

Csermely Péter

Mire jók a stresszfehérjék?

Régi és új elképzelések

A stresszfehérjék sejtjeink igen nagy mennyiségben jelen lévő, létfontosságú alkotóelemei. Közel húsz évre tekintenek vissza azok a vizsgálatok, amelyek igazolták: a stresszfehérjék segítsége nélkülözhetetlen abban, hogy a hibás szerkezetű fehérjék megtalálhassák a rájuk jellemző, helyes szerkezetet. A fehérjetekeredés jó útra terelése kulcsszerepet játszik a sejten belüli transzportfolyamatokban, a jelátvitelben, a fehérjelebontásban és abban, hogy a sejt újraéledhessen a fehérjeit romboló környezeti stresszhatások után. Hazai kutatócsoportok is hozzájárultak ahhoz, hogy a stresszfehérjék szerepéről az utóbbi években egy, az eddiginél gazdagabb kép kezd kibontakozni. Ennek egyik elemeként sikerült képet alkotni arról, hogy milyen molekuláris lépések kellenek a stresszfehérjék működéséhez. Új funkciókat is megismertünk, így egyre valószínűbb, hogy (1) a stresszfehérjék részt vesznek a citoplazma rendezésében és transzportfolyamataiban; (2) sokoldalú kölcsönhatásokba kerülnek a sejt membránrendszerével; (3) részt vesznek a programozott sejthalál szabályozásában; (4) fontos szerepet játszanak a legkülönbözőbb betegségek kialakulásának folyamatában és gyógyításában; (5) aktiválásukkal az élettartam meghosszabbítható, végezetül pedig (6) a kisebb mutációkat ártalmatlanító hatásukkal hozzájárulhatnak a „civilizációs betegségek” (rák, érlemeszesedés, cukorbetegség) kialakulásához.

A stresszfehérjék szokványos szerepe: a károsodott fehérjék helyreterkerése

A fehérjék szerkezete elképesztően sokféle állapotot vehet fel. Így a fehérjének még alig nevezhető száz aminosavas polipeptidnek is a köznapi ésszel fel nem fogható, 10^{30} -os nagyságrendű különböző szerkezete létezhet. Ezek közül azonban csak egyetlenegy rendelkezik az élő sejtben megfigyel-

hető enzimaktivitással, vagy más funkcióval. Ha a fehérjék véletlenszerű próbálgatással keresnék meg ezt a legalacsonyabb energiájú, natív állapotot a lehetséges szerkezeteik közül, minden valószínűség szerint a világegyetem keletkezése óta még az első fehérje sem végzett volna e feladattal (ezt a lát-szólagos ellentmondást hívják *Levinthal-paradoxonnak*). Szerencsénkre a fehérjék tekeredése során az egyes fehérjerészletek egymást segítik: a folyamat kooperatív. Így a kis méretű, 10–20 kDa-os fehérjék betekeredése kedvező körülmények között másodpercek alatt végbemegy. Sajnos az ennél nagyobb fehérjék igen gyakran tekeredési csapdák áldozatai lesznek. Ebben az esetben a félkész fehérje egy helyi energiaminimummal jellemezhető átmeneti állapotban stabilizálódik, és a végső, natív állapottól egy kisebb-nagyobb energiagát választja el. Még nagyobb baj, hogy az ilyen, „olvadt gombócnak” is nevezett tekeredési köztitermék igen gyakran még nem végzett a fehérjetekeedés egyik alapfeladatával: a hidrofób aminosavaknak a fehérjefelszínről való eltüntetésével. Sajnos a hidrofób felszínnek az ilyen félkész fehérjéket egymással való összetapadásra, aggregációra teszik hajlamosná. A fehérjeaggregátumok igen nagy veszélyt jelentenek, aminek érzékeltetésére talán elég egy példa is: felszaporodásuk a legtöbb neurodegeneratív betegség, pl. az Alzheimer-kór, a Parkinson-kór, a prion-betegségek egyik fontos oka (Csermely, 2001).

Hogyan lehet kiszabadítani a nagyobb méretű fehérjéket a tekeredési csapdákból? Erre valók a stresszfehérjék. A többi fehérjét terelgető, segítő hatásuk miatt az angolszász irodalomban chaperonoknak, illetve magyarul dajkafehérjéknek is nevezik őket. Hogyan került akkor az elnevezésbe a stressz? Ha a sejtet környezeti stressz éri, a sejtben lévő fehérjék károsodnak, kitekerednek. E fehérjéknek az újratekeredéshez éppen úgy segítségre van szükségük, mint születésük pillanatában. Környezeti stressz szinte bármilyen hirtelen változás lehet: lényegesen melegebb lesz, vagy éppen hidegebb; a környezet lényegesen savasabb lesz, vagy éppen lúgosabb; túl kevés az oxigén, vagy éppen túl sok; de akár: izgul-e a gazda, vagy éppen beteg. A sejteknek minden ilyen állapotban gondoskodniuk kell a kitekeredés miatt megjelenő hidrofób felszínnek átmeneti elrejtéséről és az újratekeredés segítéséről. Így nem csoda, hogy bonyolult sejt mechanizmusok révén a stresszhatás alatt szinte minden energiagigényes feladat leáll, hogy a maradék energiát a stresszfehérjék fokozott előállítására lehessen mozgósítani. Néha azonban a stresszfehérje is tehetetlennek bizonyul: ha a selejtes fehérje menthetetlen, akkor helyretekereése helyett a lebontása következik be. Ilyenkor a stresszfehérjék pusztulásra ítélt társaikat kitekerik egészen addig, ameddig be nem férnek a lebontóenzimek szűk bemeneti csatornájába (Bukau és Horwich, 1998; Csermely, 2001; Hartl, 1996).

Hogyan képesek a stresszfehérjék a többi fehérje tekeredésének elősegítésére? Alapvetően két – passzív és aktív – módon. A *passzív segítség* abban nyilvánul meg, hogy a stresszfehérjék (leginkább a kisméretű hősokkfehérjék és a Hsp90 – ahol a Hsp rövidítés a „heat shock protein”, azaz a hősokkfehérje elnevezésre, a szám pedig a kDa-ban mért molekulatömegre utal) kötődnek a hibás szubsztrátfehérjék kilógó hidrofób felszíneire, és megvédik ezeket a felszíneket attól, hogy egymással összetapadjanak, aggregáljanak. Ez a fajta segítség nem igényel ATP-t, és így a sejt stresszhatás közben is megnyilvánuló, első védekezési reakciója lehet.

A stressz elmúltával, a sejtes energiatermelő rendszerek helyreállítása után kerülhet sor az *aktív segítségre*, a felgyült stresszfehérje-szubsztrátfehérje csomók feldolgozására, ami már ATP hidrolízisét igénylő, energiafelhasználó folyamat. Ilyenkor a helytelen szerkezettel bíró szubsztrátfehérjéket a stresszfehérjék kismértékben kitekerik, és így egy újabb lehetőséget adnak nekik arra, hogy visszatekeredésükkel megtalálhassák a helyes, natív szerkezetüket. A kitekerésre két módszer is ismert. Az egyikben a Hsp70 stresszfehérje a szubsztrátfehérje rövid, hidrofób szakaszaihoz köt, és ezeket a hét aminosavból álló, kis fehérjeszegmenseket hozza kitekert állapotba (Bukau és Horwich, 1998). Az ATP hidrolízise miatt a Hsp70 valószínűleg többször is leválik és újraköt a kinyújtandó peptidszakaszhoz, és ezzel a sorozatos „nyomorgatással” járul hozzá az egész fehérje fellazításához, újratereléséhez. A másik módszerre, amelyet a Hsp60 stresszfehérje-családra jellemző saját eredményeim alapján (Csermely, 1999) „chaperon-perkolátor” modellnek neveztem el, az a jellemző, hogy a chaperon a félretekeredett fehérjét egy nagyméretű belső üregben tartja fogva. Ezeknél a stresszfehérjéknél az ATP megkötése a belső üreg tágulásához vezet. Az üreg táguló falai széthúzzák a hozzájuk kötő szubsztrátfehérjét. A fellazuló fehérje közepébe vízmolekulák áramlanak be, amelyek felgyorsítják a szubsztrátfehérje belső magjának újrarendeződését.

Ma még nem tudjuk, hogy az előzőekben a passzív chaperonok között említett Hsp90 pontosan milyen mechanizmus szerint segít a többi fehérje betekerésében, de az a tény, hogy e fehérje két ATP kötőhellyel is rendelkezik (Csermely és Kahn, 1991; Csermely és mtsai, 1993; 1995; Söti és Csermely, közlemény előkészületben), arra utal, hogy a Hsp90 a fehérjetekerésnek aktív részese is lehet. Ez annál is valószínűbb, mert a Hsp90 más chaperonokkal együttműködésben részt vesz számos fontos jelátviteli molekula, így fehérje kinázok, szteroidreceptorok, a nitrogén-monoxid szintáz és egy sor más fehérje aktiválásában (Csermely és mtsai, 1998; Schnaider és mtsai, 1999). A stresszfehérjék a jelátviteli folyamatok szabályozásán kívül még számos olyan funkcióval bírnak, amelyekre mindig, a sejt nyugalmi állapotában is szükség van. Ezek közül az egyik legfontosabb a sejt belső membránjain átjutó fehérjemolekulák transzportjának segítése. Mivel a membránon az átjutást lehetővé tevő pórus mérete nem lehet nagy, a transzportálandó fehérjéket a transzport előtt szinte fonalszerű állapotba ki kell tekerni, majd az átjutás végeztével ismét be kell gombolyítani. A ki- és betekerést a fenti mechanizmusok segítségével a chaperonok végzik el.

A stresszfehérjék lehetséges szerepe a citoplazma szerkezetének felépítésében

A stresszfehérjék az előzőekben említett transzportfolyamatok segítségével a sejt belső rendjének kialakításához, a fehérjemolekulák „célbajuttatásához” járulnak hozzá. Az eukarióta fehérjeszintézis során a születőfélben lévő fehérjék többsége még a riboszómához kötötten betekeredik. Így sejtjeink nyugalmi állapotában jóval több stresszfehérje van (teljes mennyiségük a citoplazma fehérjeinek 4–6%-át teszi ki), mint amennyit a transzportfolyamatok vagy más fehérjetekeresési lépések igényelnének. Rá-

adásul e stresszfehérjék közül jó néhánynak a mennyiségét büntetlenül le sem lehet csökkenteni, mert ekkor a sejt előbb-utóbb meghal. Mi lehet a szerepe a stresszfehérjék döntő többségének a nyugvó sejtekben? Saját elképzelésünk (Csermely és mtsai, 1998), amelyet néhány kezdeti kísérletes adatunk is alátámaszt, erre a kérdésre azt a választ adja, hogy a stresszfehérjék, amelyek kötnek a citoplazma minden filamentrendszeréhez, így az aktinhoz, a tubulinhoz és a köztes filamentumokhoz, e hálózat meghosszabbításai lehetnek, és részt vehetnek a citoplazma rendjének szervezésében. A hozzájuk kötődő szubsztrátfehérjéket a stresszfehérjék azonban nem rögzítik statikusan a filamentrendszerekhez, hanem e komplexek összetétele és helyzete minden bizonnyal gyakran változik. Így a stresszfehérjék a citoplazma rendezettségének megteremtése mellett a citoplazmán belüli transzportfolyamatok elősegítői is lehetnek.

Membránok és stresszfehérjék

A hidrofób felszínekkel jellemezhető stresszfehérjék a filamentumok mellett a membránokhoz is képesek kötni. Membránkötött állapotukban részt vesznek a membránok stabilizálásában és ezáltal a sejt integritásának megőrzésében (Török és mtsai, 1997). Vigh László számos kísérleti adattal alátámasztott elmélete szerint (Vigh és mtsai, 1998) a kölcsönhatás kétirányú: nemcsak a stresszfehérjék befolyásolják a membránok állapotát, hanem a membránok fluiditása is fontos szerepet játszik a stresszfehérjék indukciójában. Az elmélet szerint a membránok magasabb hőmérsékleten történő „elfolyósodása” lenne az egyik olyan sejtes hőmérő, amely beindítja a stresszfehérjék döntő többségét képező hősokkfehérjék szintézisét.

A stresszfehérjék és a sejt halála

Ha a sejt képtelen leküzdeni a működésében beálló zavart, illetve, ha feláldozása válik szükségessé a neki otthont adó organizmus fennmaradása vagy fejlődése érdekében, beindul a programozott sejthalál, az apoptózis folyamata. A stresszfehérjék sejtvédő szerepéből logikusan következik, hogy általában a sejthalált gátló hatással bírnak. Hosszú ideig e gátlóhatásnak csak az általános, a sejt egyensúlyi állapotát megőrző elemei voltak ismertek. Az újabb adatok azonban fényt derítettek arra, hogy a Hsp90 és más stresszfehérjék közvetlen szerepet is játszanak a kaspáz elnevezésű proteázok aktiválásával járó programozott sejthalál egyes lépéseinek gátlásában (Nardai és mtsai, 2000; Pandey és mtsai, 2000). Érdekes módon a Hsp70 (Nylandsted és mtsai, 2000) és a Hsp90 (Steták és mtsai, közlemény előkészületben) szintjének csökkenése kíséri a programozott sejthalál eddig még részleteiben meg nem ismert, kaspázfüggetlen módjainak kiteljesedését is.

Stresszfehérjék orvostudományi alkalmazásai

A stresszfehérjék sejtvédő hatásainak ismeretében kézenfekvő, hogy védőszerrepük a legkülönbözőbb betegségekben is hasznosnak bizonyul. Ennek alátámasztására talán elég annyit említeni, hogy a hősök által is aktivált stresszfehérjék lehettek az okai a láz fennmaradásának az evolúció során, vagy hogy az egyik leggyakrabban alkalmazott gyógyszer, az aszpirin, segíti a stresszfehérjék szintézisét. Ennek fényében kézenfekvő olyan gyógyszerek kifejlesztésének az igénye, amelyek az aszpirinhez hasonlóan, csak annál sokkal hatékonyabban és célzottabban segítik a stresszfehérjék aktivációját. A veszprémi székhelyű Biorex vállalat által kifejlesztett, jelenleg fázis II klinikai vizsgálaton tesztelt *Bimoclozol* (Vígh és mtsai, 1997) a világon az első ilyen gyógyszerjelölt.

A stresszfehérjék az öregedésben

Az öregedő szervezet sejtjeiben egyre nő a károsodott fehérjék mennyisége. Egyre több a félresiklott oxidáció, a szabadgyökök egyre több fehérjét oxidálnak, az oxidált lipidek a fehérjékhez kötődnek, és számos más módosulás is végbemegy. A torzult szerkezetű fehérjék közül egyre több igényelné a chaperonok segítségét. Igen ám, de a chaperonok is károsodnak, és még szintézisük is akadózni kezd. A javítómechanizmus hiányában a lebontófolyamatok szabadíthatnának meg a selejtes fehérjék tömegétől. Csakhogy a proteázok is sérülnek, így a fehérjelebontás is dögögve megy. A felgyűlő fehérjék egy idő után aggregátumokat, zárványokat képeznek és programozott sejthalálhoz vagy a gyulladáshoz vezető folyamatokat elindító sejt-pukkadáshoz, nekrozishoz vezetnek. Mindennek fényében nem meglepő, hogy a sok kicsi stresszel (amelyet inkább kihívásoknak lenne célszerű nevezni) idejében karbantartott stresszfehérjék (és nem utolsósorban a kalóriamegvonással visszaszorított felesleges oxidáció) segítenek a hosszú élet elérésében (Sóti és Csermely, 2000).

Stresszfehérjék és evolúció

A stresszfehérjék sejtjeinknek az egyik legkonzerváltabb szerkezettel bíró fehérjéi, amelyek szinte változatlanul őrződtek meg az evolúció évmilliárdjai során. Mivel a szabályozható, „modern” enzimek csak olyan, nagyobb méretű fehérjék kifejlődésével jöhettek létre, amelyek legtöbbször a bevezetőben említett tekeredési csapdák fogja lehet, a chaperonhatásra a földi élet kialakulásának már a legkezdetibb szakaszában is szükség volt (Csermely, 1997).

A stresszfehérjék igen fontos szerepet játszhatnak az evolúciós átmenetek kialakulásában is. Rutherford és Lindquist (1998) kísérletei alapján valószínűsíthető, hogy a Hsp90 (illetve más stresszfehérjék) a kismértékben mutáns fehérjék helyreterelésével számos olyan mutáció hatását semlegesítik, amelyek így csendben meghúzódhatnak a hordozó egyed genetikai állományában. Abban az esetben azonban, ha a populációt egy igen erős

stressz éri, a stresszfehérjék többsége a károsodott fehérjék tömegének helyreterelésével lesz elfoglalva, és így a korábban „kordában tartott”, semlegesített mutációk szabadon érvényesülhetnek. A genetikailag kódolt változások ilyen robbanásszerű megjelenésének két hatása is lehet. A populáció e sokrétű válaszában legtöbb eleme hibás, sőt, kifejezetten hátrányos lehet. Ezek az egyedek elhullanak, szaporodásra képtelenek lesznek, vagy szaporodásukban hátrányt szenvednek. Így a populáció teljes genetikai állománya az erős stressz hatására megtisztul a néma mutációk tömegétől. Másrészt elképzelhető, hogy egy-egy, a stresszhatásra felszínre került mutáció sikeresnek bizonyul, amivel egy kisebbfajta evolúciós ugrás is lehetővé válik.

Saját elképzeléseim szerint az orvostudomány elmúlt másfélszáz évre visszatekintő diadalútja és a civilizált életformának a létünkben fenyegető erős stresszeket kerülő hatásai az emberiséget nagyrészt mentesítették a fenti, géntisztító folyamatoktól. Így az elmúlt öt-hat generációban a csendes mutációk lassan, de biztosan szaporodásnak indultak. Jelenleg a mi sejtjeink stresszfehérjei bizonyára több mutáns fehérjét ápolgatnak – és ezáltal rejtegetnek – mint a szépanyáink és szépapáink sejtjeit karbantartó stresszfehérjék. Mindezzel nincs is baj mindaddig, amíg meg nem öregszünk, és sejtjeinket el nem önti az előző részben ismertetett fehérje-szemét. Ekkor azonban az addig hatásukat ki nem fejtett mutációk lassan, de biztosan elszabadulnak, és az öregedő sejtjeinkre rátörő új és a védett embergenerációkkal egyre növekvő mutációtömeg hozzájárulhat a civilizált társadalmakra jellemző poligenetikus betegségek, így a rák, a cukorbetegség és az érlemeszedés kialakulásához.

IRODALOM:

- Bukau, B. and Horwich, A.L. (1998): The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell* 92, 351–366.
- Csermely, P. (1997): Proteins, RNAs and chaperones in enzyme evolution: a folding perspective. *Trends in Biochem. Sci.* 22, 147–149.
- Csermely, P. (1999): The „chaperone-percolator” model: a possible molecular mechanism of Anfinsen-cage type chaperone action. *BioEssays* 21, 959–965.
- Csermely, P.: Stresszfehérjék. Tudomány-Egyetem sorozat, Budapest, Vince kiadó, 2001
- Csermely, P. and Kahn, C.R. (1991): The 90 kDa heat shock protein (hsp-90) possesses an ATP-binding site and autophosphorylating activity. *J. Biol. Chem.* 266, 4943–4950.
- Csermely, P., Kajtár, J., Hollósi, M., Jalsouszky, G., Holly, S., Kahn, C.R., Gergely, P. Jr., Söti, Cs., Mihály, K. and Somogyi, J. (1993): ATP induces a conformational change of the 90 kDa heat shock protein (hsp-90). *J. Biol. Chem.* 268, 1901–1907.
- Csermely, P., Miyata, Y., Schnaider, T. and Yahara, I. (1995): Autophosphorylation of grp94 (endoplasmic reticulum chaperone). *J. Biol. Chem.* 270, 6381–6388.
- Csermely, P., Schnaider, T., Söti, Cs., Prohászka, Z. and Nardai, G. (1998): The 90-kDa molecular chaperone family: structure, function and clinical applications. A comprehensive review. *Pharmacology and Therapeutics*, 79, 129–168.
- Hartl, F.U. (1996): Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature* 381, 571–580.
- Nardai, G., Sass, B., Eber, J., Orosz, Gy. and Csermely, P. (2000): Reactive cysteines of the 90 kDa heat shock protein, Hsp90. *Arch. Biochem. Biophys.*, nyomtatás alatt
- Nylansted, J., Rohde, M., Brand, K., Bastholm, L., Elling, F. and Jäättelä, M. (2000): Selective depletion of heat shock protein 70 (Hsp70) activates a tumor-specific death

- program that is independent of caspases and bypasses Bcl-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 7871–7876.
- Pandey, P., Saleh, A., Nakazawa, A., Kumar, S., Srinivasula, S.M., Kumar, V., Weichselbaum, R., Nalin, C., Alnemri, E.S., Kufe, D. and Kharbanda, S.* (2000): Negative regulation of cytochrome c-mediated oligomerization of Apaf-1 and activation of procaspase-9 by heat shock protein 90. *EMBO J.* 19, 4310–4322.
- Rutherford, S.L. and Lindquist, S.* (1998): Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature* 396, 336–342.
- Schnaider, T., Somogyi, J., Csermely, P. and Szamel, M.* (2000): The Hsp90-specific inhibitor, geldanamycin, selectively disrupts kinase-mediated signalling events of T lymphocyte activation. *Cell Stress and Chaperones* 5, 52–61.
- Sőti, Cs. and Csermely, P.* (2000): Molecular chaperones and the aging process. *Biogerontology*, 1, 225–233.
- Török, Z., Horváth, I., Goloubinoff, P., Kovács, E., Glatz, A., Balogh, G. and Vigh, L.* (1997) Evidence for a lipochaperonin: association of active protein-folding GroESL oligomers with lipids can stabilize membranes under heat shock conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 2192–2197.
- Vigh, L., Literáti, P.N., Horváth, I., Török, Z., Balogh, G., Glatz, A., Kovács, E., Boros, I., Ferdinándy, P., Farkas, B., Jaszlits, L., Jednákovits, A., Korányi, L. and Maresca, B.* (1997): Bimocloamol: A nontoxic, hydroxylamine derivative with stress protein-inducing activity and cytoprotective effects. *Nature Medicine* 3, 1150–1154.
- Vigh, L., Maresca, B. and Harwood, J.L.* (1998): Does the membrane's physical state control the expression of heat shock and other genes? *Trends in Biochem. Sci.* 23, 369–374.