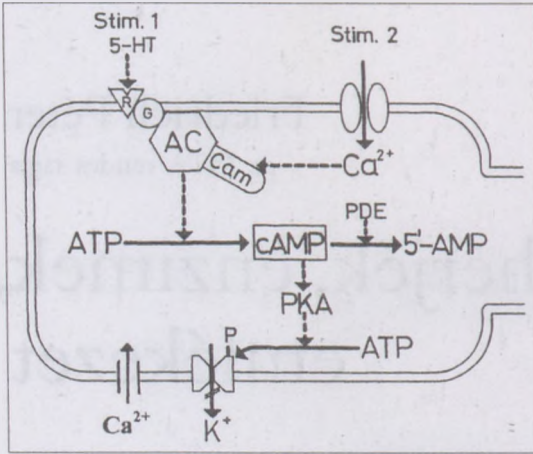
Fehérjék, enzimek, emlékezet

Elhangzott 2000. március 21-én

Előadásom címe azt a lazán összefüggő témakört jelöli, mellyel az utóbbi mintegy másfél évtizedben foglalkoztunk, és amelyet úgy is nevezhetek, hogy az idegrendszeri plaszticitás fehérjeszerkezeti alapjai. Az idegi plaszticitás (képlékenység) – az élő szervezetek leghatékonyabb alkalmazkodási mechanizmusa – megnyilvánul az egyedfejlődés során, majd felnőttkorban a tanulás és memória, illetve a regenerálódás folyamataiban. Tavaly ősszel Hámori József tagtársunk székfoglalójából képet kaptunk az idegi plaszticitás magas, agyrendszer szintű jelenségeiről. Mostani megközelítésünk a molekuláktól – mintegy az ellenkező végtől – indít, abban a meggyőződésben, hogy a „megoldást” majd mindezek szintézise adja.

Éppen tíz éve fogalmaztuk meg, hogy a memória hordozója – az emlékenyom kialakítója – végső soron az ugyancsak plasztikus fehérjeszerkezet, mind az egyes fehérjék, mind a funkcionális egységgé összeálló fehérjekomplexek szintjén (Friedrich, 1990). Ezek a fehérjék és komplexeik döntően az idegsejtek találkozási pontjainál, a szinapszisokban találhatóak. Ez a megállapítás – álszerénység nélkül – nem valami nagy felfedezés (bár a *Neuroscience* folyóirat vezető cikként lehozta, és 250 dollárt fizetett is érte!), csupán annak az immár triviális igazságnak idegrendszeri vetülete, hogy az életfolyamatok a géntermékek (fehérjék) sejten belüli és kívüli összjátékának eredői, s ez alól a memóriamechanizmusok sem kivételek.

Milyen fehérjék játszanak szerepet egy elemi tanulási folyamatban?



1. ábra. Kondicionálás *Aplysia*-án
Jelkonvergencia adenilát-cikláz enzimen

Tipikus példáért az *Aplysia*-modellhez fordulhatunk, amelyet ugyan már elmondtam hat éve, de nem tétélezhetem fel, hogy mindenki beírta a hosszú távú memóriájába. Tehát: Eric Kandel és munkatársai az *Aplysia* tengeri csiga kopolyú-összehúzási reflexét módosították. A reflex érzékenyítésénél (szenszitiváció) azt találták, hogy az 1. ábrán vázolt érzőideg-végződéshez a szenszitiváló inger szerotonin- (5-HT) közvetítéssel érkezik, amely aktiválja a membrán adenilát-cikláz

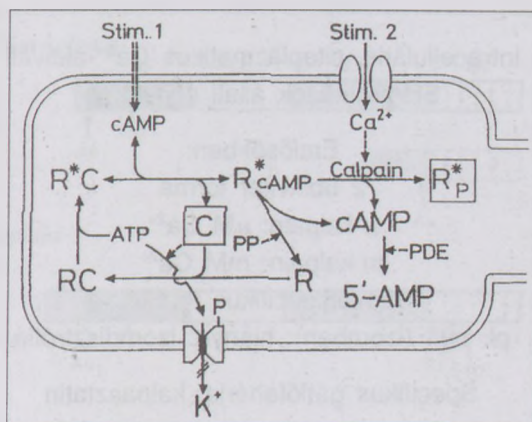
(AC), ez ciklikus AMP-t (cAMP) termel, utóbbi pedig aktiválja a cAMP-függő protein-kinázt (PKA). A kináz katalitikus alegysége (C) foszforilál egy membrán-káliumcsatornát, mire az bezárul. Ennek eredménye, hogy a következő ingerület során a membrán repolarizációja késik, a feszültségfüggő kalciumcsatornán ezért több Ca²⁺ jön be a végződésbe, több neurotranszmitter (NT) ürül, ami fokozott posztszinaptikus választ, szenszitivációt eredményez. A NT-ürülés e sémán nem látható, az viszont látszik, hogy ha két ingert társítunk, és ún. kondicionálás következik be, a 2. ingerrel a sejtbe áramló Ca²⁺ a kalmodulin (CaM) fehérjéhez kötődve, szintén aktiválja az AC-t. E kettős aktiválás hatására az AC-ban konformáció-változás áll be: az enzim hosszabb ideig aktív marad. Így fennmarad a káliumcsatorna foszforiláltsága is, mert a proteinfozfatázok nem tudják ellensúlyozni az erős kinázhatást. A mechanizmus lényege, hogy a két inger (jel) az érzősejtvégződés AC enzimjén konvergál. Kérdezhetjük: mi ebben az elemi tanulási folyamatban az emléknyom? Valójában az AC tartós szerkezetváltozása: ebben az értelemben hordozója a fehérjeszerkezet a memóriának.

Egy másik állat, az általunk is vizsgált ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) szagelkerülési tanulása során ugyanebben a PKA-foszforilációs rendszerben a tartós PKA-aktiválódás másképp áll elő. Egy freiburgi német kutatócsoporttal kifejlesztett modellünk szerint (2. ábra, Aszódi et al., 1991) a *Drosophila* idegsejtjeiben a két ingert közvetítő jel nem az AC, hanem a

reakcióisorban eggyel lejjebb, a kináz szintjén konvergál. Ez alatt az értendő, hogy a már előbb is látott AC-aktiválás mellett a másik ingerrel belépő kalcium egy fehérjebontó enzimet – a kalpain – aktiválja, amely a PKA R alegységéből lehasít egy darabot. A csonka holoenzim működőképes, de cAMP-érzékenysége jelentősen megnő, vagyis az enzim alacsonyabb cAMP-szint mellett is aktív marad. A végeredmény itt is az, hogy az időben elnyújtott PKA-aktiválódás a káliumcsatornát zárja, ami fenntartja a szinapszis fokozott erősségét.

E modell kulcslépése tehát a PKA regulátor (R) alegységének hasítása kalpainnal. Ezt azonban mi *Drosophila*-agykivonatban mutattuk ki, nem pedig az állat tanulása során az intakt neuronokban. Ez tehát egy biokémiaiilag plauzibilis, de korántsem bizonyított mechanizmus a tanulást illetően. Hogyan lehet ezt igazolni? Az *Aplysiánál* járható egyedi sejt-elektrofiziológia és -injektálás itt a neuronok kis mérete miatt nem lehetséges. Segítsé-
günkre lehetnek viszont a genetikai módszerek, amik a *Drosophilánál* különösen fejlettek, és amelyekkel befolyásolni lehet egy enzimet *in vivo*, funkcióvesztéses mutáns indukálásával vagy más, ennél körmönfontabb módon. Ehhez viszont tudnunk kell, hogy a *Drosophilában* hány kalpainforma található, hogyan jönnek ezek létre, és főként melyik van jelen a megfelelő idegsejtekben, ahol a tanulási folyamatok zajlanak.

A *Drosophilában* a kalpainrendszert mi találtuk meg az 1980-as évek végén, Pintér Marianna munkatársam mutatta ki a Ca^{2+} -függő proteázaktivitást muslicafejekben biokémiai módszerekkel (Pintér-Friedrich, 1988; Pintér et al., 1992). A japánok – ma e téren az éllóvasok – akkor még nem találták, és azt tartották, hogy ez az enzimszisztéma csak gerincesekben fordul elő. Mégis, csak 1995-re sikerült klónoznunk svéd együttműködésben az első enzimszisztéma formát, a CALPA-t (Theopold et al., 1995), a másodikat, a CALPB-t pedig tavaly klónoztuk, immár az ún. EST adatbázis segítségével (Jékely-Friedrich, 1999a, b). Mivel a *Drosophila*-genomprogram közel áll a



2. ábra. Kondicionálás *Drosophilán*
Jelkonvergencia protein-kináz A-n (RC)

Intracelluláris, citoplazmatikus Ca^{2+} -aktivált
SH-proteázok állati sejtekben

Emlősökben:

2 ubikviter forma

μ -kalpain: $\mu\text{M Ca}^{2+}$

m-kalpain: mM Ca^{2+}

Szövetspecifikus formák:

pl. p94 (izomban): hiánya: izomdisztrófia

Specifikus gátlófehérje: kalpasztatin

Funkció: a sejten belüli

jelfeldolgozás enzimejei:

célféhrjéken limitált hasítást végeznek,
ami ezek működését megváltoztatja

(pl. PKA R-alegysége)

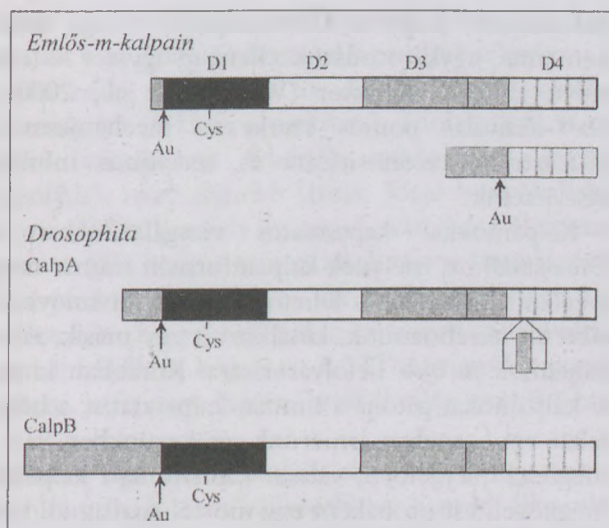
3. ábra. Kalpainok

A kalpainok doménszerkezetét a 4. ábra mutatja, felül egy emlős- (patkány) m-kalpain, alatta pedig az általunk jellemzett *Drosophila* CALPA és CALPB. Az emlős-kalpain egy nagy és egy kis alegységből áll, mindkettőnek C-terminális szakaszán 5 kalciumkötő hellyel. A *Drosophila*-enzimek kis alegységet nem tartalmaznak, a nagy alegységük azonban hasonló az emlőséhez, azzal a különbséggel, hogy a CALPA-ban van egy betoldás (inszert) közepén 16 apoláros aminosavval, ami az enzim membránhoz való kötésében játszhat szerepet. A másik különbség a nagy alegységekben, hogy a *Drosophila*-enzimek N-terminális doménje jóval hosszabb, különösen a CALPB-nél. Ezek nem konzervatív régiók, szerepük valószínűleg sejten belüli lokalizáció lehet. Abban viszont nagyon konzervatívok az emlős- és *Drosophila*-kalpainok, hogy N-terminális önemésztéssel (autolízissel) aktiválódnak, és az autolízis helye (AU) mindegyik enzimben azonos távolságra esik az aktív centrum Cys oldalláncától. Ennek oka ezen enzimek konzervatív szerkezetében rejlik: a múlt év végén megismert emlős-kalpain háromdimenziós szerkezetében, amely John Elce kanadai együttműködőnk laborjából került ki, a molekula középvezetékében levő rövidke szegmens (anchor) hasad le autolitikusan: a CALPA-ban és CALPB-ben ez a szakasz

befejezéshez, immár valószínűtlen, hogy további *Drosophila*-kalpainok létezzenek. Az enzimeket kifejeztettük *E. coliban*, megtisztítottuk, és enzimológiailag részletesen jellemeztük. Itt – ha úgy tetszik – jókora kitérőt tettünk a szerkezeti biológia irányába, ami azért volt indokolt, hogy a *Drosophila*-enzimeket és funkcióikat az emlős-kalpainokkal összevetessük. A kalpainok ugyanis egy olyan enzimcsalád, mely a muslicák memóriájától függetlenül is megér egy misét. A kalpainok tulajdonságait a 3. ábrán foglaljuk össze.

sokkal hosszabb, de ami itt „kilóg”, azt egy másik, aktív enzimolekula Ca^{2+} jelenlétében lehasítja.

Nem kívánom a tisztelt Hallgatóságot további szerkezeti részletekkel terhelni, inkább azzal folytatom, hogy mik a humán kalpain-kutatás céljai. Az alapvető cél az, hogy pontosan megismerjük a kalpainok szerepét élettani és kóros folyamatokban. Ez igen összetett feladat, hiszen a kalpai-



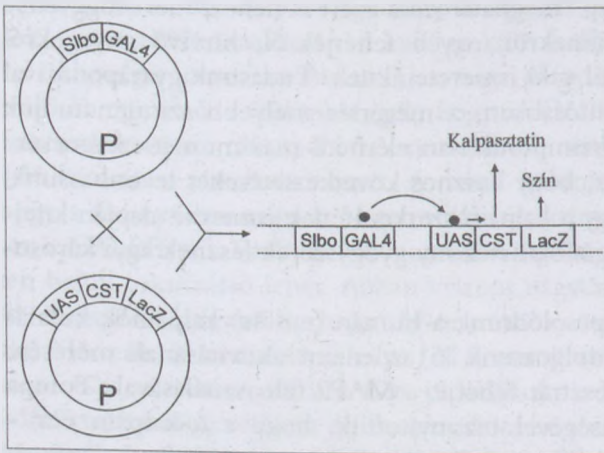
4. ábra. Kalpainok doménszerkezete

nok, központi szabályozó enzimek lévén, számos sejtbeli történés részesei, így pl. szerepük van az idegi plaszticitásban, az izomfejlődésben, a sejtzaporodásban és sejt vándorlásban, az apoptózisban, az Alzheimer-kórban, hipoxiás agyi károsodások kialakulásában, hogy csak a legtöbbet vizsgáltakat említsem. Az *in vivo* „szerep” meghatározása azért is nehéz, mert függvénye a többi sejtalkotóról (enzimekről, egyéb fehérjékről, hírvivő anyagokról stb.), azok kölcsönhatásairól való ismereteinknek. Tudásunk gyarapodásával a „szerep(ek)et” egyre pontosabban, a megértés mélyebb szintjén tudjuk leírni. A megismerésnek aszimptotikusan elérhető maximumát szerencsére nem kell bevárni ahhoz, hogy hasznos következtetéseket levonhassunk. Így bizonyosra vehető, hogy a kalpain szerkezetének ismerete alapján kifejleszhető specifikus enzimgátlók hatékony gyógyszerek lesznek agyi károsodások kezelésében.

E megfontolásból bekapcsolódtunk a humán (emlős) kalpainok kutatásába. Érzékeny módszert dolgoztunk ki az enzim aktivitásának mérésére egy idegsejt-specifikus szubsztrát-fehérje, a MAP2 felhasználásával (Tomba et al., 1995). Ennek segítségével bizonyítottuk, hogy a μ -kalpain Ca^{2+} -aktiválása szorosan együtt jár az autolízissel (Baki et al., 1996). Leírtuk az ún. kalpainkaskádot, vagyis azt a szabályozásban tekintetbe veendő jelenséget, hogy a μ -kalpain aktiválja az m-kalpain (Tomba et al., 1998).

Kimutattuk, hogy a Cerebrolysin® – egy általánosan használt, stroke, dementia, agykárosodások elleni gyógyszer – (egyik) hatóanyaga kis molekulasúlyú kalpain inhibitor (Wronski et al., 2000). Folyamatban vannak a Ca^{2+} -aktiválás pontos szerkezeti mechanizmusára, az *in vivo* hasított szubsztrátok azonosítására és specifikus inhibitor előállítására irányuló kísérleteink.

Kalpainokkal kapcsolatos vizsgálatainkban kanyarodjunk vissza a *Drosophilához*, melynek kalpainformáit immár megismertük, tehát megnyílt a célzott beavatkozás lehetősége. Bár funkcióvesztéses mutánst eddig nem sikerült létrehozni, kínálkozott egy másik, talán még célravezetőbb út a kalpainok *in vivo* befolyásolására. Korábban kimutattuk, hogy a *Drosophila*-kalpainokat gátolja a humán kalpasztatin, a hőstabil inhibitor fehérje. Ha tehát ezt – melyet ismerünk, és kezünkben van – kifejeztetjük a muslica megfelelő sejtjeiben, választ kaphatunk a kalpainhiány fenotípusára. Ezt a megközelítést próbaként egy morfológiailag jól kimutatható jelenség, az ún. irányított sejt-vándorlás esetében alkalmaztuk. *Drosophilában* a peteérés 9. stádiumában 6-8 follikulussejt megindul a petekamra végéből, és – a dajkasejtek között – felvándorol a petesejt határáig: ezeket a sejteket ezért határ- (border) sejteknek nevezik. Ha e vándorlás elmarad, a petesejt elpusztul. Laborunkban két P elemmel transzformált törzset állítottunk elő (5. ábra): egyikbe az Slbo bordersejt-meghajtót és az élesztő-GAL4 transzkripciósfaktort, a másikba a GAL4-t kötő UAS szegmenst, mellé pedig a humán kalpasztatin, illetve LacZ cDNS-t tettük; ezen törzsek keresztező-



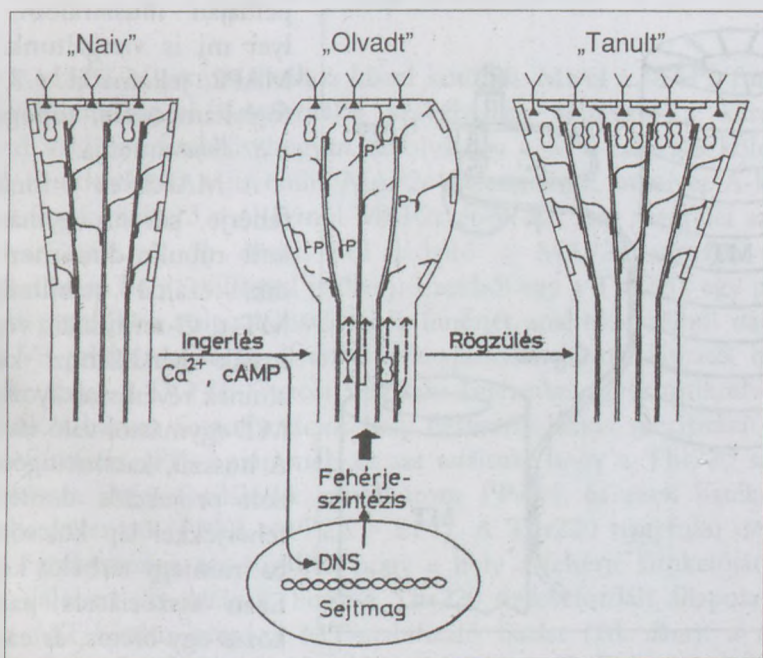
5. ábra. Humán kalpasztatin szelektív kifejeztetése *Drosophila*-bordersejtjeiben

déséből olyan legyek származnak, amelyek a humán kalpasztatint csakis a bordersejtjeiben fejezik ki, amelyek a LacZ-től kékre festődnek, tehát jól megkülönböztethetők. Ezek peteérése súlyosan károsodott: a bordersejtek – a mikroszkópos vizsgálat tanúsága szerint – nem vándoroltak. Ez amellel szól, hogy e vándorláshoz aktív kalpainra van szük-

ség. Hasonló módon válhat ellenőrizhetővé a kalpajos *Drosophila*-memóriamodell, ha a kalpasztatint a megfelelő idegsejtekbe tudjuk irányítani.

Amiről a tanulás kapcsán eddig szóltam – az *Aplysia*- és *Drosophila*-modellek – a rövid távú memóriára (RTM) vonatkoztak. Molekuláris szinten az RTM a meglévő szinaptikus fehérjék módosítását jelenti (foszforilálás, limitált proteolízis), mint fentebb láttuk. Jól bonyolultabb ennél a hosszú távú memória (HTM), amely az egyed akár egész élettartama alatt fennállhat. Erről azt tartják, hogy a szinapszisok tartós átrendezését igényli, amihez *de novo* fehérjeszintézis szükséges. Az új fehérjék nem feltétlenül újak abban az értelemben, hogy korábban a sejtekben nem voltak jelen, lehetnek a már ismert fehérjék új kópiái is. A HTM-memória során megjelenő fehérjék azonosítása után nagy hajsza folyik a világ vezető laboratóriumaiban.

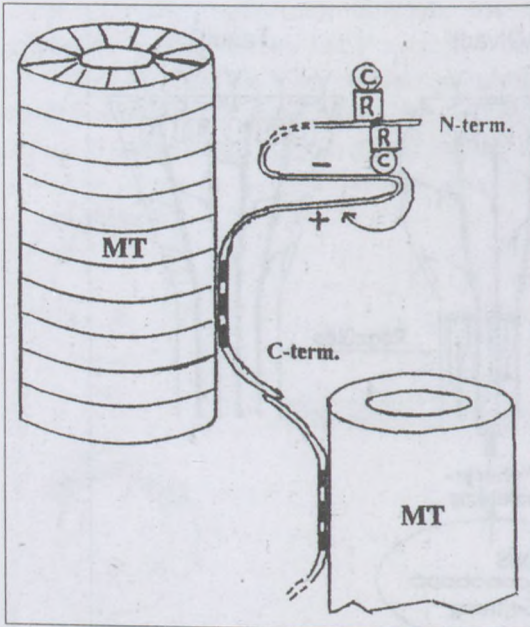
A szinaptikus átrendeződést úgy képzelhetjük el, mint ahogy azt a 6. ábrán leegyszerűsítve bemutatjuk. A „naiv” állapotból a „tanult” állapotba egy köztes, „olvadt” állapoton át jut a szinapszis, amit az ingerlés hatására itt aktiválódó kinázok foszforilációs hatása és a proteázok – így a kalpain –



6. ábra. Posztzinaptikus dendrit-kompartment plasztikus átalakulása

1. Neuronspecifikus fonalszerű fehérje
2. Dendritekben stabilizálja az MT-t, és keresztkötéseket alakít ki más citoskeletális fehérjékkel.
3. Formái:
 MAP2a és b: 200 kDa
 (felnőtt kori) MAP2c: 50 kDa
 (juvenilis; felnőtt bulb. olf.)
 MAP2d: 50 kDa
 (felnőtt, bizonyos neuronok)
4. Morfogén aktivitás, foszforilálás szabályozza.

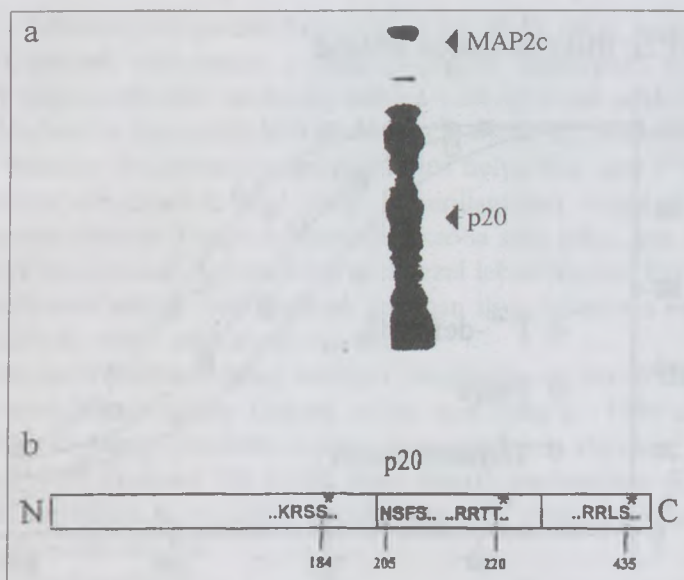
7. ábra. Mikrotubulus-Asszociált Protein2 (MAP2)



8. ábra. Mikrotubulusok és MAP2 kapcsolatai

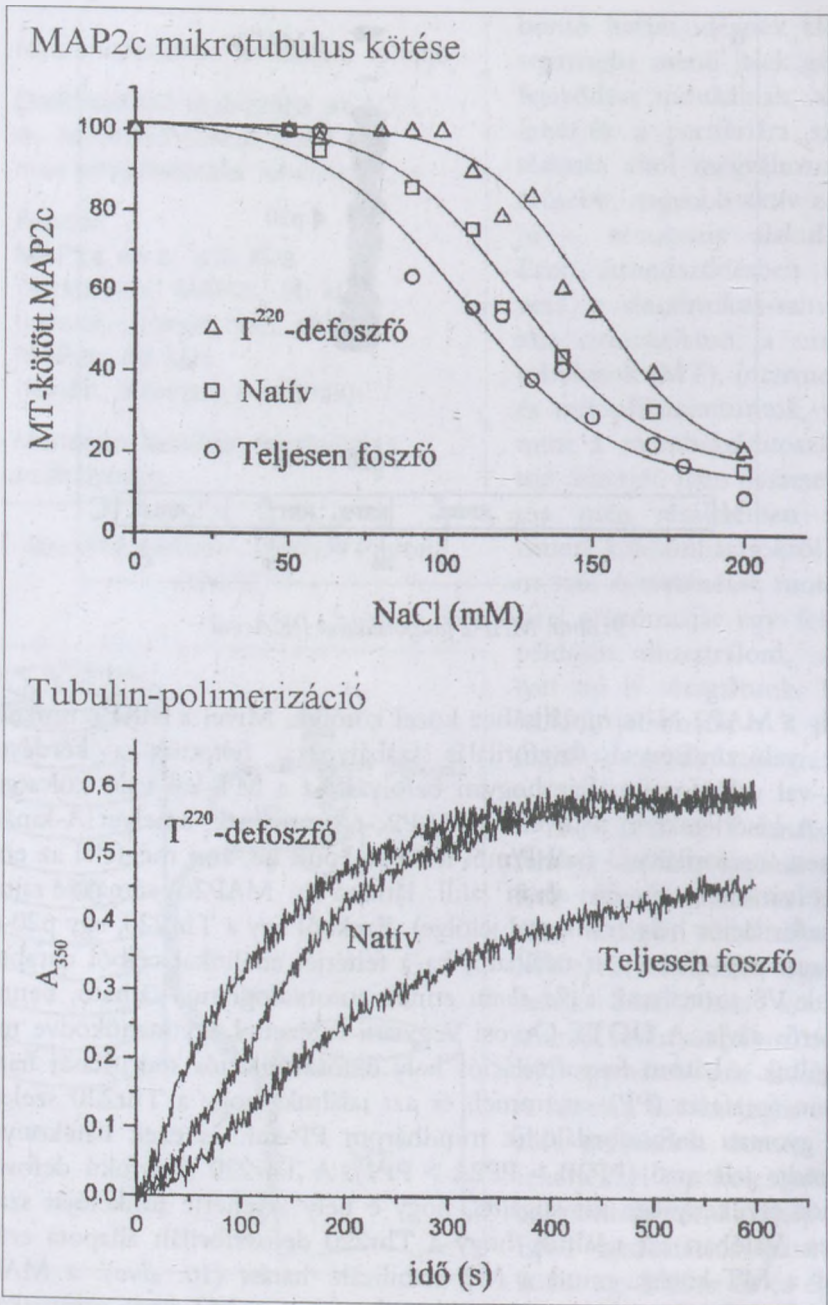
bontó hatása idéznek elő. A sejtmagba menő jelek génszintézisért indukálnak, az új fehérjék a perifériára szállítódnak, ahol megváltozott – erősebb, nagyobb aktív zónájú – szinapszis alakul ki. Ezen átrendeződésben részt vesz a dendritikus-szinaptikus citoskeleton, a mikrotubulusok (MT), intermedier és mikrofilamentumok, valamint a membrán-citoskeleton fehérjei. Igen összetett és ma még részleteiben nem ismert kölcsönhatásokról van itt szó. A történések molekuláris anatómiáját egy fehérje példáján illusztrálom, amelyet mi is vizsgáltunk. Ez a MAP2; jellemzőit a 7. ábrán foglaltam össze, topográfiáját a 8. ábra mutatja.

A MAP2, ez a fonalszerű fehérje, három egymás melletti tubulin-dimérhez kötődik, ezáltal stabilizálja az MT-t, C-terminális vége egy másik MAP2-höz kötődik, aminek révén szabályozható az MT egymástól való távolsága. A hosszú, kacsringósra rajzolt projekciós domén más fehérjékkel lép kölcsönhatásba, mintegy térhálót képezve. Ezen asszociációs partnerek közül egy biztos, és ez éppen a protein-kináz A (szerkezete R₂C₂) regulátor (R) alegysége,



9. ábra. MAP2 foszforilálása PKA-val

amely a MAP2 N-terminálisához közel kötődik. Mivel a MAP2 funkcióját nagy valószínűséggel foszforilálás szabályozza, feltettük a kérdést: a PKA-val való foszforilálás hogyan befolyásolja a MT-kal való kölcsönhatást? A kísérletekben a juvenilis MAP2c-t használtuk, amelyet A-kinázzal teljesen foszforilálva 3 mól P/mól MAP2c épült be, ami megfelel az elméleti elvárásnak. A 9b ábrán alul látható a MAP2c sémája, rajta a 3 foszforilációs hely (csillaggal jelölve). Ezekből egy a Thr220, egy p20-nak nevezett peptidben volt található, ha a fehérjét analitikai célból darabokra vágtuk V8 proteázzal; a 9a ábrán ennek autoradiogramja látható, benne a p20 erős sávja. A DOTE Orvosi Vegytani Intézettel együttműködve megvizsgáltuk a három foszforilációs hely defoszforilációs specificitását három protein-foszfataz (PP) enzimmal, és azt találtuk, hogy a Thr220 szelektíven, gyorsan defoszforilálódik mindhárom PP-vel, és ezek hatékonysági sorrendje jellemző (PP2B > PP2A > PP1). A Thr220 nagyfokú defoszforilációs érzékenysége azt sugallta, hogy e hely a fehérje funkcióját szabályozza. Valóban azt találtuk, hogy a Thr220 defoszforilált állapota erősíti mind a MT-kötést, mind a MT-stabilizáló hatást (10. ábra): a MAP2c Thr220-defoszfo alakban szorosabban kötődött a MT-hoz, mint akár a natív, akár a teljesen foszforilált fehérje, és a három közül ennek volt leg-

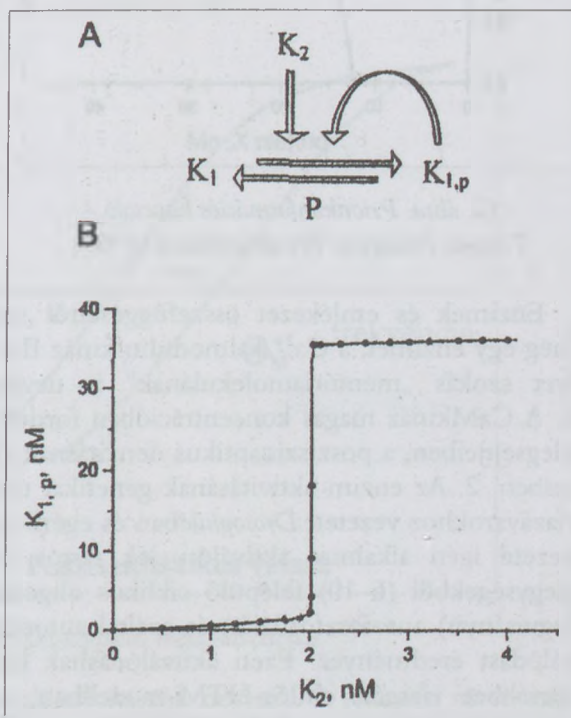


10. ábra

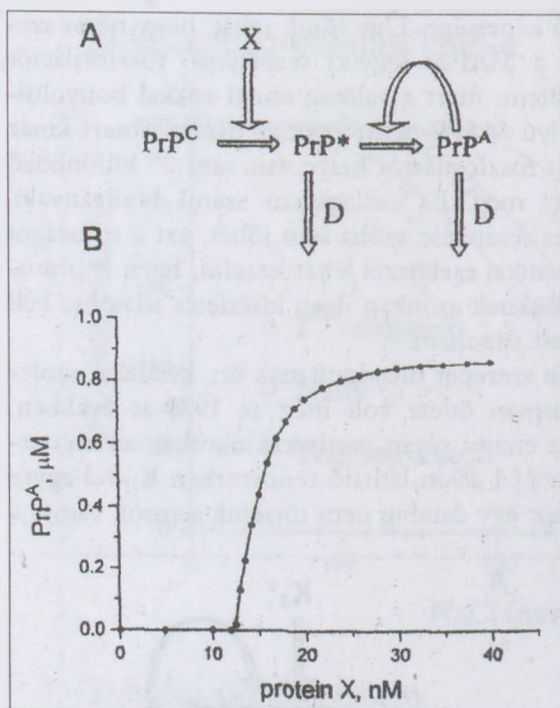
erősebb a tubulin-polimerizáló képessége. Úgy tűnik tehát, hogy némi szerencsével sikerült azonosítani a MAP2c (egyik) szabályozó foszforilációs helyét. A szerencsét azért említem, mert a valóság ennél sokkal bonyolultabb, különösen a nagy mólsúlyú MAP2-nél: ennek az összes ismert kináz számára mintegy 80 potenciális foszforilációs helye van, ami 2^{80} különböző foszforilációs mintázatnak felel meg. Ez csillagászati szám! Nyilvánvaló, hogy minden változat kísérletes tesztelése szóba sem jöhet, ezt a sokaságot csak valamilyen *in silico*, informatikai eszközzel lehet kezelni. Ezen számítógépes szerkezet-funkció analíziseknek azonban ilyen kísérletes adatokra kell támaszkodniuk, mint amit most vázoltam.

A HTM-mechanizmusokban szerepet tulajdonítanak ún. kétállású molekuláris kapcsolóknak. John Lisman ötlete volt még az 1980-as években, hogy két kináz és egy foszfatáz enzim olyan rendszert alkothat, amely tartós jelrögzítésre alkalmas. Ha a 11A ábrán látható rendszerben K_2 -vel egyre erősebben aktiváljuk K_1 -et, akkor egy darabig nem történik semmi, vagyis a rendszer visszatér alapállapotához: maradandó K_1 -aktiválás nincs. Egy bizonyos küszöbérték felett viszont K_1 teljesen aktívvá válik, és további ingerlés nélkül aktív marad (11B ábra). Az ilyen irreverzibilis kapcsolók eszközei lehetnek egy szinapszis tartós felerősödésének.

A fentivel analóg, hosszú távú konformációs kapcsolóként működhetnek a prionfehérjék (12. ábra). Mint ismeretes, a prionok okozzák a szivacsos agyvelőgyulladást, úgy, hogy az agyszövetben saját génjeinkről termelődő ártalmatlan fehérje autokatalitikus szerkezetváltozáson megy át, minek révén az agyra toxikus anyaggá válik.



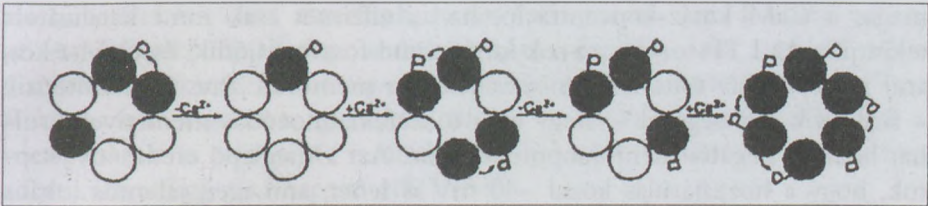
11. ábra. Autofoszforilációs kapcsoló.
Lisman (1985) nyomán



12. ábra. Prionkonformációs kapcsoló.
Tomba, Friedrich: Neuroscience (1998)

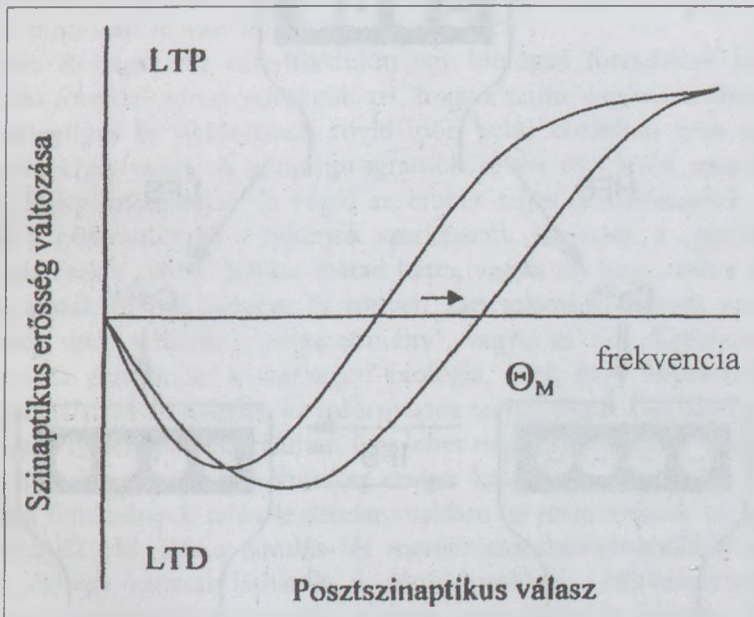
Enzimek és emlékezet összefüggéseiről szólván, meg kell említenem még egy enzimet, a Ca^{2+} /kaldmodulin kináz II-t (röviden: CaMkináz), amelyet szokás „memóriamolekulának” is nevezni. Ennek több oka van: 1. A CaMkináz magas koncentrációban fordul elő az emlős-hippocampus-idegsejtjeiben, a poszt-színaptikus denzitásnak (PSD) nevezett fehérjeegyüttesben. 2. Az enzim aktivitásának genetikai úton való megzavarása memóriazavarokhoz vezetett *Drosophilában* és egérben egyaránt. 3. Az enzim szerkezete igen alkalmas aktiváló jelek tartós tárolására (13. ábra): azonos alegységekből (6–10) felépülő ciklikus oligomer, ami az alegységek közti (egyirányú) autofoszforylálást és ezáltal autonóm (Ca^{2+} -tól független) aktiválódást eredményez. Ezen aktiválódásnak kulcsszerepet tulajdonítanak a legtöbbet vizsgált emlős-HTM-modellben, a *hosszú távú potenciózásban* (*long-term potentiation, LTP*). Ennek lényege, hogy a hippocampus bizonyos szinapszisaiban nagyfrekvenciás ingerlés után a szinapszis erőssége tartósan megnő. Az ingerlés során a CaMkináz aktiválódása ioncsatornák foszforylál-

Feltételezik, hogy a prionok nemcsak patológiás, hanem élettanilag fontos szerkezeti módosulatként is léteznek. Az előző foszforylációs molekuláris kapcsolóhoz nagyon hasonló viselkedésű konformációs kapcsolóként működhetnek HTM-folyamatokban. Mivel az idegsejtek külső felszínén található, szerepük lehet a sejt-sejt kapcsolat kialakulásában. Érdekes módon a prionhiányos (knock-out) egér normálisan fejlődik, ámde felnőttkorban memória-funkciói károsodtak. Bár a prionok ilyen szerepe spekulatív, cikkünket a *Neuroscience* folyóirat elfogadta, és ismét 250 dollárral honorálta. Amit mégiscsak jobb kapni, mint agylágyulást.



13. ábra. CaMkináz autofoszforilációja az oligomer szerkezetben

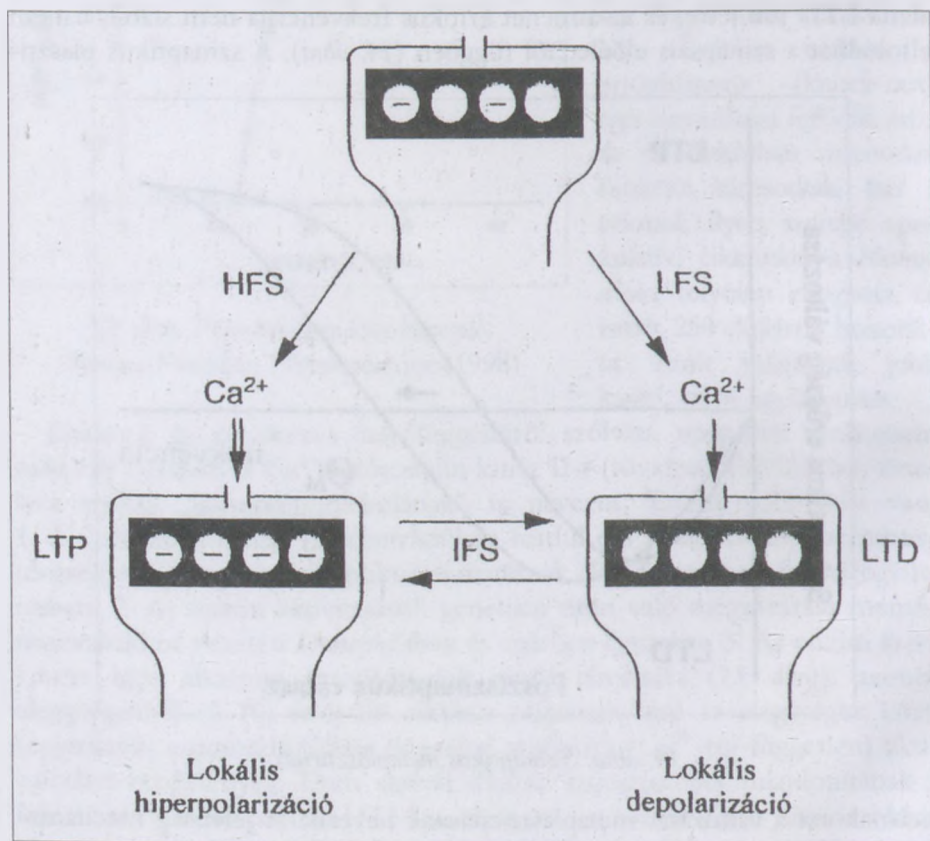
ciójához és aktiválódásához vezet. Azt is tudjuk azonban, hogy alacsony-frekvenciás ingerléssel az LTP ellentétje, *hosszú távú depresszió (LTD)* alakítható ki. Valójában van egy kritikus frekvencia (Θ_M), amely fölött LTP, alatta LTD jön létre, és az átmenet kritikus frekvenciája nem stabil, hanem eltolódhat a szinapszis előéletétől függően (14. ábra). A szinaptikus plasztici-



14. ábra. Szinaptikus metaplaszticitás

itásnak ezt a változását metaplaszticitásnak nevezik. A jelenség mechanizmusa nem ismert. Mi legutóbb egy meglehetősen eretnek magyarázattal álltunk elő, amennyiben a CaMkináznak katalitikus hatása mellett szerkezeti szerepet is tulajdonítottunk. A hippocampus-PSD-ben rendkívül

magas a CaM kináz-koncentráció, ha az enzimet csak mint katalizátort tekintjük. Az LTP során ez a sok kináz mind foszforilálódik, és CaM-t köt, ami nagy negatív töltésfelhalmozást jelent a membrán alatt. Kiszámítottuk – fizikusok segítségével –, hogy ez a töltésfelhalmozódás mennyivel járulhat hozzá a negatív membránpotenciálhoz. Azt a meglepő eredményt kaptuk, hogy a hozzájárulás közel -40 mV is lehet, ami igen jelentős lokális hiperpolarizációt jelent. Ez viszont plauzubilis mechanizmust sugall a metaplaszticitásra (15. ábra). Alapállapotban a CaMkináz a PSD-ben közepesen foszforilált. Nagyfrekvenciás ingerlés és erős Ca^{2+} -beáramlás hatására az autofoszforilálás teljessé válik, ami lokális hiperpolarizációt okoz, tehát ellene dolgozik a további aktiválódásnak. A másik ágon, ha alapállapotban



15. ábra. Szinaptikus metaplaszticitás modellje PSD-ben.
 Tompa, Friedrich: Trends Neurosci (1998)

alacsony frekvenciával ingerlünk, kevés Ca^{2+} jut be, ami a kináz helyett az érzékenyebb foszfatázt, a kalcineurint aktiválja, ami viszont teljes CaMkináz-defoszforilációt okoz: ezáltal lokális depolarizáció áll elő. Közti frekvenciával ingerelve így egyik állapot a másikba átalakítható, ami a metaplaszticitás jelenségét is értelmezi: egy adott frekvenciájú ingerlésre adott válasz függ a szinapszis előéletétől.

*

Tisztelt Hallgatóság, úgy érzem, már kellőképp visszaéltem türelmükkel. Nem beszélek ezért arról a munkánkról, amely a Ca^{2+} -jeleket dekódoló enzimekről szól. Amit elmondtam, így is eléggé szerteágazó volt. Aki netán nem tudta követni, pedig szeretne volna, annak tisztelettel tanácsolom, hogy szerezze be *A tanulás és memória molekuláris biológiája* című kismonográfiát (Friedrich, 1999), ami magyar nyelvű egyetemi jegyzet graduális és posztgraduális hallgatók számára, a múlt év végén jelent meg, és amiben mindez pontosan le van írva.

Kedves Kollégák, az ezredfordulón egy biológiai forradalom küszöbén állunk, ha forradalomnak nevezzük azt, hogy a szinte exponenciálisan gyorsuló adatgyűjtés és -feldolgozás rövid időn belül korábban nem sejtett új felismerésekhez vezet. A genomprogramok révén rövidesen megismerjük néhány kulcs-organizmus és végül az ember teljes génállományát, megismerjük a géntermékek, a fehérjék szerkezetét. Ismerjük a „játékosokat”, most már csak a „játék” leírása marad hátra, vagyis az, hogy mikor ki van a pályán, annak melyik részén, és milyen kapcsolatokba lépnek egymással, amíg meg nem születik a „végeredmény”, vagyis az élet. Ezekben segít a funkcionális genomika, a szerkezeti biológia, ezek nagy teljesítményű és tömegvizsgálatokra alkalmas, az információs technológiát kiaknázó módszerei, amikor ismert példák nyomán úgy lehet majd „kísérletezni”, igen gyorsan *in silico*, hogy nem lesz vizes az ember keze.

Ezek a fejlemények talán leglátványosabban az idegrendszer megismerését mozdítják elő. Bár a tanulás- és memóriamechanizmusokból ma még csak a jéghegy csúcsai láthatók, a géntechnológiai, szerkezetvizsgáló és informatikai fejlesztések nyomán e téren gyors haladás várható. Mindezt kiegészítve a leképzés, az időben követő képalkotás egyre nagyobb felbontású technikáival, bizvást mondhatjuk, hogy a 2000-ben véget érő Az Agy Évtizede inkább most kap igazi lendületet.

Irodalom

- Pintér, M. and Friedrich, P.: The calcium-dependent proteolytic system calpain-calpastatin in *Drosophila melanogaster*. *Biochem. J.*, 1988, 253, 467–473.
- Friedrich, P.: Protein structure: The primary substrate for memory. *Neuroscience*, 1990, 35, 1–7.
- Aszódi, A., Müller, U., Friedrich, P. and Spatz, H.-Ch.: Signal convergence on protein kinase A as a molecular correlate of learning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 5832–5836.
- Pintér, M., Stierandova, A. and Friedrich, P.: Purification and characterization of a Ca^{2+} -activated thiol protease from *Drosophila melanogaster*. *Biochemistry (USA)*, 1992, 31, 8201–8206.
- Theopold, U., Pintér, M., Daffre, S., Tryselius, Y., Friedrich, P., Nassel, D. R. and Hultmark, D.: *CalpA*, a *Drosophila* calpain homolog specifically expressed in a small set of nerve, midgut, and blood cells. *Mol. Cell. Biol.*, 1995, 15, 824–834.
- Tompa, P., Schád, É., Baki, A., Alexa, A., Batke, J. and Friedrich, P.: An ultrasensitive, continuous fluorimetric assay for calpain activity. *Anal. Biochem.*, 1995, 228, 287–293.
- Alexa, A., Tompa, P., Baki, A., Vereb, G. and Friedrich, P.: Mutual protection of microtubule-associated protein 2 (MAP2) and cyclic AMP-dependent protein kinase II against μ -calpain. *J. Neurosci. Res.*, 1996, 44, 438–445.
- Baki, A., Tompa, P., Alexa, A., Molnár, O. and Friedrich, P.: Autolysis parallels activation of μ -calpain. *Biochem. J.*, 1996, 318, 897–901.
- Tompa, P., Baki, A., Schád, É. and Friedrich, P.: The calpain cascade: μ -calpain activates m-calpain. *J. Biol. Chem.*, 1996, 271, 33161–33164.
- Tompa, P. and Friedrich, P.: Prion proteins as memory molecules: an hypothesis. *Neuroscience*, 1998, 86, 1037–1043.
- Tompa, P. and Friedrich, P.: Synaptic metaplasticity and the local charge effect in postsynaptic densities. *Trends Neurosci.*, 1998, 21, 97–102.
- Jékely, G. and Friedrich, P.: Characterization of two recombinant *Drosophila* calpains. CalpA and a novel homolog CalpB. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 23893–23900.
- Jékely, G. and Friedrich, P.: The evolution of the calpain family as reflected in paralogous chromosome regions. *J. Mol. Evol.*, 1999, 49, 272–281.
- Friedrich P.: *A tanulás és memória molekuláris biológiája*. Egyetemi jegyzet. Akaprint, Budapest, 1999, 91 p.
- Wronski, R., Tompa, P., Hutter-Paier, B., Crailsheim, K., Friedrich, P. and Windisch, M.: Inhibitory effect of a brain-derived peptide preparation on the intracellular Ca^{2+} -dependent protease. *J. Neural. Transm.*, 2000, 107, 145–157.

SZÉKFOGLALÓK

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIAÁN 1995–1998

I–II. KÖTET

- Bartók Mihály: Térkémiai tényezők szerepe a fémkatalízisben
Bárdossy György: A radioaktív hulladék hazai elhelyezésének földtudományi alapjai
Farkas Tibor: Membránfoszfolipidek molekuláris összetétele és a testhőmérséklet
Ferge Zsuzsa: A civilizációs folyamat fenyegetettsége
Freund Tamás: Agykérgi neuronhálózatok szerkezete és működése
Görög Sándor: A gyógyszeranalitika szépségei
Hanák Péter: Modernizáció és antikapitalizmus Magyarországon
Horváth József: Növényvírusok *in vivo*
Ihász Mihály: A pepticus fekélyek korszerű sebészi kezelése
Kákosy László: Théba a Ptolemaiosz- és a római korban
Kálmán Alajos: Barangolások kristályrácsokban
Kulcsár Szabó Ernő: Költészet és dialógus
Kúnos György: Opio-melanokortin peptidek szerepe a vérkeringés agyi szabályozásában
Lipták András: Fehérje-szénhidrát kölcsönhatások
Makkai Mihály: A kategóriaelmélet szerepe a matematika megalapozásában
Marosi Sándor: A földrajzi táj kutatások összetettsége és alkalmazhatósága
Meskó Attila: Környezettudomány, környezeti geofizika
Mehes Károly: Régi és új módszerek az orvosi genetikában
Palánkai Tibor: Az integráció mérésének néhány elméleti-stratégiai kérdése
Pálincás Gábor: Molekuláris oldatkémia
Palkovits Miklós: Agypályák – idegi hálózatok
Reményi Károly: Paradoxonok a tüzeléstechnikában
Rézler Gyula: Az arbitráció szociológiája
Róna-Tas András: Honfoglalás és népalakulás a középkori Eurázsiaiban
Sajó András: A jogosultságok lehetősége
Sárközy András: Hibrid problémák a számelméletben
Solymos Rezső: Az erdészeti, fatermesési és erdőnevelési kutatások eredményei és alkalmazásuk az erdőgazdasági gyakorlatban (1958–1998)
Somfai László: Kottakép és műalkotás
Szabadváry Ferenc: Magyar tudománytörténeti tabló, előtérben a kémia
Szakály Ferenc: Török kori történelmünk kritikus kérdései
Teplán István: Antitumor aktivitású peptidek
Terplán Zénó: A gépszerkezettanról
Tóke László: Szupramolekuláris kémia; koronaéterek
Venetianer Pál: A génszabályozás műszerei: a restrikciós-modifikációs enzimek
Vékás Lajos: A szerződési szabadság alkotmányos korlátai
Vicssek Tamás: A természet geometriája
Zimányi József: A maganyagtól a kvarkanyagig a nehézion-fizikában

SZÉKFOGLALÓK 1995–1998, III–V. kötet

- Árkaí Péter: A regionális metamorfózis és jelentősége a Kárpát-medence kéregfejlődésében
- Bauer Győző: Az oxidatív stressz és az antioxidánsok hatása a simaizomszövetekre
- Bérces Tibor: A nyokreakciók sokszínű világa: a reakciók kinetikája és termokémiaja
- Brassai Zoltán: Légutagkeríngési zavarok új kezelési lehetőségei
- Csányi Vilmos: Viselkedés, környezet, gének – etológiai tanulmányok
- Dohy János: Biotechnológia és állatnemesítés – új eredmények, kihívások, kilátások
- Fonyó Zsolt: Integrált vegyipari rendszerek folyamatszintézise
- Friedrich Péter: Fehérjék, enzimek, emlékezet
- Gáspár Zsolt: A számítógépek hatása a tartószerkezetek mechanikájára
- Géczy Barnabás: Kontinuitás, krízis, katasztrófa az ammoniteszek torzsejtlődésében
- Grätzer György: Hálóelméleti függetlenségi tetelek
- Harmathy Attila: A magyar polgári jogról 1999-ben
- Haszpra Ottó: Néhány hidraulikai probléma a vízepítésben
- Hatvani László: Differencialegyenletek megoldásainak stabilitási tulajdonságai
- Heszky László: Morfogenezis haploid és szomatikus sejtekből in vitro
- Hollósi Miklós: Kiroptikai spektroszkópia: változatok egy témára
- Honti László: Az uráli/finnugor „ösnnyelű”ről
- Horváth János: Disztribúciók és topológikus vektorterek
- Kiss Lajos: Az új európai víznévkutatás
- Kosa László: A magyar néprajz 1945 után
- Kristó Gyula: Előd
- Lámfalussy Sándor: Szerkezeti változások az európai pénzü piacon
- Lőrincz Lajos: Összehasonlítás a közigazgatás kutatásában
- Major György: Napsugárzás a légkörben és a felszínen
- Nagy Béla: A háziállatok enterális colibacillosisai
- Nagy Elemér: A klasszikus fizikától az anyagtudományig
- Nagy István: Változó strukturájú nemlineáris rendszerek
- Nagy Tóth Ferenc: Fényhatásvizsgálat egysejtű zöldmoszatokon
- Náray Szabó Gábor: Elektrosztatikus katalízis
- Németh Judit: A nehézion-fizika és asztrifikai alkalmazásai
- Orbán Miklós: Kémiai periodicitás időben és térben
- Papay József: Föld alatti gázterelés porózus kőzetekben
- Papp László: A legyek ritkaságáról
- Peter Mihály: Néhány gomba- és baktériumfaj viselkedése a létfeltételek alsó határán
- Petrányi Győző: A suppresszív immunreguláció alkalmazása a transzplantáció és a reprodukció immunológia klinikai gyakorlatában
- Pléh Csaba: A relativizmus kérdései és a mai pszicholingvisztika
- Salamon Miklós: Kőzetmechanika fejlődése – egyéni szemszögből
- Sitkei György: A talaj-kerék kapcsolat néhány elméleti kérdése
- Spät András: A kalcium jel és a mitokondrium működése
- Szabad György: A parlamentáris kormányzati rendszer megteremtése, védelmezése és kockáztatása Magyarországon (1848–1867)
- Szabó András: Alkotmány és büntetőjog
- Szabó Miklós: Tumultus Gallicus
- Szegedy Maszák Mihály: A Nyugat és a világirodalom
- Szentes Tamás: Fejlődés, rendszerváltás és versenyképesség a globalizálódás korában
- Tóth Klára: Szelektív érzékelők jelentősége a kémiai analízisben
- Uray Zoltán: Sugársérülések mérseklése kémiai és biológiai anyagokkal
- Várallyay György: Talajfolyamatok szabályozásának tudományos megalapozása
- Varga János: Földeskü
- Vaskovics László: Társadalmi modernizáció és a szülői szerepváltás összefüggései
- Vétes Attila: Fullerénvegyületek Mössbauer-spektroszkópiája
- Vizkelety András: A Leuveni Kódex magyar scriptorai
- Zalai Ernő: Neumann János: klasszikus vagy neoklasszikus?