

DAMJANOVICH SÁNDOR

Lehet-e molekulára csomót kötni?

A biofizika eszköztárának szerepe
a jövő orvostudományában



Damjanovich Sándor
biofizikus
az MTA rendes tagja

1936-ban született Mátészalkán. 1960-ban szerzett orvosi diplomát a Debreceni Orvostudományi Egyetemen, majd 1963–1967 között fizikai tanulmányokat folytatott a debreceni Kossuth Lajos Tudományegyetemen. 1968-ban a biológiai tudomány kandidátusa, 1976-ban akadémiai doktora lett; 1982-től az MTA levelező, majd 1990-től rendes tagja.

Pályáját a DOTE Kórélettani Intézetében kezdte, 1968-tól a Debreceni Egyetem Biofizikai és Sejtbiológiai Intézetének igazgatója. 2002-től a Debreceni Egyetem Molekuláris Medicina Központjának igazgatója. Számos alkalommal volt vendégprofesszor neves külföldi kutatóintézetekben: a göttingeni Max Planck Biofizikai Kémiai Intézetben, az USA Nemzeti Egészségügyi Intézetében (NIH) és a San Franciscó-i Egyetemen. Tagja az Európai Molekuláris Biológiai Szervezetnek (EMBO). Több nemzetközi folyóirat, így az *European Biophysical Journal* szerkesztőbizottságának tagja.

Főbb kutatási területei: a sejtmembránok szerkezete, a sejt-felszíni receptorok és ioncsatornák szerepe az immunológiában, transzmembrán jelátvitel, lézerfizikai módszerek alkalmazása a sejtbiológiában.

Az orvostudomány szinte csodákra képes, ugyanakkor egyszerűnek látszó problémákat is nehezen tud megválaszolni – ilyen problémák például az allergiás betegségek, a szervátültetés után a szervezet védekezése miatti károk megelőzése vagy az úgynevezett autoimmun-betegségek. Általános problémát jelent az orvostudományban, hogy a gyógyszereink a szervezetben nem csak oda jutnak el, ahova kívánatos lenne, s így komoly betegségekkel felérő mellékhatásokat váltanak ki. Lehet-e a gyógyszereinket célra orientáltan oda küldeni, ahol valóban szükség van a hatásukra? Ennek eléréséhez feltétlenül szükség van a modern biofizika eszköztárára, mely lehetővé teszi egyedi molekulák vizsgálatát, felismerését és manipulálását.

Bevezetés

Korunk egyik leggyorsabban, ha ugyan nem a leggyorsabban fejlődő tudományágát képezzik az élettudományok. Az emberi, az állat- és növényvilág megismerése, sőt manipulálása a természettudományok szinte minden ágát felhasználva éri el ezt a kivételes helyzetet.



Sejtmembrán:

a sejteket a külvilágtól elválasztó, változatos összetételű lipid-kettősréteg, melyben fehérje-molekulák helyezkednek el. Ezek a membránfehérjék nem mind érnek át a membránon, de számos olyan membránfehérje is van, amely a sejt belsejébe is benyúlik, és így a sejt környezete és a sejt belseje közötti híreket, üzeneteket közvetítő elemnek is tekinthető. A sejtmembrán szabályozza a sejtekbe bejutó fizikai és kémiai jeleket. A sejtmembrán külső és belső oldala között körülbelül 100 mV feszültségkülönbség van. Ezt nevezzük membránpotenciálnak, amelynek megváltozása önmagában is jelzés lehet a sejt számára. Különösen igaz ez az állítás izom- és idegsejtekre.

Mikrodómén:

a sejtmembrán körülhatárolt kicsiny része, melynek lipid-összetétele meghatározott, és ettől is függően különböző fehérje természetű receptorok együtt-tartására is alkalmas.

Receptorok:

„jelfogó” membránfehérjék, amelyek a membránon keresztüli jelátvitelben játszanak főszerepet. A sejtek ezen jelzések hatására tudnak megfelelően válaszolni a külvilág ingeire. A receptorok képesek elindítani fizikai és kémiai válaszsorokat, amelyek a sejt fajtájától és a receptor típusától függően a sejtek növekedésével, osztódásával, differenciálódásával vagy pusztulásával is járhatnak, és kiválthatják a sejtek védekező vagy támadó reakcióit.

Ennek ellenére az orvostudományról valahogy az a benyomása még az intellektuálisan képzett embereknek is, hogy minden erőfeszítés ellenére nem igazán tud megoldani viszonylag egyszerűnek látszó problémákat. Bár a szervezet védekezőképességének apró – molekuláris – részleteit is ismerjük, mégsem tudunk igazán érdemben védekezni például annak túlműködése ellen. Az allergia kezelése, a szervátültetések következményeinek az elkerülése a nagy erőfeszítések ellenére látszólag csigalassúsággal halad előre. Ugyanakkor a molekulák, sejtek kutatói látszólag „felhasználhatatlan” adatok sokaságát gyűjtik össze fáradtságos és esetenként a társadalomnak igen sokba kerülő munkával.

Molekulára csomót kötni, mint majd kiderül, roppant nehéz, de lehetséges. Felmerül azonban a kérdés: jó, de minek? Mi szükség van erre az abszurdnak és haszontalannak tűnő ötletre? Mire költik az adófizetők pénzét a kutatók? Játék mindez, vagy/és komoly kutatás, melynek haszna felbecsülhetetlen?! Történetünk végére kiderül, hogy látszólag teljesen értelmetlen „játékok” segítenek bennünket abban, hogy veszedelmes betegségeket teljesen új módszerekkel gyógyíthasson az orvostudomány.

Ahhoz, hogy mindez a széles hallgatóság számára is érthető és elfogadható legyen, szíves türelmükre van szükség, hogy végigkövessenek néhány olyan történetet, amelyek látszólag semmilyen kapcsolatban nincsenek a betegségek gyógyításával. Végül azonban remélhetőleg kiderül, hogy ezek a történetek máris korunk orvostudományának sikertörténetei, s a jövőben még nagyobb eredményekkel kecsegtetnek.

Mindenekelőtt meg kell ismerkednünk a sejtbológia néhány egyszerű szabályával. Ezeknek a segítségével tudjuk majd azokat a varázsgolyókat bemutatni, amelyekkel a beteg sejteket – és jobbra csak a beteg sejteket – találjuk el, sokkal kisebb kárt okozva ezáltal az ép sejteknek.

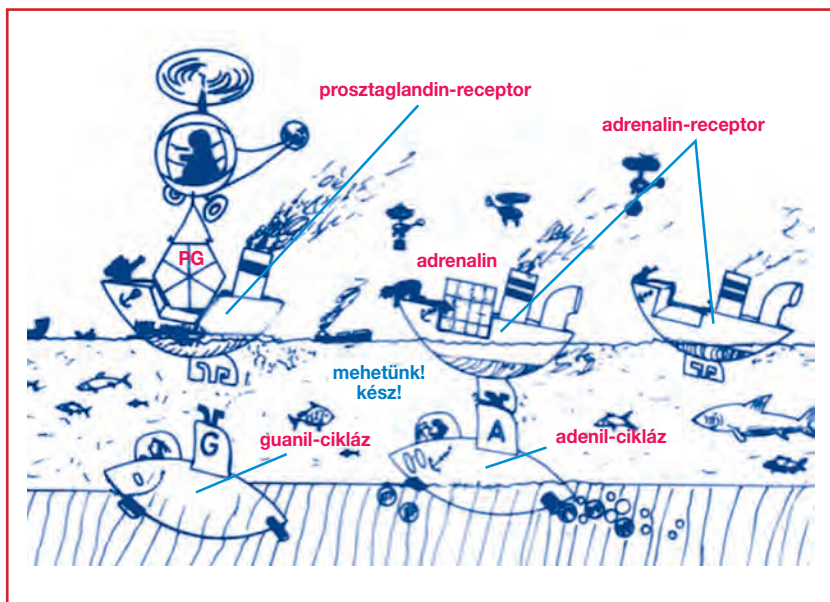
A sejtek és a sejtfelszíni molekulák világa

A sejtbológia korunk egyik legfontosabb és legérdekesebb tudományága, amely azonban annyira összefonódott a molekuláris biológiával, hogy – némi túlzással – sokszor nem is teszünk különbséget a két tudományág között.

Ismerkedjünk meg a sejtekkel és azok legelőször elérhető részével, a **sejtmembránnal**.

A szervezet legkisebb önálló egységei a sejtek. Felszínük, a plazmamembrán sokat elárul a sejtek előéletéről és további sorsáról. A sejtek membránja „találkozik” a külvilággal és reagál annak hatásaira. Az egyes sejt számára a legközelebbi szomszéd sejt is külvilágnak számít. Tehát érdemes a plazmamembrán és a környezet kölcsönhatásait megismerni.

A sejtek felszíne tartalmazza a sejtek genetikai állományából fakadó molekuláris információkat, melyeket összehasonlít a környezet információival.



Elképzelés a sejtmembránról az 1970-es évekből

A kölcsönhatások révén a sejt felszíne sok titkot elárul, melyeket ha megértünk, fontos adatok birtokába juthatunk.

Ha ezt az információt le tudjuk olvasni a plazmamembránról, akkor el lehet gondolkozni azon, hogy egyes veszélyes sejtektől hogyan lehetne megszabadulni anélkül, hogy a többi sejtet bántanánk. Ahhoz, hogy ezt a célt elérjük, valahogy különbséget kell tennünk egészséges és beteg állapot között.

A szervezet talán legismertebb sejtjei a vörösvértestek a hemoglobin-molekulák segítségével oxigénnel látnak el bennünket, a fehérvérsejtek megvédenek a külvilág támadásaitól, felismerik a baktériumok, vírusok által termelt és más, bennünket elárasztó nemkívánatos idegen anyagokat, és fáradtságos munkával eltávolítják őket.

A sejtek plazmamembránjai zsírnemű anyagokból, úgynevezett lipidek kettős rétegéből állnak, amelybe beágyazva számos fehérjefajta helyezkedik el. Ezek a molekulák cukormolekulákat is tartalmaznak. A lipidrétgenben a fehérjék a lipidek által képzett szigetszerű egységekben, úgynevezett **mikrodómé**nekben foglalnak helyet.

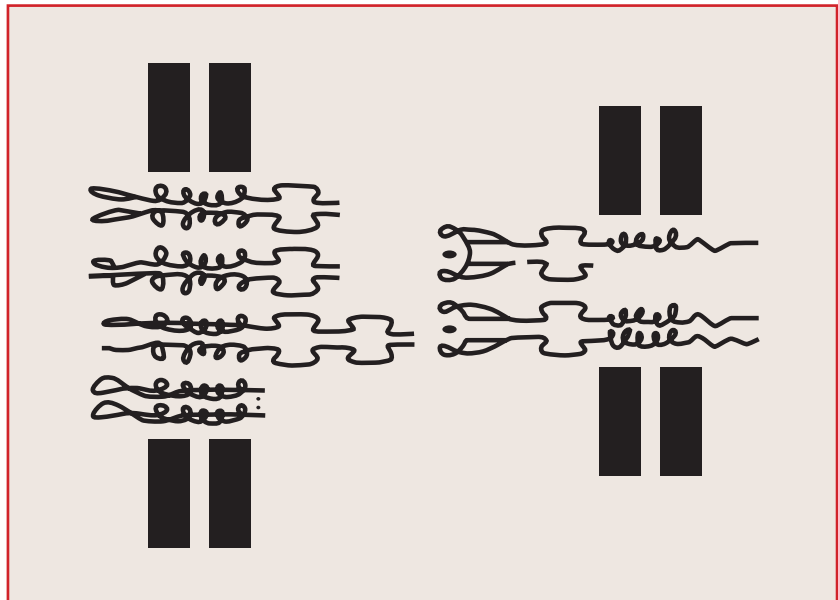
A sejtek felszínén különböző fehérjékből és cukrokból felépülő molekuláris antennák – **receptorok** – helyezkednek el, melyek a külvilágból származó molekulákat kötnek meg nagy specificitással, és a sejtet érő ingernek megfelelő sejtbiológiai válaszokat indítanak el. A receptorok találkoznak először a külvilágból érkező anyagokkal, így a receptorok reakciójától függ, hogyan reagál a sejt a külvilág üzeneteire, ingereire. A receptorok minőségéből, mennyiségéből és egymáshoz viszonyított elhelyezkedéséből gyakran meg lehet állapítani, hogy szervezetünk ezen sejtjei vajon egészségesek vagy betegek, jó- vagy rosszindulatúak. A receptorok tehát információhordozók is (információ az is, hogy egyes receptorfajtákból van-e, és ha van, sejtenként hány van a sejtek felszínén, melyik receptor milyen más receptorral szomszédos stb.), igen sokat képesek elárulni a sejtekről, előéletükről, sőt a sejtek jövőbeni sorsáról is.

Receptor-alegység:

a receptorok gyakran nem a sejtmembránon áthatoló egyetlen molekulából állnak, hanem több molekula együttese képezi a hatékony receptort. Ezekhez a receptorokhoz kötődő molekulák valamennyi alegységgel kölcsönhatásra lépve idézik elő azt a jelet, amely a specifikus sejtaktiváció kiváltásához szükséges. Ezt a folyamatot nevezük transzmembrán jelátvitelnek.



A sejtek plazmamembránjában
gyakori immunglobulin-molekulák
alakja



A későbbiekben szó esik majd arról, hogyan tárhatjuk fel ezeket az információkat, miként olvashatjuk le a sejtek üzeneteit múltjukról, jelenükről és jövőjükéről. Azt azonban már itt megjegyezzük, hogy a sejtmembrán külső és belső oldalán az ion (kálium, kalcium, klór stb.)-koncentrációk nem egyenlők, és ez nagy elektromos térerősséget hoz létre az átlagosan 10 nanométer vastagságú membránra merőlegesen. Ez egyenlő azzal, mintha 1 méter távolságra 10 millió volt feszültségkülönbség esne. Ez a feszültség a membrán vastagságának nagyságrendjében csak 100 mV, de ez képes a membránban lévő töltéssel is rendelkező molekulák alakját (konformációját) s ezáltal a sejt működését és reakcióképességét is megváltoztatni.

Hogyan tanulmányozhatjuk a fénymikroszkóppal nem látható parányi receptormolekulákat élő sejteken? A sejtek receptorait fajtánként képesek vagyunk külön-külön megjelölni (és ezáltal azonosítani) eltérő színű festékekkel. A festékmolekulákat a receptorokhoz specifikusan kötődő antitestek (az immunológiából ismert ellenanyag-molekulák) viszik oda, ahova kell. Így a gyakorlatban igen elterjedt modern technológiák segítségével akár egyenként és fajtánként is megszámlálhatjuk a megjelölt receptorokat minden egyes sejt felszínén. Ezekből az aránylag könnyen analizálható jelekből már meglepően sok fontos adatot nyerhetünk. Hány receptor van? Hogyan oszlanak el? Melyik receptor milyen más receptorral szomszédos? Milyen sejten belüli kapcsolatokkal rendelkeznek (tudniillik a receptormolekulák jelentős része átnyúlik a membránon, mintegy beelóg a sejt belsejébe), és hogyan küldik be a sejtek belsejébe azokat az információkat, amelyeket felhasználva a sejtek válaszolnak a környezeti ingerekre, kölcsönhatásokra?

Az elmúlt közel kilencven évben sokféleképpen képzeltek el a sejtek plazmamembránjának szerkezetét és viselkedését. A teljesen merev, majd teljesen képlékeny folyékony mozaikszerkezetek feltételezése után napjainkban az az általánosan elfogadott nézet, hogy lipidszigetek mozaikszerkezete tartja egymás mellett azokat a receptorokat, amelyek együttműködése szükséges a külvilág jeleinek a feldolgozásához.

Egyes rákos megbetegedésekben a beteg sejtek felszínén olyan receptrok jelennek meg, amelyek az egészséges sejtek felszínén nincsenek, vagy csak nagyon kis számban vannak jelen. Máskor a sejtfelszíni receptorok egymással való specifikus kölcsönhatása lehet kórjelző. Tehát a feladat adott. Meg kell vizsgálni a sejtek felszínén található receptormolekulákat, és amennyiben azok bizonyos fajtáinak megjelenése – esetleg más receptoroknak a megfogytározása, a membránban meghatározható eloszlásuk – betegségek bekövetkeztét és az egész szervezet elpusztítását vetíti előre, akkor célzottan el kell pusztítani az ezeken a receptorokon keresztül azonosított sejteket vagy éppen el kell szaporítani egyes receptorfajtákat hordozó sejtpopulációkat (például a beteg sejteket receptoraikról felismerő és elpusztító fehérvérsejteket). Más esetben a megfogytározott, de feltétlenül szükséges molekulák újratermelésének a megindulását kell elérnünk.

A céltáblák tehát adottak, most már „csak” a varázsgolyókat kellene megtalálni, amelyek a megfelelő anyagokat a megfelelő sejtekhez, azaz célba juttatják.

Hogyan vizsgálhatjuk a sejteket és a sejtfelszíni molekulákat?

Az *áramlási citométerben* a sejteket igen keskeny folyadéksugárba kényszerítjük. Ebben a hidrodinamikai trükkökkel létrehozott folyadéksugárban a sejtek mint felfűzött gyöngyök haladnak egymás után, majd lézersugárral kereszteződnek. A lézersugár fénye részben szóródik, részben a sejtek előre megfestett molekuláiból fénykibocsátást vált ki. Ezekből a jelekből meghatározhatjuk a sejtek nagyságát, alakját, a világitó festékekkel történő molekulafestésekből pedig a sejtfelszíni és a sejt belsejében lévő molekulák mennyiségét és minőségét. Egyszerre csak mintegy négy-öt kérdést tehetünk fel, de egymás utáni mérésekkel nagyon sok információt nyerhetünk. Ez ma már rutinvizsgálatnak számít. Egyes molekulafajták különböző festékekkel történő festéséből, illetve a némileg fáradságosabb molekulapáronkénti analízisből megtudhatjuk, hogy melyik molekula mely másik fajtaival fordul elő olyan közeli helyzetben, amelyből kölcsönhatásukra, de legalábbis annak lehetőségére lehet következtetni. Így feltárható a működési egységet képező molekulakomplexek szerkezete.

A *pásztázó lézermikroszkópia* a sejteket igen vékony rétegenként képes megvizsgálni, és az így nyert adatok a sejtek természetéről, jó- vagy rosszindulatú mivoltáról árulkodnak. De ez a módszer csak néhány kiválasztott sejt részletes vizsgálatára alkalmas, míg az áramlási citometria sejtek milliói közül képes kiválasztani akár néhány beteg sejtet, alig néhány perc alatt. A két módszert a korábban elképzelhetetlenül gyors elektronika alkalmazásával próbálják napjainkban kombinálni.

A *korrelációs mérések* megmutatják, hogy két, különböző fluoreszkáló

Fluoreszcencia-korrelációs spektroszkópia:

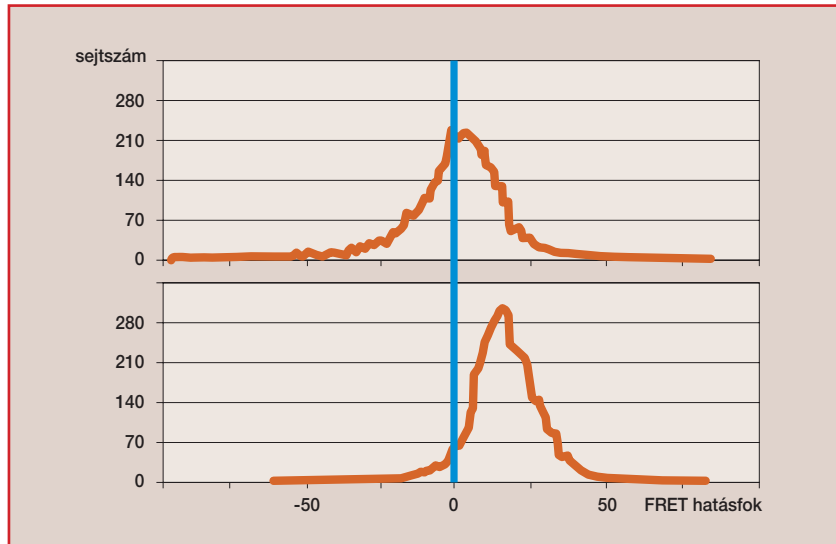
igen kicsi (<1 femtoliter) megvilágított térfogatban diffundáló és a folyadékot elhagyó molekulák fluoreszcenciájának megjelenését és eltűnését figyeljük. Ha egyetlen színnel jelöltünk azonos molekulákat, akkor meghatározható a diffúziós állandójuk. Ha különböző molekulákat jelöltünk különböző színekkel, és a különböző színek együtt fordulnak elő (korrelálnak), akkor kiszámítható a molekulák együttmozgása.

FRET (fluoreszcencia-rezonancia energiatranszfer):

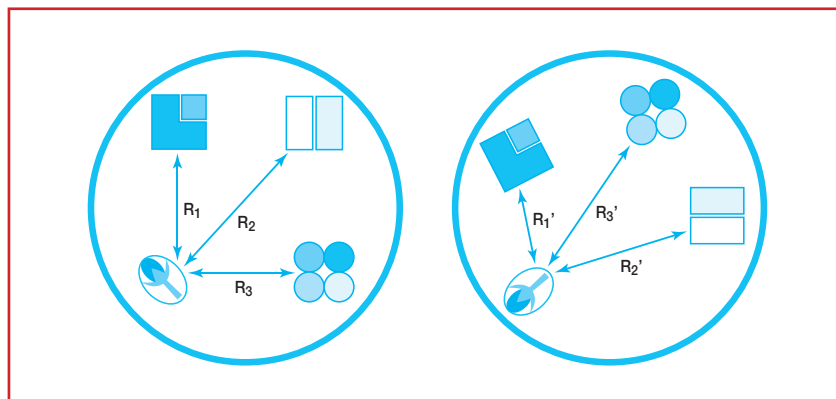
két fluoreszkáló molekula között energiaátadás akkor történik, ha 2 és 10 nanométer távolságon belül vannak. Ezt a távolságfüggő kölcsönhatást úgy lehet megmérni, hogy két különböző színű festékekkel megjelöljük a két molekulát, és az egyik festéket a neki megfelelő spektrumú fényrel gerjesztjük. Amennyiben a másik, festékekkel megjelölt molekula elég közel van, akkor az fog fényt kibocsátani. A gerjesztő fény energiája nem az eredetileg megvilágított, hanem a mellette lévő festék színében fog megnyilvánulni.



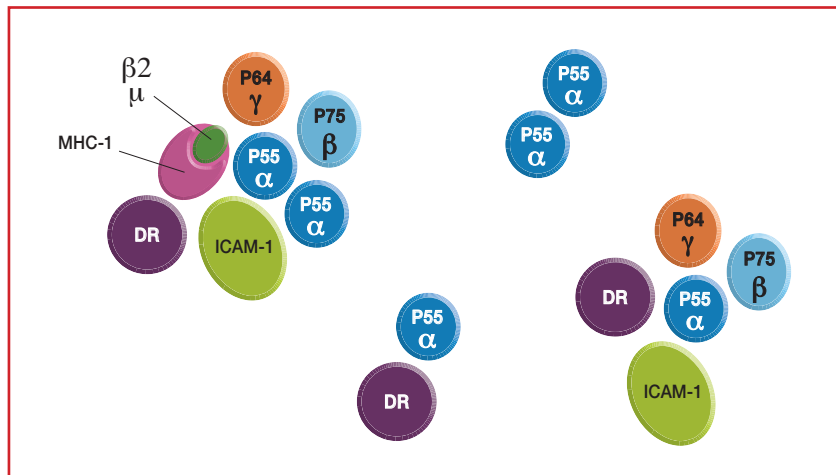
Molekulák közötti távolsággal összefüggő paraméter eloszlása sejtpopulációkban



Receptormintázat megváltozása



Különböző receptorfajták eloszlása a plazmamembránban



festékekkel megfestett molekula vajon együtt mozog-e, hiszen ez szoros együttműködésükre képes felhívni a figyelmet.

Az atomerő- és pásztázó közeli mezőmikroszkópiák a fénymikroszkóp feloldását megszügyenítő molekuláris feloldást tesznek lehetővé, anélkül hogy az elektronmikroszkópban kötelezően alkalmazandó légyeres teret, vákuumot kellene használni.

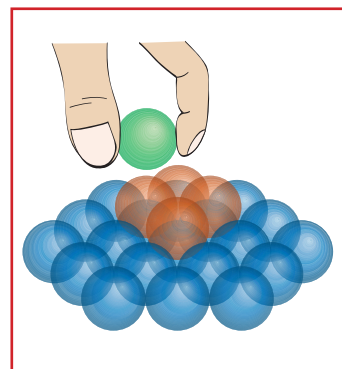
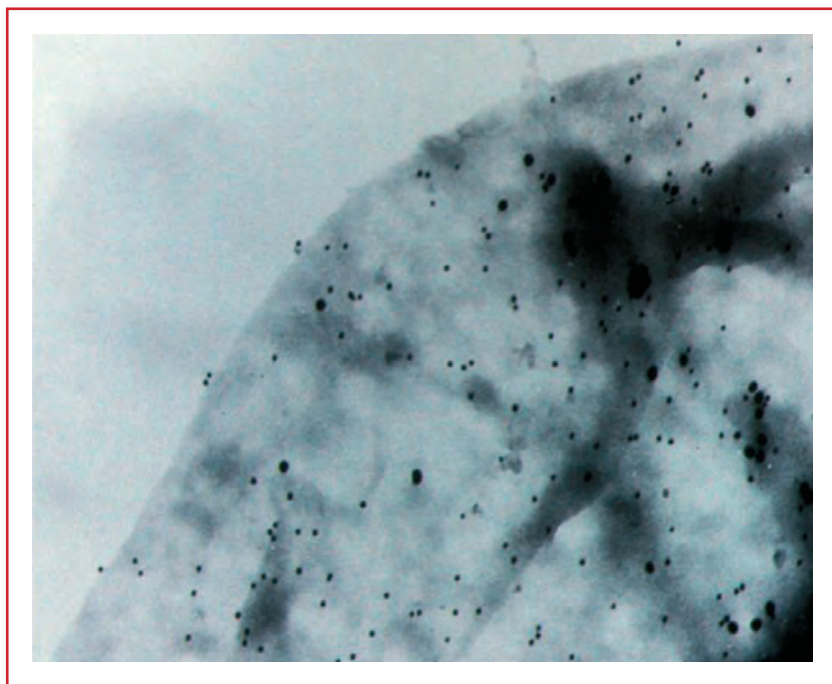
Az atomerő-mikroszkópot Gerd Binnig találta ki, azon két zseniális kutató egyike, akik a pásztázó alagúteffektuson alapuló mikroszkóp bevezetéséért Nobel-díjat kaptak (Heinrich Rohrer és Gerd Binnig, 1986), és ezzel Binnig lehetővé tette egyedi molekulák természetesebb körülmények közötti vizsgálatát is.

Egyes kristályok **piezoelektromosság** révén változtatni tudják a hosszúságukat. Ennek a tulajdonságnak a segítségével olyan 3D-ben mozgó piezoelektromos pásztázó berendezéseket lehet létrehozni, amelyekkel az anyagok felszínét nanométeres feloldással tudjuk végigpásztázni. Mechanikai vagy optikai felismerési módszereket alkalmazva így a felszínekről olyan pontos domborzati képeket lehet kapni, amelyeknek feloldása egyedi molekulákat is láthatóvá tesz.

A közeli mezőmikroszkópia optikai szálal pásztáz hasonló módon a sejtek felszínén vagy más biológiai anyag felszínén, és akár fluoreszkáló molekulák jelenlétét, akár molekuláris domborzati viszonyokat képes feltárni,

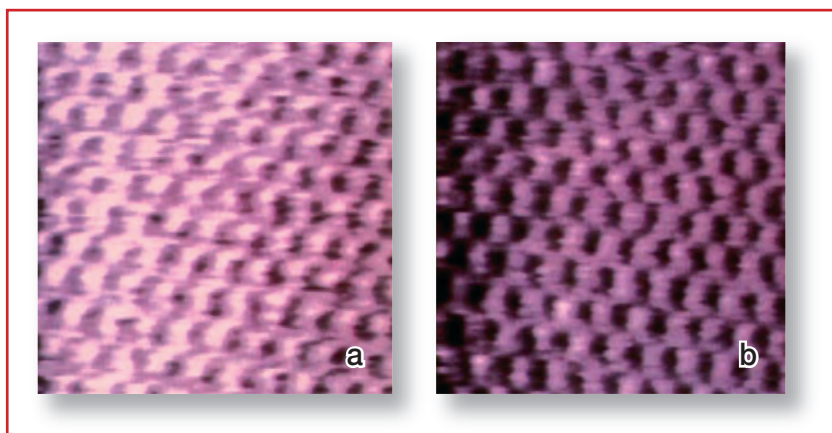
Piezoelektromosság:

bizonyos kristályok (kvarc, turmalin) nyomásra polarizálódnak, elektromos térben pedig – annak igen kicsiny változására is – kiterjednek, illetve összehúzódnak; viselkedésük polaritásfüggő. Ezek a változások rendkívül pontosak és gyorsak, így igen nagy pontosságú, akár néhány nanométer átmérőjű felületek pásztázására is kiválóan alkalmasak.

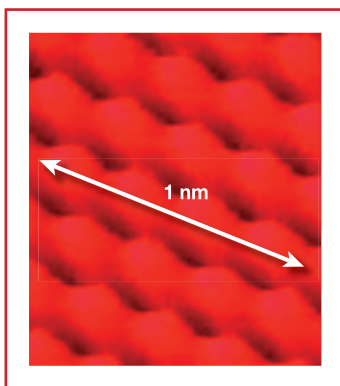


Lehet-e atomokból molekulákat összerakni?

Aranyömbök eloszlása sejtek felszínén



Csillámpala egy rétegének felvétele AFM-mel



Mekkora az 1 nanométer?

Izotópok:

azonos rendszámú, de különböző tömegszámú elemek, amelyek között számos radioaktív elem is található. A radioaktív izotópok a görög ábécé első három betűje által jelzett, különböző hatóerejű és áthatolóképeségű sugárzást bocsátanak ki a leggyakrabban. A kibocsátott alfa- (hélium-atommag), béta- (elektron-) és gamma- (igen nagy energiájú elektromágneses hullámok) sugarak mellett más részecskesugárzás is felléphet, az izotóp fajtájától függően. A sugárzás a mag energiaegyensúlyának a megbombolása következtében jön létre, amely egyensúlyt a kisméretű sugárzás igyekszik helyreállítani.

Citokinek:

elsősorban, de nem kizárólagosan az immunrendszer sejtjei által termelt polipeptidok vagy kisméretű fehérjék, amelyek (az őket termelő vagy más sejt felszínén található) receptoraikhoz kötődve a sejtekben láncreakciókat indítanak el, így téve lehetővé, hogy a sejtek megfelelően válaszoljanak a külvilág kihívásaira.

nem annyira finom felbontásban, az optika azonosító eszközeinek a bevonásával. Az ábrák bizonyítják, hogy valóban lehet molekulákat látni ilyen módon.

Elmondhatjuk, hogy jóval több információt tudunk nyerni a sejtek plazmamembránjában és belsejében lévő molekulákról, akár élő sejtekről is, mint amennyit ma valóban közvetlenül fel tudunk használni.

Ezek a módszerek a biológiai nanotechnológia kérdéskörébe tartoznak. Az általunk megszokott világban ismerjük a nagyságrendeket. Elég pontosan tudjuk, hogy az 1 méter, az 1 kilométer milyen hosszú. Az 1 nanométerről (egymilliárdod méterről) természetesen nincs és nem is lehet közvetlen személyes tapasztaltunk.

Az a világhíres felvétel, melyet bemutatok, talán segít elhelyezni ezt a távolságot a fogalmaink körében. A nanométer négy szénatom átmérője, tehát még a molekulák világában is kicsiny távolság. A felvétel a pásztázó alagúteffektuson alapuló elektronmikroszkóppal készült, és ténylegesen ez volt az első olyan felvétel, amely képes volt atomokat láthatóvá tenni.

Tehát meg lehet és érdemes is megvizsgálni a sejteken megjelenő molekulákat, és az így megszerzett információkat megpróbálhatjuk alkalmazni a betegek közvetlen gyógyításában.

Gyógyszerek célba juttatása

A keringő vörsejtek egy fajtája, a limfociták (nyiroksejtek) szervezetünk egyik legfőbb védekező rendszerének alapját képezik. Ha egy limfocita idegen anyagot észlel (például vírusból, baktériumból vagy más idegen sejtől származó fehérjét) más sejtekkel való találkozása során, akkor azt az egész sejtet igyekszik elpusztítani, vagy pedig ellenanyagok (antitestek) termelését indítja el az idegen fehérjék ellen. Kérdés, hogy ezt a fontos tevékenységet hogyan tudjuk befolyásolni, mivel ezek a bennünket védő sejtek néha ellenünk fordulnak, és ellenséges idegennek tekintik az életünket megmenteni hivatott szerv (szív, tüdő, vese stb.)-transzplantátumokat is. Ez ellen ugyan lehet gyógyszerekkel védekezni, de ez a védekezés gyengíti a saját védelmi rendszerünket is. Ez a probléma a gyógyszeres kezelések természetéből fakad. Természetesen számos olyan gyógyszerünk van, melyek az egész testben eloszolva oda is eljutnak, ahova kell, de többségük *nem csak* oda jut el, és így esetenként állandó mérgezettségi állapotban kell élnünk, ha gyógyszerekkel akarjuk kezelni magunkat.

Léteznek-e olyan módszereink, gyógyszereink, amelyek képesek arra, hogy csak a beteg, kártékony (például daganatos) sejtekre fejtsenek ki hatást? Léteznek-e, létezhetnek-e olyan varázsgolyók, amelyek csak oda jutnak el, ahova kell? Lehetséges-e úgy irányítani gyógyszereinket a szervezetben, hogy lehetőleg csak a valóban beteg sejtekre fejtsenek ki hatást?

Láttuk, hogy a sejtek felszínén elhelyezkedő molekuláris antennák szabályozzák a bennünket védő és ennek során esetleg nekünk ártó sejtek

működését. Ezeknek a sejteknek és a felszínükön lévő molekuláris anténáknak – receptoroknak – a működését kellene megismernünk tehát ahhoz, hogy szabályozni tudjuk a beavatkozásukat az életfolyamatainkba. Másrészt, ha meggyőződünk arról, hogy egy adott receptorfajta rosszat jelent számunkra, akkor választ keresünk arra, hogyan lehet azokat a sejteket megcélozni és csakis azokat elpusztítani, amelyek ezeket a jeleket mutatják.

A sejtek felszínén található molekulákat azonosítani tudjuk, meg tudjuk fogni és akár mechanikai tulajdonságaikat is tudjuk tanulmányozni. Erre a célra ismét a fizikából merítünk módszereket. Mindez már átvezet a céltáblára irányított gyógyszereljuttatás és gyógyítás témakörébe. Hogyan szabályozhatjuk a gyógyszerek eloszlását a szervezetben, hogyan irányíthatjuk a csillagászati számú gyógyszermolekula jelentős hányadát a kezelendő testrész szöveteibe, sejtjeibe és hogyan szabadulhatunk meg a feleslegtől?

Kézenfekvő lehetőséget kínálnak az immunrendszer által termeltethető ellenanyagok. Ezek az ellenanyagok, melyek előállítására nem kevés fáradságot és ügyességet kíván meg, specifikusan csak egyetlen fehérjefajta-hoz fognak kötődni. Bajt okozhat, hogy az ellenanyagokat rendszerint egerekben termeltetjük, és így a szervezetben irányító küldöncként használt antitest – mint idegen fehérje – ellen is ellenanyagot fogunk termelni. Hihetetlenül finom és sajnos igen drága kémiai módszerekkel ezeket az egérfehérjéket tartalmazó készítményeket „humanizálni” lehet. Azaz a kritikus egéredetű fehérjekomponenseket emberi fehérjére cseréljük ki. Ezek az antitestek már alkalmasak lehetnek arra, hogy a beteg sejtekhez – mondjuk veszedelmes daganatsejtekhez – odavigyenek olyan anyagokat (radioaktív **izotópokat**, toxinokat, egyéb mérgeket), melyekkel azokat célzottan megölik. Fontos annak kísérletes megvizsgálása, hogy a célsejtekhez nem kötődő izotópot vagy toxint hordozó antitestek elég gyorsan kiürülnek-e, nehogy egészséges sejtekhez nem specifikusan kitapadva bajt okozzanak.

Arra is gondolni kell, hogy az alkalmazott izotópok kis energiájú és áthatoló képességű α - vagy β -sugarakat bocsássanak ki azért, hogy a lehető legkevesebb kárt okozzák a beteg sejtekhez közeli egészséges sejtekben.

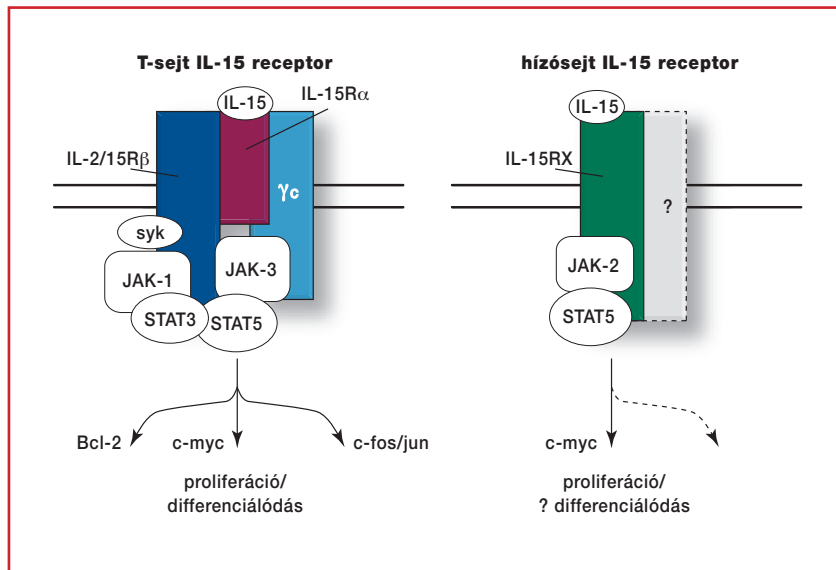
A betegségeket jelző receptorokon kívül vannak olyan, a sejtek által termelt molekulák (például hormonok, **citokinek**), amelyek a szervezetben képződnek, és igen jelentősen befolyásolhatják a sejtek működését, aktivitását. Esetenként idegen fehérjéket felszínükön bemutató sejteket képesek megölni, vagy az idegen fehérjék elleni antitestek képződését segíthetik elő. Ezek a molekulák rendszerint több alegységből álló receptorokhoz kötődnek, akár azon a sejten is, mely termeli ezeket a citokineket. Ezek is alkalmasak lehetnek beteg sejtek kezelésére vagy kellemetlen hatások kivédésére. A kezelés alapulhat akár a citokinek, **interleukinok** hatásának felhasználásán, vagy adott helyzetben éppen annak kivédésén is. Ezen az úton még nagyon sok kérdésre kell válaszolnunk, de már most is betegek sokasága köszönheti az életét vagy legalábbis életének jelentős meghosszabbítását ezeknek az új eljárásoknak, kezelési módoknak.

Interleukinok:

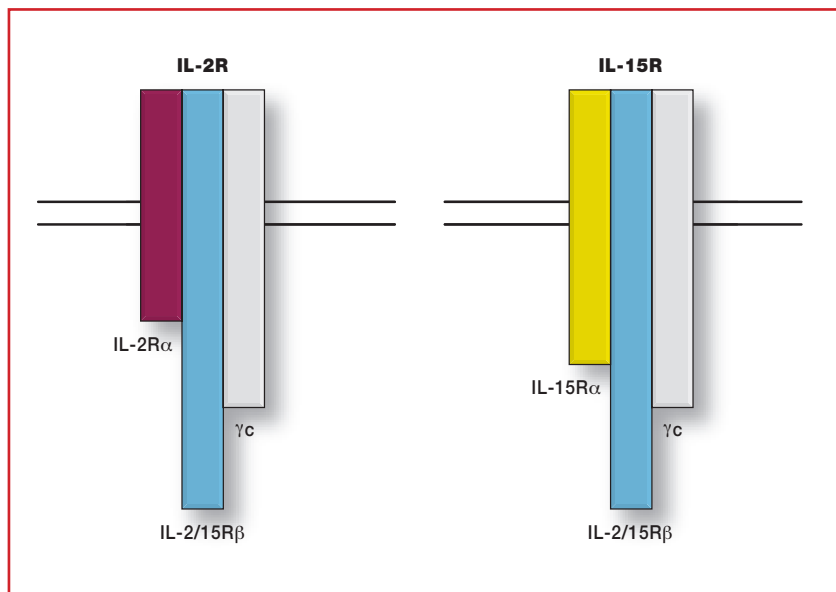
speciális, elsősorban a fehérvérsejtek (leukociták) által termelt citokinek. Kémiai szerkezetük és a receptoraik közötti kölcsönhatások által meghatározott válaszokra készítetik a fehérvérsejteket, például a limfocitákat. Az interleukin-2 (IL-2) és az interleukin-15 (IL-15) nagyon hasonló molekulák, kémiaiilag peptidek, amelyek majdnem azonos receptorokat felhasználva közel azonos, de egymással ellentétes jeleket is képesek továbbítani a sejtek belsejébe, és ennek megfelelően igen különböző válaszokat válthatnak ki. Az IL-2 az idegen fehérjéket, vírust, baktériumot, daganatos elváltozást felismerő és elpusztító sejteket serkenti, majd az immunválasz lecsengésekor programozott sejthalál által azok pusztulását is kiváltja. Az IL-15 elsősorban az immunológiai memóriára hat, illetve ellenanyagokat segít termeltetni. Extrém esetben azonban autoimmun betegséget is okozhat. Nyugvó T-sejteken egyik interleukin receptorpopuláció sincs jelen nagy mennyiségben, de ingerlő anyagok hatására igen gyorsan aktiválják a sejteket, amelyeken a receptorszám akár sokszorosára is nőhet.



*Az interleukin-15 receptora
különbözik limfocitákon és
hízósejteken*



*Két igen hasonló, de hatásában
különböző receptorrendszer*



Példaképpen az interleukin-2 és az interleukin-15 nevű molekuláris szabályozó elemeket – citokineket – vizsgáljuk a következőkben. Az interleukin név arra utal, hogy ezek a molekulák fehérvérsejtek (leukociták) közötti molekuláris üzeneteket közvetítenek. Többek között ezek a molekulák szabályozzák szervezetünk immunológiai védelmét, de esetenként káros hatást is kifejthetnek – például az úgynevezett **autoimmun betegségek** kiváltásával, amelyek során az immunrendszer a saját szervezetre gyakorol káros hatást. A komplex receptorstruktúrával rendelkező IL-2 és IL-15 receptorok szelektív és jól időzített gátlása megóvhat bennünket egy sor olyan mellékhatástól, amelyek komoly betegségeket jelentenek.

A természet tehát maga is kínál olyan rendszereket, amelyek megismerése segíthet új gyógyítási utak feltárásában és kidolgozásában. Ezeknek a molekuláknak a hatására fontos védekező tevékenységet indít el a szerveze-

tünk, amelyet szigorúan szabályoz is, hogy a túlműködéstől megóvjon bennünket.

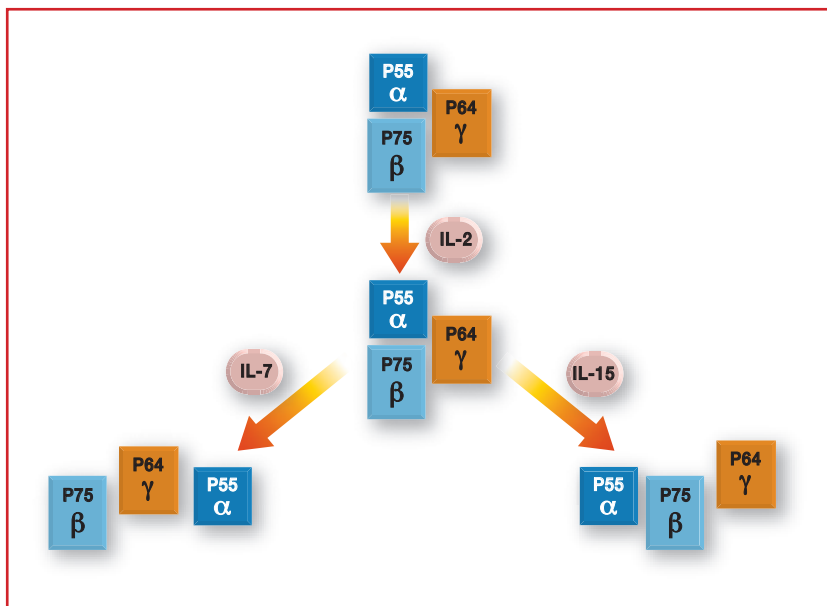
A biofizika nemcsak olyan eszköztárat bocsát rendelkezésünkre, amellyel sejtek és életfontos makromolekulák hatásait vizsgálhatjuk, de biofizika nélkül – csak kémiai kölcsönhatások vizsgálatával – nem érthetjük meg a sejtek, illetve a sejt felszíni molekulák, receptorok működését sem.

A sejt felszínén található molekulák működését molekuláris biológiai és biofizikai kölcsönhatások szabályozzák, amelyek esetenként majdnem úgy működnek, mint az egyszerű elektromos kapcsoló: adott működést – molekuláris folyamatot, cselekvést – bekapcsolnak vagy kikapcsolnak.

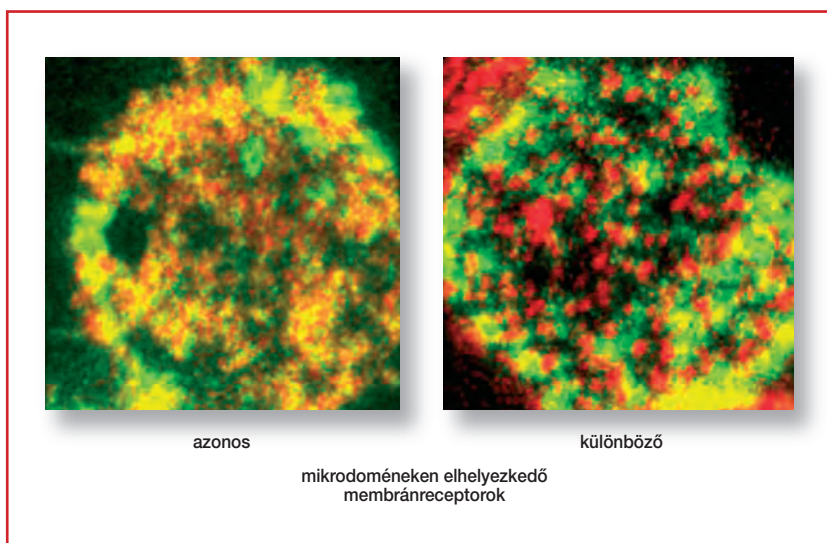
A sejtek felszínén a molekulák nem egyenletesen oszlanak el. A nem egyenletes eloszlás oka a sejtmembrán lipidalkotórészeinek a mozaikszerű elhelyezkedése, amely lehetővé teszi, hogy egyes sejtmembránhoz kötött molekulák (például fehérjék, receptorok) meghatározott ideig egymás

Allergiás és autoimmun betegségek:

olyan betegségcsoport, amelyre az immunrendszer kiváltott túlműködése jellemző. Idetartozik az egyszerű szénanátha, de számos nagyon súlyos, gyakran halálos kimenetelű betegség is, például az idegrendszer sokgócú elmeszesedése (szklerózis multiplex).



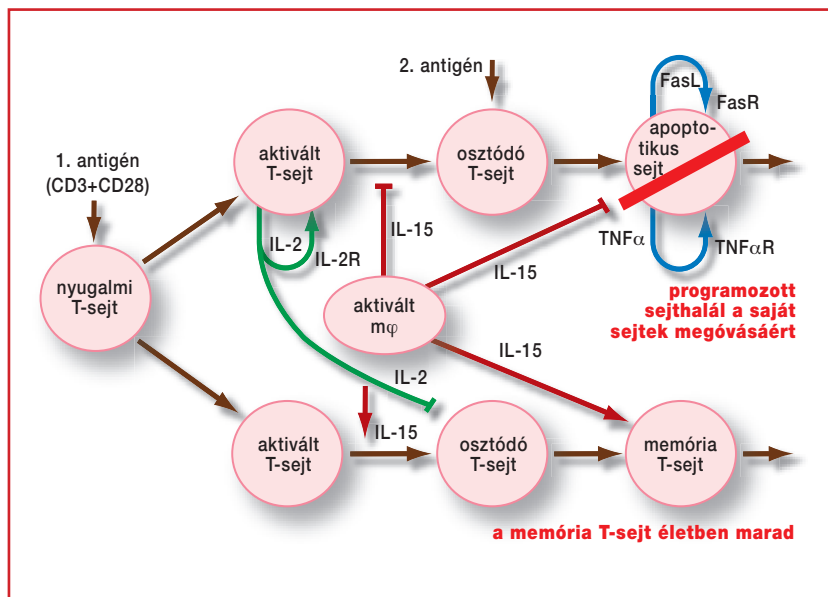
Az IL-2 receptor alegységek elmozdulásai különböző interleukinok kötődésekor



Mikrodoméneken elhelyezkedő membránreceptorok eloszlása



*T-sejtek élete és halála:
az IL-2 és IL-15 hatásai*



szomszédságában tartózkodjanak. A szomszédság – molekuláris közelség – ahhoz kell, hogy a szomszédos molekulák képesek legyenek együttműködni. A sejtfelszíni molekulák eloszlásának a kérdése napjainkban is vitatott, bár az már általánosan elfogadott, hogy a lipidmolekulák mozaikszerű eloszlása szabja meg, hogy melyik molekulafajta melyik másikkal képes együttműködni.

Eddig a molekuláris biológiai kölcsönhatások jogos hangsúlyozása mellett a fizikai (például elektromos) kölcsönhatások szerepe csak marginális hangsúlyt kapott az immunológiában. Ugyanakkor az **ioncsatornák** által szabályozott feszültség- és ionáram-viszonyok nagymértékben képesek befolyásolni a membránfehérjék alakját és funkcionális (működési) állapotát, sőt a régi-új gyógyszerek sokaságát kínálják eddig számításba sem vett területeken, elsősorban ugyancsak az autoimmun betegségek gyógyítása területén.

A közelmúlt fontos felfedezése, hogy a limfociták ioncsatornáit közel vannak azokhoz a molekulákhoz, amelyek a sejtek közötti felismerési folyamatok alapvető alkatrészei. Így az úgynevezett **T-sejt** receptorok, amelyek az idegen fehérjéket bemutató – fertőzött – sejteket nemcsak megismerik, de el is pusztítják, a káliumion sejten belüli mennyiségét befolyásoló ioncsatornák mellett helyezkednek el. Sőt amikor ezek a T-sejt receptorok a beteg sejteket felismerve odatapadnak azokhoz, a tapadás helyén, amelyet immunszinapszisznak nevezünk, feldúsulnak a K-ioncsatornák is azáltal, hogy a T-sejt receptorokkal egy időben odavándorolnak a membrán síkjában. Sőt az ioncsatornák az „idegenek” (például fertőzött sejtek) megölése során aktívan részt vesznek ebben a folyamatban.

Ezért próbálkoznak egy sor jelentős és gyógyíthatatlannak hitt, úgynevezett autoimmun betegségben ioncsatorna-gátlókat is alkalmazni. Így a sokgócú idegrendszeri meszesedés (szklerózis multiplex) és egy sor más betegség kombinált gyógyításában már eddig is jelentős eredményeket értek el. Mind az immunrendszeren keresztül – interleukinokkal –, mind viszony-

Ioncsatorna:

töltéssel rendelkező ionok ezen a csatornaszerű bonyolult fehérje- és lipidstruktúrákon keresztül juthatnak be vagy távoznak a sejtekből. A szerkezetük alkalmassá teszi őket az iontranszport-folyamatok szabályozására is a sejt belseje és a külvilág között; az ionkoncentrációk pedig a sejtek anyagcsere-folyamatait szabályozzák.

T-sejt:

a nyiroksejtek – limfociták – egy fajtája, amelyek részben a szervezet védekezését végzik, részben az ellenanyagképzést szabályozzák.

lag specifikus ioncsatorna-gátlókkal sikerült a betegség lefolyását kedvezően befolyásolni.

A jövő útja minden bizonnyal a kombinált, antitesttel irányított és önmagukban is bizonyos szelektivitással rendelkező gyógyszerek alkalmazása lesz, és ez minimálisan csökkentheti a mellékhatásokat. Ennek legfőbb oka, hogy gyógyszereinkből igen kis mennyiség is elegendő lesz ahhoz, hogy a megfelelő céltáblákhoz kötődve kifejtsék hatásukat. A nem kötődő gyógyszer-molekulák, a vivő, céltáblára orientáló alkatrészeikkel együtt szerencsés esetben előre tervezetten olyan szerkezetet nyerhetnek, mely elősegíti, hogy a szervezet hamar kiürítse őket.

A varázslövedékek eltalálják a céltáblát

- > több évtizedes próbálkozás után az antitestek – bár nagyon drágák – gyógyszerekké váltak;
- > **monoklonális** antitestek nagy tömegben gyárthatók; az Egyesült Államokban eddig már tizenegyet engedélyeztek gyógyszerként;
- > körülbelül négyszáz újabb monoklonális antitest áll kipróbálás alatt világszerte.

Megemelkedett IL-2 receptorszintek autoimmun betegségekben

- > reumás ízületi gyulladás;
- > SLE;
- > fiatalkori reumás artritisz;
- > 1-es és 2-es típusú cukorbetegség;
- > krónikus aktív hepatitisz;
- > aplasztikus anémia;
- > különböző bélgyulladások;
- > fertőzés utáni agyvelőgyulladás;
- > szklerózis multiplex.

IL-2 receptorra irányuló gyógyítási kísérletek T-sejtes fehérvérűségben

- > toxinokkal, alfa/béta sugárzó radioaktív izotópokkal (asztácium-211, ittrium-90) kapcsolt IL-2 receptorelles antitestek mint gyógyszerek.

A betegségek egész sorát lehet a fenti interleukinok, illetve az interleukinok sejtfelszíni megkötésére alkalmas receptorok felhasználásával, manipulálásával eredményesen kezelni.

A legrégebbi példa erre a heveny felnőttkori T-sejtes leukémia, mely a fehérvérűség néven ismert betegségnek egyik igen veszélyes válfaja. Ez a betegség Európában elég ritka, de Ázsiában (például Japánban) és Amerikában, így az Egyesült Államokban viszonylag gyakori betegségnek számít. A betegek várható élettartama – kezelés nélkül – a betegség felismerése után átlagosan hat hónap, és az ismert gyógyszerek legtöbbször a beteg fehérvérsejtek nem, vagy csak igen gyengén reagálnak. Úttörő munkát végzett és fontos felfedezést tett T. A. Waldmann, az USA Nemzeti Egészségügyi Intézetének egyik vezető kutatója, aki megállapította, hogy amennyiben az

Monoklonális ellenanyag: nagyon nagy specificitású, tisztított ellenanyag, mely egyetlen sejtklónból származik, és egyetlen antigént ismer csak fel.



Humán interleukin

**Puffer:**

a szervezet, azaz a sejtek ionösszetételének megfelelő minőségű és mennyiségű ionokat tartalmazó vizes oldat.

Aktin:

sokféle sejtben megtalálható fehérjemolekula, amelyet az izmokban fedeztek fel magyar kutatók az 1940-es években, majd később kimutatták, hogy nagyon sokfajta sejtben megtalálható. Az aktinok képesek inerek hatására megrövidülni, majd elernyedni. A sejtek alakjának meghatározásában is jelentős szerepet játszanak.

interleukin-2 receptor?-alegységére irányított kezelést alkalmazunk, azaz a beteg sejteket célzottan elpusztítjuk, akkor három és öt év közötti élettartam is várható, azaz a betegek hatszor–tizenkétszer hosszabb ideig élnek a betegség felfedezése után.

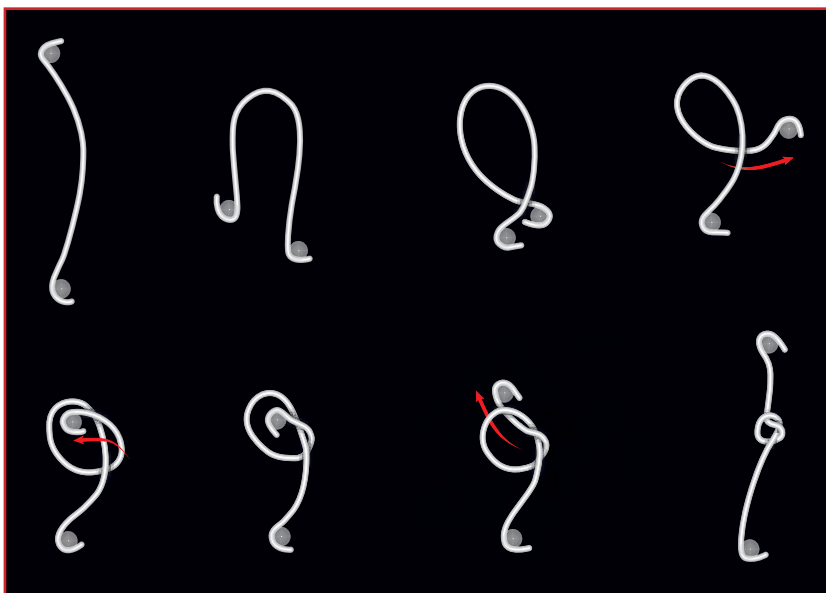
Hogyan lehet molekulára csomót kötni?

Az előadásnak lassan a végéhez közeledünk, és még mindig nem tudjuk, hogyan lehet molekulákra akár csomót kötni, ami esetleg nem pusztán játék, hanem hozzásegíthet a hosszú molekulák mechanikai tulajdonságainak jobb megértéséhez is.

Optikai csipeszekkel megfogunk két plasztikgolyócskát, melyek fénymikroszkópos méretűek. Az egyiket megfelelő ragasztóanyaggal bekenve és optikai csipesszel tartva belemárthatjuk például olyan egyszálú DNS-oldatba, amelyben a DNS-molekulák egyik vége az egyik plasztikgolyócska ragasztójával képes reagálni, míg a másik vége a másik plasztikgolyócska ragasztójához képes hozzátapadni. Az egyik plasztikgömbbel kihalszott DNS-szálat **puffer** oldatban egy irányba úsztatjuk lassan áramló puffer folyadékkal. A plasztikgömb helyzetét optikai eszközökkel pontosan bemérjük. A másik gömbbel a DNS-molekula ellenoldali végének feltételezett helyéhez közelítünk. Ha elég ügyesen próbálkozunk, a másik plasztikgömb megfigyelhető kicsiny elmozdulása jelezni fogja, hogy a molekulát, esetleg több mint egy molekulát, mind a két végén megfogtuk.

Ettől a fázistól már viszonylag egyszerűvé válik a művelet, mert az optikai csipesz a fókuszpontjában tartja a DNS-t, és ha a két golyócskát ügyesen mozgatjuk, a csomó megköthető és fluoreszkáló molekulák sokaságának

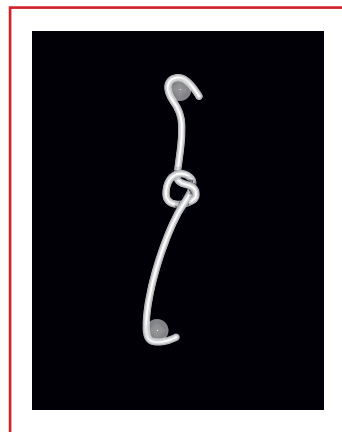
Hogyan kötünk csomót molekulára?



segítségével láthatóvá is tehető. A ragasztás problémája az avidin és biotin nevű ismert molekulapárossal könnyen megoldható.

A DNS-, majd **aktin**szálakon végzett csomóhúzásos kísérletek világosan igazolták, hogy a DNS-molekulákat a csomó meghúzásával nem lehetett eltörni, míg a sokkal vastagabb aktinmolekulák eltörtek. Ebből a játékos kísérletből a két makromolekula-fajta különböző mechanikai tulajdonságaira lehetett következtetni, amelyek teljesen egybeestek a biológiai szerepükkel. A DNS-ről történő kódátírás közben különböző molekulák a DNS-alakját változtatják. Maga a DNS is több szinten feltekeredve tárolódik a sejtmagban, tehát csak akkor láthatja el biológiai funkcióját, ha igen rugalmas és nem törik el. Az aktin ezzel szemben az izmok összehúzódásában és a sejtek alakjának szabályozásában játszik szerepet, meglehetősen vastag, merev molekula. Normális körülmények között nem kell feltekerednie, ha csomót kötünk rá, akkor eltörik.

Elmondhatjuk tehát, hogy az alapkutatásoknak látszatra játékos és haszontalannak látszó fajtái is jelentős mértékben elősegítetik biológiai tudásunkat. Az egyedi molekulák szintjén végzett kísérletek hozzájárulhatnak a gyógyítás új útjainak kidolgozásához.





Ajánlott irodalom

Damjanovich Sándor – Mátyus László (szerk.): Orvosi biofizika. Bp.: Medicina K., 2000.

Gergely János – Erdei Anna: Immunbiológia. Bp.: Medicina K., 2000.

Alberts, Bruce – Johnson, Alexander – Lewis, Julian – Raff, Martin – Roberts, Keith – Walter, Peter: Molecular Biology of the Cell. New York: Garland Science, 2002.

Cotterill, Rodney M. J.: Biophysics: An Introduction. John Wiley & Sons, 2002.

Coutinho, Antonio: Immunology at the Crossroads. *EMBO reports*, 3(2002):1008–11

Goldsby, Richard A. – Kindt, Thomas J. – Kuby, Janis – Osborne, Barbara A.: Immunology. New York: WH Freeman and Co., 2002.

Jena, Bhanu P. – Hörber, J. K. Henrich (eds.): Atomic Force Microscopy in Cell Biology. Academic Press, 2002.

Lowy, Ilana: Between Bench and Bedside: Science, Healing, and Interleukin-2 in a Cancer Ward. Harvard University Press, 1997.

Nölting, Bengt: Methods in Modern Biophysics. Springer-Verlag, 2003.