

19. TRANSPORTFOLYAMATOK II. VEZIKULÁRIS TRANSZPORT

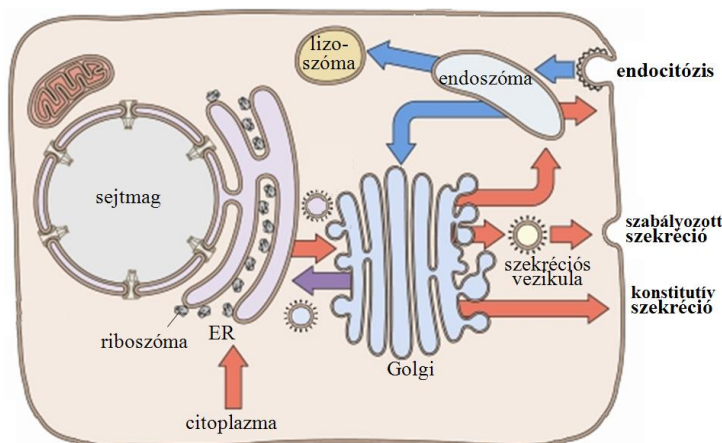
A vezikuláris transzport alaplépései: lefűződés, vándorlás, fúzió; a folyamatokban szerepet játszó fehérjecsaldók. A szekréciós út: az endoplazmatikus retikulumtól a sejtthártyáig. Lizoszomális fehérjék transzportja. Endocitózis: a folyamat állomásai.

Készítette: Lippai Mónika

BEVEZETÉS

A sejtben belüli transzportfolyamatok egy meghatározó hányada membrán-határolt hólyagocskák, vezikulák közvetítésével zajlik. Az endoplazmatikus retikulum (ER), a Golgi-készülék, az endoszómák és a lizoszómák - az úgynevezett endomembrán rendszer tagjai - egymás és a plazmamembrán közötti anyagforgalma valósul meg így. A vezikuláris transzporttal összekapcsolt, membránnal határolt terek szigorúan elkülönülnek a citoszoltól, egymással azonban topológiai szempontból egyenértékűek (lásd 18.1. ábra). Ez nem is lehet másképp, hiszen a vezikulák lefűződése és fúziója sokkal szabadabb vízzoldékony és membrán-kötött anyagáramlást tesz lehetővé, mint a nem-ekvivalens terek közötti forgalmat biztosító, jól zárható csatornák (például az ER-be vezető transzlokon). Ugyanakkor az endomembrán rendszer különböző kompartmentjei funkció szempontjából világosan elkülönülnek, mert membránjuk összetétele és beltartalmuk is különbözik.

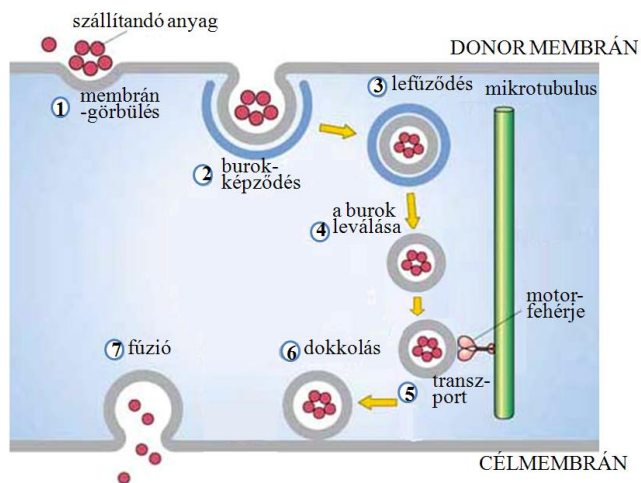
Az ER-től kiinduló és a Golgi-készüléken keresztülhaladó vezikuláris transzportot *szekréciós útnak* nevezik, a sejtben kívülre juttatott fehérjéket pedig *szekréciós fehérjéknek*. Ugyanakkor a szekréciós útvonalat „használgatja” a sejtet el nem hagyó, a Golgi-készülék különböző tereibe, a lizoszómákba vagy az endoszómákba irányított, ott működő fehérjék is. A plazmamembrán felől lefűződő vezikulák pedig az *endocitotikus útvonalon* haladnak végig, és szállítanak molekulákat a lizoszómába, vagy reciklizáció révén vissza a plazmamembránba (1. ábra).



19.1. ábra A sejtben működő fő vezikuláris útvonalak. Piros nyíl: anyagforgalom a plazmamembrán irányába (szekréciós út); kék nyíl: endocitotikus útvonal; lila nyíl: Golgi-ER retrográd transzport

A vezikuláris anyagtranszport irányait, állomásait és a benne résztvevő molekulákat az 1960-as évek óta kutatják. A kutatások egy része az úgynevezett pulse-chase módszeren alapult, amelynek során rövid ideig (régábban radioaktívan) jelölt aminosavakat juttattak szekréciós sejtekbe, és követték a szintetizálódott – elsősorban kiválasztásra kerülő – fehérjék sorsát. Ezt az utóbbi húsz évben kiegészítette a GFP riporterfehérjével fuzionált fehérjék lokalizációjának vizsgálata.

A vezikulák lefűződése a donor membránról, vándorlása a sejtben és fúziója a következő állomás membránjával természetesen szigorúan szabályozott. Bár az endomembrán rendszer elemei között óriási számban találhatunk méretre teljesen egyformának tetsző hólyagocskákat, ezek molekuláris összetétel szempontjából különböző identitással bírnak, amit a membránjukban található jelölő, úgynevezett markermolekulák különböző kombinációi biztosítanak. Hiszen minden egyes vezikulának pontosan „tudnia kell”, már születése, azaz a lefűződés során, hogy hová tart; ugyanúgy, ahogy egy kompartmentnek is tudnia kell, mely vezikulákkal lehet fuzionálnia, és melyekkel nem. Ugyanakkor a lefűződés, a felismerés és a fúzió mechanizmusa ugyanarra a sémára íródott (19.2. ábra), az egyes folyamatokban résztvevő molekulák egy családba tartoznak, vagy funkciójukban igen hasonlóak.



19.2. ábra Két membránfelszín közötti vezikuláris transzport általános lépései

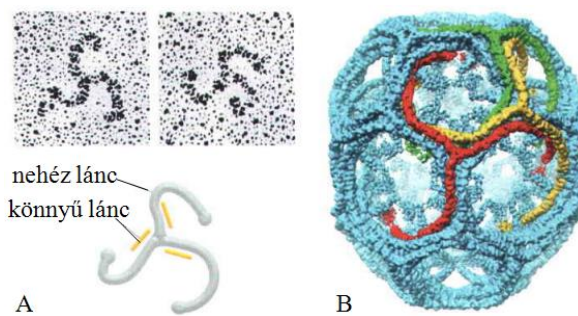
Ez a fejezet összefoglalja mindazokat az ismereteket, amelyek a vezikuláris transzport lépéseit, a szekréciós és az endocitotikus útvonalat általánosan jellemzik.

A VEZIKULÁRIS TRANSZPORT

A vezikulák lefűződése

Hogyan jöhet létre egy lefűződő hólyagocskák? Hiszen ennek során a donor membrán – bármi is legyen az – egy kis területe másképp kezd el viselkedni, új sorsot kezd követni, nyilvánvalóan valaminek meg kell változnia az eredeti összetételhez képest.

Ennek látványos, akár fénymikroszkópban is jól látható eleme a membrán citoszolikus oldalán kezdődő burokképződés, amelyben speciális, a membrán görbülését elősegítő burokfehérjék vesznek részt (lásd 19.20. ábra). Ezek különböznek az eltérő irányokba közlekedő vezikulákon. *COP-II* típusú burok (*COP*: coat protein) alakul ki az ER-től a Golgi-készülék felé irányuló anterográd (előre haladó) transzportban. *COP-I* típusú jön létre a Golgi-készülék felől az ER felé és a Golgi-készülék egyes ciszternáiból visszafelé haladó, úgynevezett retrográd transzport során. *Klatrin* veszi körbe a többi irányban haladó vezikulák többségét – ezek a leggyakoribb és legismertebb burokfehérjék. Ezek a burkok alapegységeik szabályos összeilleszkedésével egységes kosárszerű képet mutatnak (19.3. ábra).

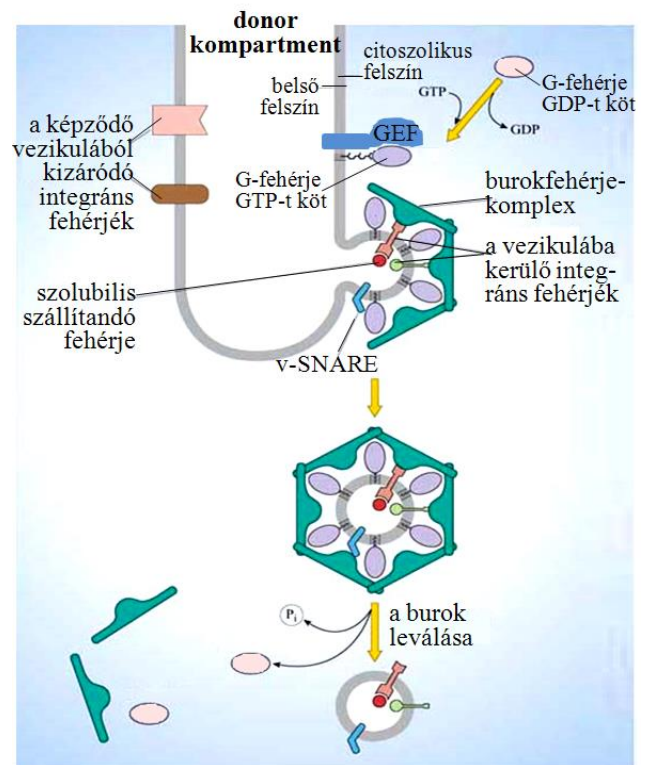


19.3. ábra. **A:** A klatrinburok alapegysége 3-3 könnyű és nehéz láncból áll, elektronmikroszkópban is láthatóan háromágú szerkezet. **B:** Az összeszerelődött klatrin-burok képe, három alapegység ki van emelve.

Ugyanakkor a lefűződést kiváltó folyamat a burok kialakulásánál korábban kezdődik, és a főszerepet GTP-kötő kis G-fehérjék (az előző fejezetekben már megismert Ras-hoz és Ran-hoz hasonló, kapcsolóként működő GTP-ázok) játsszák benne. Emlékeztetőül: a kis G-fehérjék a sejt számos életfolyamatában központi szerepet játszó molekulák. Aktivitásuk a GTP jelenlétéhez kötött, amelynek GDP-vé hidrolízisét GAP-ok (GTP-ase activating protein), a GDP GTP-vé cserélését a GEF-ek (guanine exchange factor) serkentik. Ily módon a GAP-ok a kis G-fehérjék aktivitásának kikapcsolásában, a GEF-ek pedig bekapcsolásában vesznek részt. A különböző burkok kialakulásában különböző kis G-fehérjék játszanak szerepet. Közülük több tucatnyit azonosítottak eddig emlősökben.

A vezikula-képződés kezdetén a donormembrán egy kis területén aktiválódnak a megfelelő GEF-ek, melyek integráns membránfehérjék. Aktiválódásukhoz valószínűleg a kompartmentből elszállítandó „rakomány”, „cargó”-molekulák jelenléte és membránreceptorhoz kötődése vezet, amely változást idéz elő a receptor szerkezetében és hozzájárul a GEF-ekkel történő interakcióhoz. Az aktív GEF odavonzza a GDP-kötött, inaktív formájában szolubilis kis G-fehérjét, és elősegíti a GDP-GTP cserét. Ennek hatására a G-fehérje konformáció-változáson esik át, felszínére kerül hidrofób N-terminálisa, ezáltal a

donormembrán citoszolikus felszínére horgonyzódik (19.4. ábra).



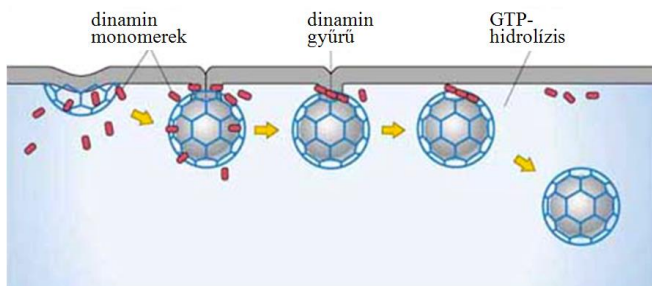
19.4. ábra. Kis G-fehérjék szerepe a burok képződésében és leválásában. GEF: guanine exchange factor. A v-SNARE a célmembránnal történő fúzióban szerepet játszó fehérje (lásd később).

A donormembránba lokalizálódott aktív kis G-fehérje kezdi aztán kölcsönhatásai révén maga köré gyűjteni mindazokat a fehérjéket, amelyek 1) szükségesek a membrán görbítéséhez, 2) további oldott és membránfehérje „cargó”-t kötnek meg, és 3) hozzájárulnak a vezikula identitásához, azzal, hogy meghatározzák a leendő célállomást is (19.4. ábra). A fogadó kompartment membránjával történő fúzióhoz nélkülözhetetlen az úgynevezett SNARE (SNAP receptor) fehérjecsalád, közülük a v-SNARE-k a vezikulák, a t-SNARE-k a cél- (target) membrán felszínén vannak, szerepüket részletesebben később tárgyaljuk. Ugyanígy, már ekkor beépülnek egy másik kis GTP-áz családba, a *Rab*-ok GEF-jei, szintén a fúzió bemutatása során lesz róluk szó.

A burokfehérjék membránhoz vonzásában nemcsak a kis G-fehérjék, hanem lipidkomponensek is szerepet játszanak. A membránban található foszfatidil-inozitrolra kerülő foszfátcsoportok különböző kombinációi az endomembrán rendszer más-más tagján jönnek létre, így a fehérje-összetevők mellett lipidek is részt vesznek a membránok identitásának kialakításában. Például a plazmamembrán jellegzetes alkotója a foszfatidil-inozitol 4,5 bifoszfát ($PI(4,5)P_2$), amelynek jelenléte szükséges a klatrinburok kötődéséhez, így az endocitózis első lépéseéhez.

A membránhoz kötődött burokkfehérjék között egyfajta polimerizáció következik be. Ahogyan számuk növekszik a donormembrán egy területén, szerkezetükből adódóan fokozzák a membrán görbülését, végül kialakul a buroktípusra jellemző méretű hólyagocska.

A vezikula leválását a *dinamin* nevű motorfehérje teszi lehetővé. Sok dinamin spirálszerűen körbeveszi a nyakrégiót, GTP-hidrolízis hatására megnyújtva, majd elszakítva a nyakat a donormembrántól. Először a legintenzívebben kutatott klatrin-burkos vezikulák lefűződésével kapcsolatban azonosították, ma már úgy gondolják, hogy a dinamin, vagy dinamin-szerű fehérjék minden vezikula leválásánál jelen vannak (19.5. ábra).



19.5. ábra. A dinamin szerepe a vezikula leválásában. A dinamin monomerek oligomerizálódnak a formálódó vezikula „nyaka” körül. GTP-hidrolízis hatására szerkezetük megváltozik, összehúzzák a nyakat és kiváltják a rendkívül közel kerülő lipidrétegek fúzióját.

A burok elvesztése és a vezikulák transzportja

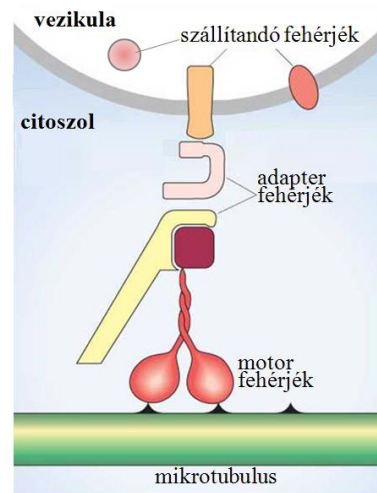
Lefűződés után a vezikula gyorsan elveszti burkát. Ez igen fontos lépés, hiszen így kerülhetnek felszínre azok a - még a képződés során a membránba integrálódott - komponensek, amelyek a sejt váz mentén történő vándorlást és a fúziót is lehetővé teszik.

A kis G-fehérjék saját belső GTP-áz-aktivitással bírnak, ezért egyfajta időzítőként működhetnek. Ha hidrolizálják GTP-jüket, membránnal való kapcsolatuk meggyengül, ismét a citoszolba kerülnek. A burokkfehérjék a kis G-fehérjék hiányában szintén elvesztik affinitásukat a membránfelszínhez és a citoszolba távoznak (19.4. ábra).

A lefűződött vezikulák vándorlása a sejt váz mentén történik, motorfehérjék vesznek részt benne (19.6. ábra). A megfelelő motor kiválasztása a vezikula membránösszetételében van kódolva. Tehát a vezikulák membránjának egyedi fehérje- és lipidmintázata nemcsak a fúziót, hanem már a sejten belüli mozgás irányát is meghatározza.

A vezikulák fúziója

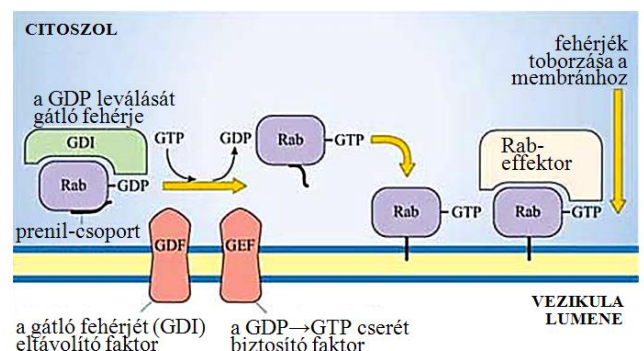
Egy küldemény szállításának lebonyolítása sem végződhet sikeresen a pontos cím ismerete vagy a kézbesítéshez szükséges apparátus nélkül. Ahogy a Bevezetés is említi, a vezikulák membránja olyan



19.6. ábra. A különböző motorfehérjék a szállítandó vezikula felszínének egyes fehérjeihez - sokszor adapterek közvetítésével - kötődnek. A vezikula membránösszetétele határozza meg a kapcsolódó motorfehérje minőségét, és így a szállítás irányát is.

molekulákat tartalmaz, amelyek együttes kombinációja szükséges és elegendő mind a célfelszín felismeréséhez, mind a folyamat „technikai” részéhez, a két membrán egyesüléséhez. A lefűződés után a burokkfehérjék leválása azt a célt is szolgálja, hogy a vezikula ezen membránfehérjei is a felszínre jussanak, és elvégezhessék feladatukat.

A vezikulákkal zsúfolt citoszolban a fúzióra alkalmas felszínnek nagy specificitással kell egymást felismerniük. Ebben ismét kis G-fehérjék egy csoportja, az úgynevezett *Rab*-ok (szintén Ras-rokon fehérjék) játszanak döntő szerepet, amelyek GDP-kötött formájukban a citoszolban vannak, fogva tartják őket specifikus inhibitoraik. A burokkfehérjék távozása után előtérbe kerülő faktorok segítségével a GTP-kötött *Rab* szintén a membrán citoszolikus felszínéhez rögzül. Ugyanis - a lefűződést segítő kis G-fehérjékhez hasonlóan - egy lipidhorgony, a *Rab*-ok esetében egy C-terminálshoz kapcsolódó prenil-csoport kerül olyan helyzetbe, hogy alkalmassá válik a membránba ékelődésre (19.7. ábra).



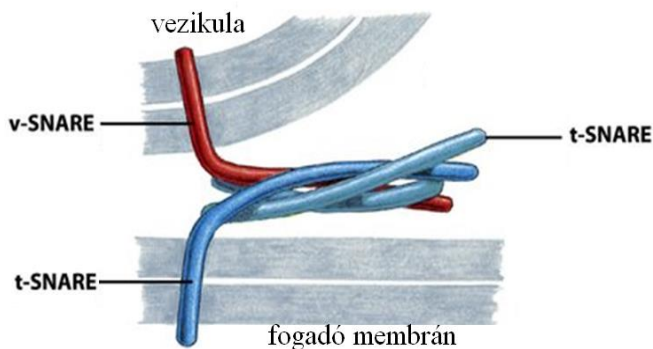
19.7. ábra. A *Rab*-ok aktiválódása. GTP-kötött aktív formájukban sokféle fehérjét (specifikus *Rab*-effektorokat) toborozhatnak a felszínre. GDI: GDP dissociation inhibitor; GDF: GDI-displacement factor; GEF: guanine exchange factor.

Az aktív Rab-ok sokféle folyamatban szerepet játszó fehérjével léphetnek kölcsönhatásba, ezeket gyűjtőnéven *Rab-effektoroknak* nevezik (19.7. ábra). Emberben eddig körülbelül hetven különböző Rab-fehérjét azonosítottak, ők alkotják a legnépesebb kis G-fehérje alcsaládot. Rab-ok szükségesek a fúziót lebonyolító SNARE-k működéséhez is.

A sikeres fúzió után, „dolguk végeztével” a Rab-ok hidrolizálják GTP-jüket, kiszabadulnak a membránból és újra a citoszolba kerülnek.

A membránfúziót a már említett SNARE-k bonyolítják le, amelyek mechanikai szerepükön kívül részt vesznek a megfelelő donor-és célmembrán azonosításában is. Ezzel összefüggésben szintén népes fehérjecsalsádról van szó: több mint hatvan tagját izolálták eddig. A vezikula membránjában a v-SNARE-k, a célmembránban pedig komplementer partnereik, a t-SNARE-k lokalizálódnak. Ha a komplementer v- és t-SNARE-k egymás fizikai közelségébe kerülnek, α -héliceik egy stabil közös köteget, a transz-SNARE komplexet hozzák létre (19.8. ábra).

Az α -hélixek feltekercsedése olyan közelségbe hozza a két membránfelszínt, hogy még a vízmolekulák is kiszorulnak a két lipidréteg közül. Ekkor egyes lipidmolekulák átvándorolhatnak egyik citoszolikus lipidrétegből a másikba, és még részleteiben nem teljesen tisztázott módon a két membrán egyesül. A transz-SNARE komplex létrejötte energetikai szempontból rendkívül kedvező, olyannyira, hogy önmagában biztosítja azt a nem kevés energiát, amely a membránok fúziójához szükséges.

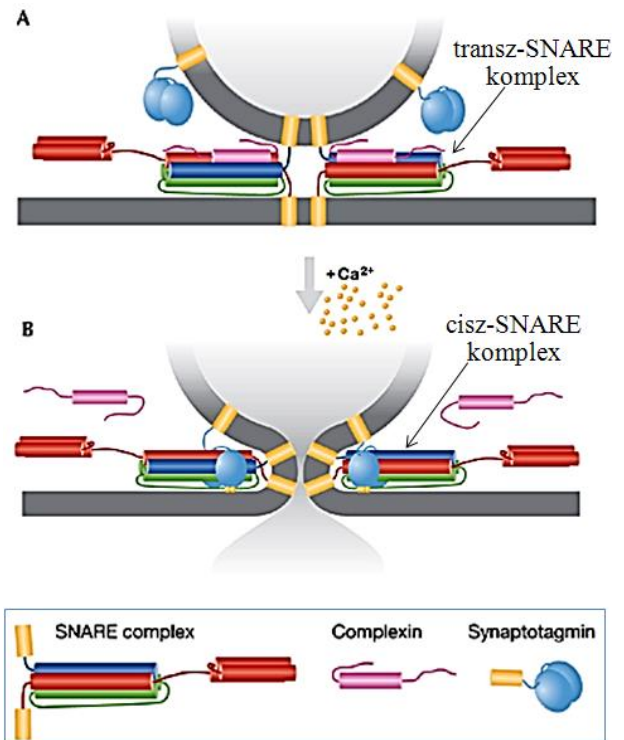


19.8. ábra. A v-SNARE és a t-SNARE-k stabil komplexet alakítanak ki, megfelelő közelségbe hozva így a vezikula és a célmembrán lipidrétegeit.

A fúzió azonos identitású membránok között is bekövetkezhet. Ekkor azonos v-, illetve a nekik megfelelő t-SNARE-komplexek találhatók mindkét membránfelszínen, szimmetrikusan. Ez a folyamat a *homotipikus fúzió*, míg az eltérő kompartmentek között *heterotipikus fúzió* jön létre.

A fúzió nem mindig következik be a komplementer SNARE-k interakciója után. A szabályozott szekréció esetében a befejezéshez egy külső jel is szükséges. A legtöbbet tanulmányozott membránfúziós esemény, a

szinaptikus vezikulák exocitózisa során egy részlegesen összeszerelődött transz-SNARE komplex jön létre, a fúzió befejeződéséhez pedig a külső jel az axon-terminálison bekövetkező Ca^{2+} -beáramlás biztosítja, amely az exocitózishoz szükséges Ca^{2+} -függő fehérjéket aktiválja (19.9. ábra).



19.9. ábra. Az idegsejtek axonvégződéseiben összeszerelődik a transz-SNARE komplex, de csak Ca^{2+} -ion jelenlétében következik be a fúzió. Ekkor a Ca^{2+} -ot kötő synaptotagmin szintén kapcsolódik a membránhoz, és eltávolítja a fúziót akadályozó komplexint.

A célmembrán regenerálódása

A folyamat kezdetén két külön kompartmenthez tartozó membrán között létrejött transz-SNARE komplex a membránok egyesülése után, mint cisz-SNARE komplex marad fenn (19.9. ábra). Ennek szét kell bomlania, hogy a benne résztvevő t-SNARE-k újabb fúzióban játszhasanak szerepet. Ha a négyes α -hélix olyan stabil állapotot eredményez, hogy létrejötte képes a fúzióhoz szükséges energiát biztosítani, akkor szétválásához viszont nyilvánvalóan külső energiaforrás, ATP felhasználása szükséges. Egy ATP-áz aktivitású fehérje bontja szét a feltekercedett héliceket, és választja szét a komplexet alkotó SNARE-kat.

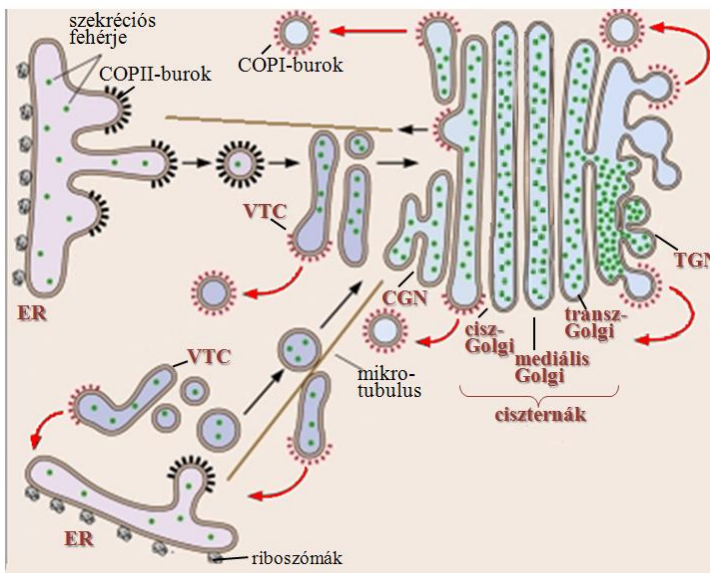
A célmembrán területén felhalmozódó lipid- és fehérjetöbblet (például a transzportált fehérjét szállító receptorok, különböző GEF-ek, v-SNARE-k) retrográd transzporttal, a vezikuláris transzport ismertett lépéseivel jutnak vissza a kiindulási kompartmentbe.

A SZEKRÉCIÓS ÚT

Az ER és a Golgi-készülék közötti anyagforgalom

Az ER-ből a minőség-ellenőrzésen átesett oldott és membránfehérjék COP-II-burkos vezikulákban indulnak tovább a Golgi-készülék cisz oldala felé. Ezt a haladási irányt, mivel a szekréciós út a sejt belsejéből a sejten kívüli tér felé halad, *anterográd*, azaz előirányuló transzportnak nevezik. A vezikulák általában az ER Golgi-készülék felé néző, kötött riboszómáktól mentes felszínén, az ER kilépési helyein (ER exit site) alakulnak ki.

Néhány membránfehérjénél sikerült egy olyan jelet kimutatni, amely a citoszol felőli oldalon a COP-II burok egyik elemével interakcióba lép és lehetővé teszi szelektív transzportjukat. Vannak olyan vízdékvony szekretáló fehérjék is, amelyek ilyen szignállal rendelkező membránfehérjék lumen felőli részéhez – mint egy receptorhoz – kapcsolódva gyűlnek össze a lefűződés helyén. Ugyanakkor feltehető, hogy a nagy mennyiségben képződő szekréciós fehérjék többségének nincs szüksége külön transzport-jelre, hiszen nagy koncentrációban vannak jelen az ER-ben, emiatt aztán a képződő vezikulákba is elsősorban ők kerülnek bele. Kísérletek sora igazolta, hogy egyéb jelre a szekréciós fehérjéknek nincs is szükségük: az anterográd útvonal egyenesen a sejten kívüli térbe szállítja őket, csak a szekréciós út egyéb célállomásai (például a lizoszóma) igényelnek külön szignált.



19.10. ábra. A Golgi-készülék kompartmentjei és a közöttük közlekedő vezikulák típusai. Rövidítések: ER: endoplazmatikus retikulum; VTC: vezikuláris-tubuláris klaszter; CGN: cis-Golgi hálózat (network); TGN: transz-Golgi hálózat (network). Az anterográd irányú transzportot fekete, a retrográd transzportot piros nyilak jelzik.

A legtöbb esetben a burok elvesztése után a vezikulák egymással fuzionálnak (homotipikus fúzió); hosszú, csőszerű szerkezetet képezve, amelyet

vezikuláris-tubuláris klaszternek is neveznek. Ezek végül a Golgi-készülék cisz oldalához érkeznak és fuzionálnak vele, a cisz-Golgi hálózatot (CGN, cis-Golgi network) alkotva (19.10. ábra).

Az ER-ben feladatot ellátó, úgynevezett ER-rezidens fehérjék természetesen nem tartalmaznak semmiféle olyan jelet, amely őket a Golgi-készülék felé irányítaná. Ugyanakkor a vezikuláris transzport mechanizmusa, amely csak „pozitív szelekcióra” képes, nem tudja kizárni őket a képződő vezikula üregéből, az ER-rezidens fehérjék egy része időről-időre megszökik egy-egy lefűződött COP-II-burkos vezikulában. Miután egyéb jel hiányában a szekréciós út „alapértelmezett” végállomása az extracelluláris tér, az ER enzimeit egy idő után kiürülhetnek a sejtől. Emellett a vezikuláris transzport során a donormembrán felszíne állandóan csökken, és ez természetesen az ER-re is vonatkozik. Tehát a távozott membránt, és vele az anterográd transzportot biztosító membránfehérjéket is vissza kell juttatni az ER-hez.

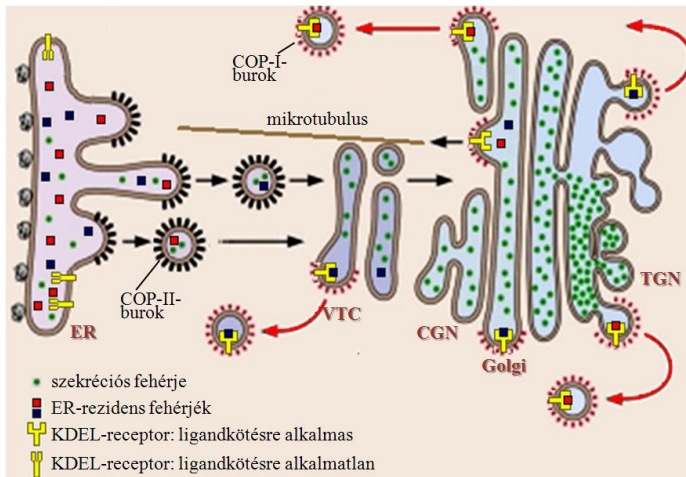
Ez is vezikuláris transzporttal történik: most a vezikulák a Golgi-készülekről fűződnek le és haladnak „hátrafelé”, az ER irányába: ez a *retrográd transzport* (19.10. ábra). Ezen kívül valamennyi, a szekréciós út későbbi állomásai között lejátszódó, pótlás céljából visszafelé irányuló szállítást is így nevezik.

Az is érthető, hogy az ellentétes irányba haladó vezikulákat más típusú fehérjéknek kell burkolnia. A retrográd transzport vezikuláit COP-I-es fehérjék burkolják (ezeket azonosították először, ezért kapták az I sorszámot). Lefűződésük és a burok elvesztése más kis G-fehérjék interakciója során következik be, de a mechanizmus megegyezik a vezikuláris transzport alaplépéseivel.

Az igazán hatékony visszaszállításhoz a szolubilis ER-rezidens fehérjék külön jelet, úgynevezett *retenciós jelet* hordoznak. Ez a C-terminálisukon található KDEL szignál (Lys-Asp-Glu-Leu vagy nagyon hasonló aminosavakból álló szekvencia). A KDEL szignált a KDEL membránreceptorok ismerik fel, és megkötik az ER-ből kiszökött fehérjét. A KDEL-receptorok a szerveződő COP-I-es vezikulák területére koncentrálnak. Hasonló módon jut vissza kiindulási helyére, az ER-be valamennyi, a burokképződésben és szállításban szerepet játszó faktor (19.11. ábra).

Az ER és a Golgi-készülék közötti forgalom egyes membránkomponensei, például a szekréciós fehérjéket a Golgi-készülék felé szállító receptorok egyrészt beépülnek a COP-II-es vezikulába, de „üresen” a COP-I-es típusú vezikulák szállítják vissza őket az ER felszínére. Vajon mi biztosíthatja azt, hogy az általuk szállított fehérje lehetőleg csak az egyik irányba haladjon, és ne kerüljön vissza a receptorával együtt a kiindulási helyre? Például a KDEL-receptorok esetében fontos, hogy az ER lumenének elszökött enzimeit csak a Golgi-készülék területén kapcsolódjanak nagy affinitással hozzájuk, az ER-be visszatérve váljanak le. Különböző hasonlóan receptorukhoz, ők is ide-oda mozognának a kompart-

mentek között, ahelyett, hogy az ER-ben koncentrálnának. A KDEL-receptor esetében már ismert, hogy az ER és a Golgi-készülék belső tere közötti kis pH-különbség okoz olyan változást a receptor szerkezetében, amely lehetővé teszi, hogy az ER-ben elengedje a későbbi állomásokon „felszedett” fehérjét (19.11. ábra). Ezek a mechanizmusok a szekréciós út más szakaszain is hasonlóképpen működnek. Az egyes kompartmentek közötti eltérő pH-t és ion-összetételt a szelektív transzportált különböző ioncsatornák és pumpák biztosítják.



19.11. ábra. Az ER fehérjéinek retrográd transzportja. A szolubilis fehérjéket specifikus KDEL-jelüket felismerő és kötő KDEL-receptorok szállítják vissza az ER-be. A KDEL-receptor csak az ER lumenénél savasabb terekben képes megkötni szubsztárait, ezért csak retrográd irányba, vissza az ER-be szállítja a „megszökött” ER-rezidens fehérjéket. Jelölések és rövidítések: lásd 19.10. ábra.

A Golgi-készülék működése

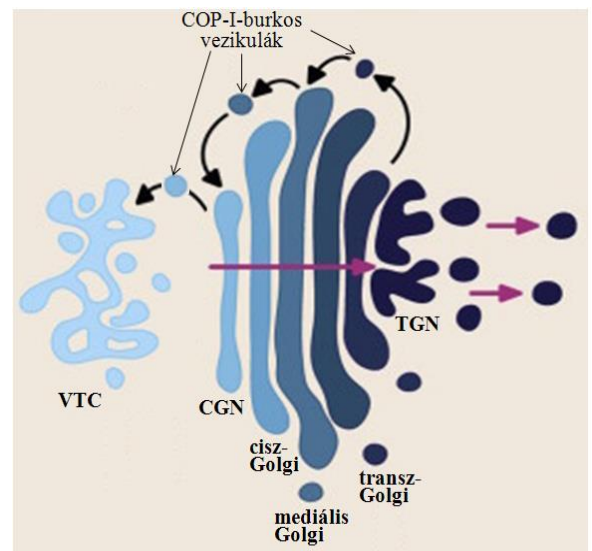
Az összetett szerkezetű Golgi-készülék fő feladata az ER-ből érkező fehérjék fogadása, szerkezetük módosítása (elsősorban a cukor-oldalláncoké), és továbbítása a különböző célállomások felé. Felépítés és funkció szempontjából is kisebb egységekre tagolható (19.10. ábra).

Az ER felőli, „belépő” felszíne a cisz-Golgi hálózat (CGN), amelyet a fuzionáló ER-ből érkező vezikulák hoznak létre. Innen is folyamatosan történik retrográd transzport az ER irányába. A CGN üregének fehérje-összetétele az ER-étől már jelentősen különbözik.

A szekréciós fehérjék ezután a Golgi-készülék ciszternáiba jutnak. Ezek, lapos, kiterjedt felszínű zsákok, a legtöbb eukariótában négy-hat ciszterna található szoros közelségben. Közöttük gyakran csőszerű összeköttetések figyelhetők meg. A lefűződő vezikulák leginkább az egyes ciszternák szélén láthatóak, ennek oka valószínűleg az, hogy a membrán ott eleve erősen görbült. A rendezetten elhelyezkedő ciszternák között is megkülönböztethetünk belépési (cisz-Golgi), középső (mediális Golgi) és kilépési (transz-Golgi) ciszternát (19.10. ábra).

A teljes Golgi-készülék kilépő felszínén a CGN-hez hasonló, folyamatosan formálódó, zsák-és csőszerű elemekből álló transz-Golgi hálózat jön létre (TGN: trans Golgi network). A készüléken belül ez az utolsó állomás működik elosztó-központként: ennek megfelelően a TGN-ről is folyamatosan vezikulák képződnek, a sejtfelszín irányába, az endomembrán rendszer más részei felé, vagy vissza, a retrográd transzportot biztosítva.

A mai felfogás szerint a Golgi-készüléken belüli anyagáramlást az úgynevezett *ciszterna-érési modell* magyarázza. Eszerint nem a szekréciós és membránfehérjék mozognak külön-külön, vezikulákba csomagolva (ez a hagyományos vezikuláris transzport modell), hanem maguk a ciszternák „vonulnak” előre, és a róluk lefűződő, visszafelé mozgó hólyagocskák révén folyamatosan változik enzim- és lipid-összetételük. Ezek szerint úgy kell elképzelnünk a szekréciós fehérjék érését, hogy valójában nem mozdulnak ki az első állomáshelyről, ahová az ER-ből érkeztek: csak a környezetük, az őket módosító enzimek változnak folyamatosan, és a ciszterna, amelyben vannak, folyamatosan mozog a mikrotubulus-hálózat mentén a plazmamembrán felé. A ciszternák körüli COP-I-es vezikulák pedig valamennyien retrográd transzportot bonyolítanak, a soron következő érő ciszternába viszik vissza a módosító fehérjéket (19.12. ábra). Emellett lehetséges, hogy mindkét folyamat jelen van a szekréciós fehérjék szállítása során: egyes fehérjék gyorsabban érnek és anterográd irányban, vezikulákban jutnak a következő ciszternába, míg a nagy többség helyben marad, és megvárja, míg az enzimek cserélődnek ki körülötte.



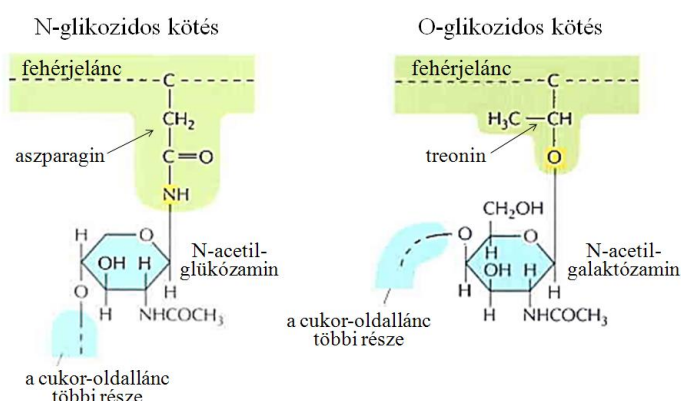
19.12. ábra. A Golgi-készüléken belüli anyagáramlás ciszterna-érési modellje. A változó színárnyalat a beltartalom és a membrán eltérő enzim-összetételét jelzi.

A Golgi-készülékben zajló módosító folyamatok

A plazmamembránba és a sejten kívüli térbe kerülő fehérjék többsége tartalmaz kovalens kötéssel kapcsolódó cukor-oldalláncot. A Golgi-készülék egyik

fő feladata a *glikoproteinek és glikolipidek cukortartalmának formálása* - ennek megfelelően a sok glikoproteint szekretáló nyálkatermelő sejtekben igen fejlett Golgi-készülék található.

A glikoproteinek és glikolipidek nagy aránya és cukor-oldalláncaik sokfélesége jelzi a glikoziláció fontosságát. A cukor-oldallancok sokkal kevésbé flexibilisek, mint a peptidek, a sejt felszínén ezért védőburkot (glikokalix) képesek alkotni: nem engedik a fehérjelánc közelébe az extracelluláris tér bontóenzimeit. A nagy cukortartalmú nyálkaréteg a patogénekkal szembeni ellenállást is növeli. Ez lehetett a glikoziláció ősi feladata: az eukarióta sejt megszabadulhatott a prokariótákra jellemző rigid sejtfaltól, ugyanakkor a plazmamembrán nem maradt védelem nélkül. A sejtfelszíni cukor-oldallancok sejtípusra jellemző összetétele és az őket felismerő fehérjék fontos szerepet játszanak számos élettani folyamatban, például a sejtek vándorlásában és kapcsolódásában, és közismert a cukorlancok szerepe a fehérjék antigén tulajdonságainak kialakításában. A glikoproteinek kétféleképpen kaphatják meg cukorrészüket: *N-glikozidos kötés* révén, amely az ER-ben jöhet létre aszparaginon, vagy *O-glikozidos kötéssel*, amely elsősorban a Golgi-cisztérnában (és kis arányban a citoszolban) alakulhat ki, leggyakrabban szerinen, treoninon vagy tirozinon (19.13. ábra).



19.13. ábra. A fehérjeláncokon kialakuló kétféle glikozidos kötés szerkezete.

Valamennyi Golgi-rezidens cukor-módosító enzim transzmembrán fehérje. Minden cisztérnára más glikozidázokból és glikozil-transzferázokból álló enzimmészlet jellemző. Az egyes enzimek által katalizált reakciók egymásra épülnek: például a középső Golgi-cisztérná enzimeinek csak az a fehérje lehet szubsztátja, amely már átesett a cisz-Golgi-specifikus folyamatokon.

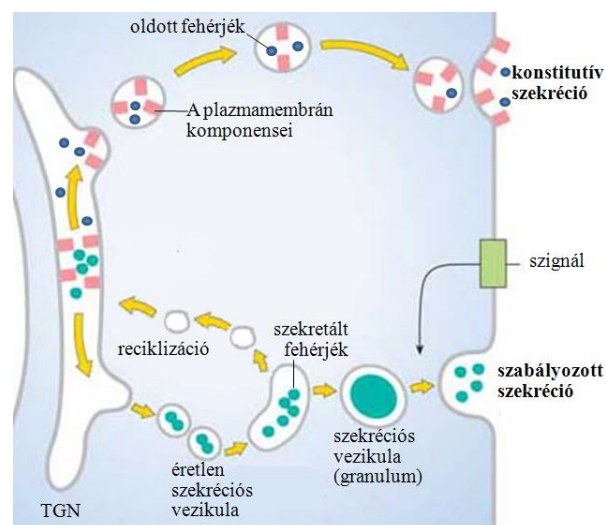
A Golgi-cisztérnában szintetizálódó, O-glikozidos kötést tartalmazó fehérjék közül a legfontosabbak a mucinok és a proteoglikánok. A *mucinok* nagy molekulású glikoproteinek, a nyálka fő komponensei, a testben található csatornák (légutak, emésztőtraktus, urogenitális rendszer) háma termeli elsősorban védelem céljából. A *proteoglikánok* fehérje-részének („core” protein) egyes szerinjere

egyesével kerülnek rá a hosszú, el nem ágazó glükózaminoglikán polimert képező diszacharidok. A proteoglikánok általában erősen negatív töltéssel rendelkeznek, köszönhetően cukor-oldalláncaik uronsav-tartalmának és annak, hogy a TGN területén nagy arányban szulfát-csoportok kerülnek rájuk. A mucinokhoz hasonlóan nagy a vízmegtartó képességük és a hosszú, rigid poliszacharid oldallancoknak köszönhetően nagy az ellenállásuk az nyomóerővel szemben. Nagy a térkitöltésük, gélszerű állományt képeznek, amely lehetővé teszi az anyagok (ionok, kis molekulák, metabolitok, például tápanyagok, hormonok) áramlását. Az extracelluláris mátrix fő komponensei, de sok proteoglikán integráns membránfehérje. A kötőszövetek alapvető alkotóelemei (minderről a 20. fejezet részletesebben ír majd).

A plazmamembrán külső felszínét borító cukorlancokból álló réteg, a glikokalix kialakításában nemcsak membrán-kötött glikoproteinek, hanem glikolipidek is részt vesznek. Ezek túlnyomó része a szfingolipidek közé tartozó *glikoszfingolipid*. A Golgi-készülék területén jönnek létre, és a sejt felszínének védelme mellett szerepet játszanak a sejtek felismerési és jelátviteli folyamataiban is. Gyakran koncentrálnak a lipidtutajok területén. A szfingolipidek másik csoportját alkotó *sfingomielin*ek – mint nevük is jelzi – nagy mennyiségben vannak jelen az idegsejtek axonjait körülvevő mielinhévely membránjában, de valamennyi sejt plazmamembránjának alapvető alkotóelemei. Szintén szerepet játszhatnak a jelátvitelben is.

A Golgi-készülékből a plazmamembrán felé

A szekréciós út utolsó állomásáig valamennyi molekula együtt szállítódik, a TGN feladata, hogy megkülönböztesse és a megfelelő végállomás – a plazmamembrán vagy a lizoszóma - felé indítsa el őket. A plazmamembrán irányába is kétféle módon juthatnak: *konstitutív* (folyamatos) vagy *szabályozott* szekrécióval (19.1. és 19.14. ábra).

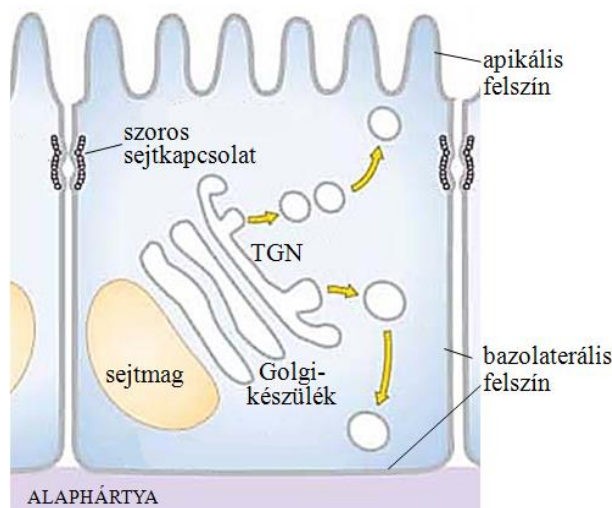


19.14. ábra. Az állandóan működő konstitutív és a speciális sejtekre jellemző szabályozott szekréció.

A plazmamembrán felé irányított molekulákat tartalmazó vezikulák a valamennyi sejtben állandóan működő *konstitutív szekréció* során folyamatosan fűződnek le a TGN területéről és a dokkolás után fúzióval, exocitózissal juttatják tartalmukat az extracelluláris térbe vagy a membránba. Ilyen módon történik a sejtközi állomány komponenseinek, valamint a membrán fehérjeinek és lipidtartalmának utánpótlása.

A soksejtű szervezetekre jellemző munkamegosztás fejlődése során igen korán elkülönültek azok a sejt, amelyek valamilyen váladék termelésére szakosodtak. Ezek az úgynevezett *szekréciós sejt*ek a folyamatos, valamennyi sejtfeleségre jellemző *szekréció* mellett *szabályozott* ürítésre is képesek – speciális, általában nagy mennyiségben szintetizált termékük *szekréciós* vezikulákba csomagolva várakozik, majd aztán valamilyen jel hatására ezek egyszerre fuzionálnak a plazmamembránnal. A jelet általában a sejt felszínén bekövetkező ligand-receptor kölcsönhatás váltja ki, vagy - ahogyan az idegsejtek esetében – membránpolarizáció. Az idegsejtek szabályozott *szekréciója* messze a legismertebb valamennyi közül.

A szabályozott *szekréció*t végző sejt sok esetben polarizáltak, bennük a nagy mennyiségben termelt *szekretált* fehérje ürítése általában az egyik kitétetett, úgynevezett *apikális* felszín irányába történik. Ugyanakkor természetesen a sejtártya más területeire is történik *konstitutív szekréció*. Polarizáltak az idegsejtek is, ahol az axon és végződéseinek membránja számít *apikális* felszínnek. Legtöbbször a TGN területén eldől, hogy a lefűződő vezikula melyik felszín felé indul el (19.15. ábra).



19.15. ábra. Kétféle irányba zajló szekréció egy tipikus polarizált sejt, a bélhámsejt belsejében.

Sok *szekretált* hidrolitikus enzim, hormon és neurotransmitter, valamint a membránfehérjék egy része a TGN elhagyása után proteázok révén módosulhat. A specifikus helyeken bekövetkező proteolízis „időzítésében” segít a vezikulák fokozatos, savasodása, amely a proteázok aktivitásához szükséges. A proteolízis következménye lehet

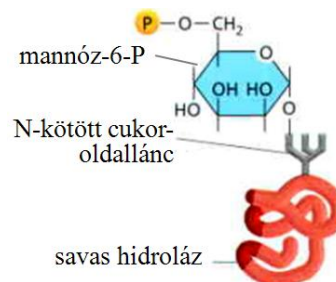
aktiválódás. A *szekretált* bontóenzimek esetében ennek a lépésnek a késleltetése azt a célt szolgálja, hogy a sejt elkerülje saját alkotóelemeinek hidrolízisét. Más esetekben a „vágatlan” protein sokkal stabilabb szerkezetű, ezért történik csak közvetlenül az exocitózis előtt az aktiválás.

A Golgi-készülékből a lizoszómák felé

A TGN-ben zajló osztályozás legkorábban megismert eleme a lizoszómába kerülő, ott működő vízdékony és membránfehérjék szelektív kiválogatása volt. Ehhez a ritka lizoszomális betegségek tanulmányozása vezetett. Ezek a genetikai rendellenességek azzal járnak, hogy valamilyen – vagy súlyos esetben mindegyik - bontóenzim hiányzik „munkahelyéről”, a lizoszómából, ezért a sejt nem képesek megemészteni az oda bejutott anyagokat. Néhány esetben az enzimek ugyan rendben szintetizálódtak és kotranszlációs transzlokációval bejutottak az ER-be, de megfelelő jel hiányában konstitutív *szekréció*val kiürültek a sejtől. Genetikai és biokémiai módszerekkel sikerült azonosítani az ilyen páciensekből mutáció következtében hiányzó fehérjéket, és így fény derült azokra a folyamatokra, amelyek a bontóenzimek lizoszómába vezető útját biztosítják.

A lizoszómában működő bontóenzimek *vízdékony savas hidrolázok*, amelyek csak a lizoszómában uralkodó igen alacsony, 4-4,5-ös pH-n működőképesek, mert odavezető útjuk során inaktív proenzim formában vannak. Csak a lizoszóma erősen savas, elzárt közegében következik be az aktiválódást biztosító specifikus proteolízisük. A *lizoszóma-specifikus membránfehérjék* közé tartoznak – többek között - a különféle transzporterek, amelyek az elbontott makromolekulák építőköveit juttatják vissza újrahasznosítás céljából a citoszolba, a savasságot biztosító protonpumpák, illetve a dokkoláshoz, fúzióhoz és a lefűződéshez szükséges komponensek. Ezek a membránfehérjék általában erősen glikoziláltak, ami védelmet biztosít a lizoszóma-membrán belső felszínének a savas hidrolázok emésztésével szemben.

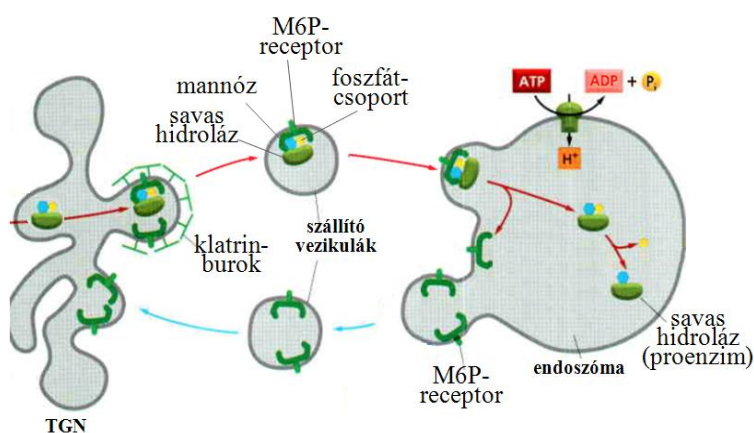
A savas hidrolázok (az aminosav-szekvencián alapuló ER-jel mellett) valamennyien módosulnak N-glikozidos cukor-oldalláncukon is. Egy mannóz-6-foszfát (M6P) jelet kapnak még a cisz-Golgi ciszterna területén, azaz a cukorlánc egyes mannózainak 6. szénatomjára foszfát-csoport kerül (19.16. ábra). Ezt a TGN membránjában lokalizált M6P-receptor ismeri fel.



19.16. ábra. A mannóz-6-foszfát (M6P) jel

A TGN-ről lefűződő vezikulák közül a lizoszóma felé indulók szerkezete a legismertebb, legtöbbször klatrinból álló burok veszi körbe őket. A burok összeszerelésében itt is G-fehérjék játszanak szerepet. A TGN membránjában speciális összetételű folt jön létre, benne a lizoszómára jellemző membránfehérjékkel és az M6P-receptorokkal.

A megfelelő görbületet elért vezikula dinamin segítségével lefűződik, majd a burok leválása után egy úgynevezett endoszómával fúzionál (lásd később). A pH 6-nál savasabb, az endoszómákra jellemző környezetben az M6P-receptor elengedi a szállított savas hidrolázt, majd a foszfátcsoport is leválik. Az M6P-receptor reciklizálódik: visszaszállítódik a Golgi-készülék transz oldalához (19.17. ábra).



19.17. ábra. Az M6P-jelet tartalmazó lizoszomális enzimek sorsa. Piros nyíl jelzi az enzimek szállítási útját (az endoszóma később egyesül egy lizoszómával). Kék nyíl jelzi a receptor reciklizációját.

Az endoszóma membránja és lumene tehát már tartalmazza a lizoszómára jellemző fehérjekészletet, majd fúzió után maga is részévé válik egy meglévő lizoszómának (19.23. ábra).

A lizoszómák

A lizoszómák belsejében sokféle bontóenzim (savas hidroláz) található, melyek a lizoszómák terébe bekerült szerves anyagokat alapegységeikre bontják. A degradáció zárt térben történik, ez megakadályozza, hogy a citoplazmát a lizoszomális enzimek károsítsák. A lizoszómák membránjában transzporterek vannak, ezért a bontófolyamatok végtermékei a citoplazmába könnyen átjutnak, de a különböző emésztendő makromolekulák nem. A bontási folyamat nem mindig eredményez kismolekulájú végterméket, ilyenkor az emésztetlen anyagok felhalmozódnak a lizoszómákban, úgynevezett maradványtestek jönnek létre a sejtekben. Ezek különösen gyakoriak már osztódásra képtelen, hosszú életű sejtekben, és a kor előrehaladtával egyre több található belőlük az idegsejtekben vagy a szívizom sejteiben.

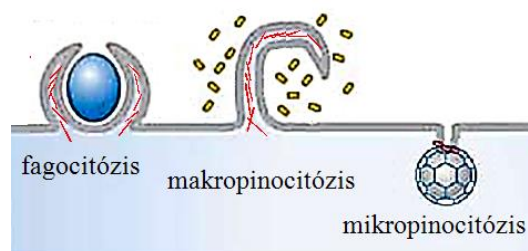
AZ ENDOCITÓZIS

Az *endocitózis* a külvilág felől a sejt belsejébe vezető, membránbefűződéssel és –leválással járó, vezikulák által közvetített anyagfelvételi utak összességét jelöli. A lipid kettősrétegen keresztül, csatornák, transzporterek és pumpák biztosította *transzmembrán transzporttal* a sejt számára szükséges anyagok csak kis hányada, az igen kisméretű molekulák képesek átjutni. Valamennyi egyéb tápanyag *vezikuláris transzporttal* jut el a lizoszómaig, ahol lebontásra kerül, és komponensei a citoszolba jutnak hasznosítás céljából.

Az endocitózis során azonban korántsem jut valamennyi felvett anyag a lizoszómába; az endocitózis funkciója egyáltalán nem korlátozódik a tápanyagfelvételre. A sejt életének más területein is fontos szerepet játszik: részt vesz a védekezésben, a jelátviteli folyamatok szabályozásában. A szekréció utolsó lépésekor, az exocitózis során jelentős membrántöbblet keletkezhet a sejt felszínén, amelyet vissza kell juttatni a donor sejtsejtszervecskéhez – ezt szintén endocitózis biztosítja. A vírusok és más intracelluláris patogének többsége is az endocitózis folyamatában szerepet játszó apparátust használja ki a fertőzés során.

Az endocitózis tanulmányozását segíti, hogy a transzport kiinduló állomása a kísérletesen könnyedén manipulálható extracelluláris tér. Fluoreszcensen vagy egyéb módon jelölt oldott molekulák, különböző méretű részecskék, receptorok, ligandok, membránalkotók alkalmazásával követhető a sejtbe jutott anyag további sorsa. A folyamat élesztősejtekben az állati sejtekhez nagyon hasonlóan játszódik le. Hosszú ideig az emlős szövetenyészeteken kívül ebben a modellrendszerben végezték a legtöbb kísérletet. Újabban más, erős genetikai háttérrel rendelkező modellszervezetben – fonalféreg, muslica – is intenzíven kutatják.

Az endocitózis tehát minden sejt életében alapvető, az exocitózissal szorosan kapcsolt folyamat. Valamennyi sejt folyamatosan vesz fel a környezetéből vezikulákba zárva folyadékot és benne többek között oldott tápanyagokat, az extracelluláris mátrix komponenseit; valamint membránösszetevőket: lipideket és membránfehérjéket. Ezt a jelenséget *pinocitózisnak*, „folyadékivásnak” nevezik (19.18. ábra).



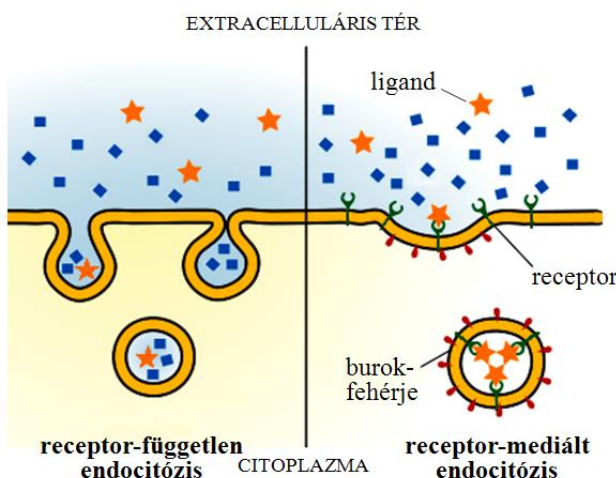
19.18. ábra. Az endocitózissal történő felvétel típusai.

Mikropinocitózis során kis, nagyjából egyforma méretű (~100nm-es) vezikulák fűződnek le, legtöbbször klatrin-burok kialakulásával. A makropinocitózis jóval nagyobb, akár 0,5-5µm átmérőjű vezikulák keletkezésével jár, amelyekben a folyadék aránya sokkal nagyobb.

A *fagocitózis* során nagyobb szilárd szemcsék, sejtörmelék, mikroorganizmusok bekebelezése történik, a keletkező fagoszómák mérete jóval nagyobb és változó, a felvett részecske mérete határozza meg. Egysejtűekben ez a táplálékszerzés egyik módja, soksejtűekben célja elsősorban a környezetben elpusztult sejtek „eltakarítása” és a védekezés. A hatékonyság érdekében ezt a feladatot az immunrendszer erre szakosodott sejtjei végzik. A fagocitózis nem is zajlik állandóan: speciális sejt felszíni receptorok ismerik fel a bekebelezendő anyagot, és indukálják a folyamatot. Kezdetben állászerű nyúlványokkal veszi körbe a fagocitáló sejt a részecskét, amely végül körbezárul, és a fagoszóma lefűződik - mindez az aktinváz intenzív átrendeződésével jár együtt (19.18. ábra).

A legrégebben és legintenzívebben kutatott terület a klatrin-burkos vezikulák lefűződésével járó endocitózis, ugyanakkor egyre több eredmény születik más, klatrin-független endocitózissal kapcsolatban is.

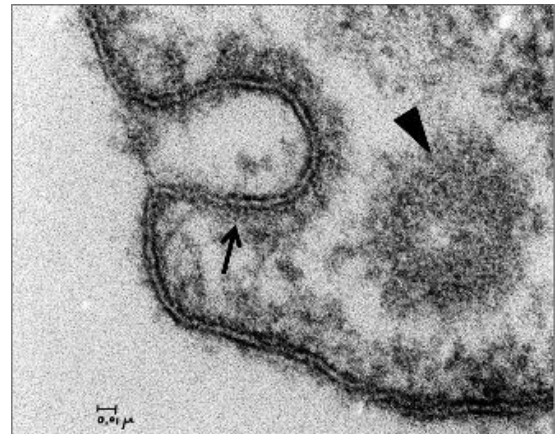
A *receptor-mediált endocitózis* célja nem aspecifikus folyadék- és membránfelvétel, hanem bizonyos plazmamembrán-receptorok és/vagy ligandjaik kiválogatása (19.19. ábra). A receptor-mediált endocitózissal tehát kis térfogatban, de nagy hatékonysággal lehet az extracelluláris térben vagy a membránban akár igen alacsony koncentrációban jelen lévő makromolekulákat a sejtbe juttatni - például a membránalkotó koleszterin felvétele is így zajlik. De az életműködéshez szükséges, kis koncentrációjú molekulák bejuttatásán kívül a receptor-mediált endocitózissal óriási szerepe van a transzmembrán receptorokon keresztül történő jelátvitel szabályozásában is.



19.19. ábra. Receptorok közvetítésével hatékonyan lehet a környezetben kis koncentrációban lévő anyagokat felvenni.

Az endocitózis első szakasza

A legtöbb endocitotikus vezikula lefűződése klatrin alegységek polimerizációjával kezdődik a membrán citoszolikus felszínén, ami a membrán görbülésével jár (lásd 19.3. ábra). A plazmamembrán egyes területein mikroszkópon jól látható bemélyedések, „burkos gödrök” alakulnak ki (19.20. ábra). Egyes sejtfeleségeken a teljes membránfelület 2%-át is boríthatja klatrin. A burok képzéséhez a kis mennyiségben, de specifikusan a plazmamembránban lokalizálódó PI(4,5)P₂ is hozzájárul.



19.20. ábra. Klatrin-burkos vezikula elektronmikroszkópos képe lefűződés közben (→), és lefűződés után (tangenciális metszetben, ►)

A „burkos gödrök” membránjában egyes transzmembrán receptorok koncentrációja is megfigyelhető. Legtöbbször a ligand kötése okoz olyan konformáció-változást a receptor citoszolikus részén, hogy az addig a membrán síkjában viszonylag szabadon diffundáló receptor a formálódó klatrin-burok területén megreked.

A klatrin-burkos vezikula kialakulása gyors, a megfelelő görbület elérése 1-2 percen belül bekövetkezik. Újabban kimutatták, hogy a sejtthártya alatti aktinváz átrendeződése is hozzájárul a folyamathoz. Ezután dinamin közreműködésével, GTP-hidrolízis során fűződik le a megformálódott vezikula.

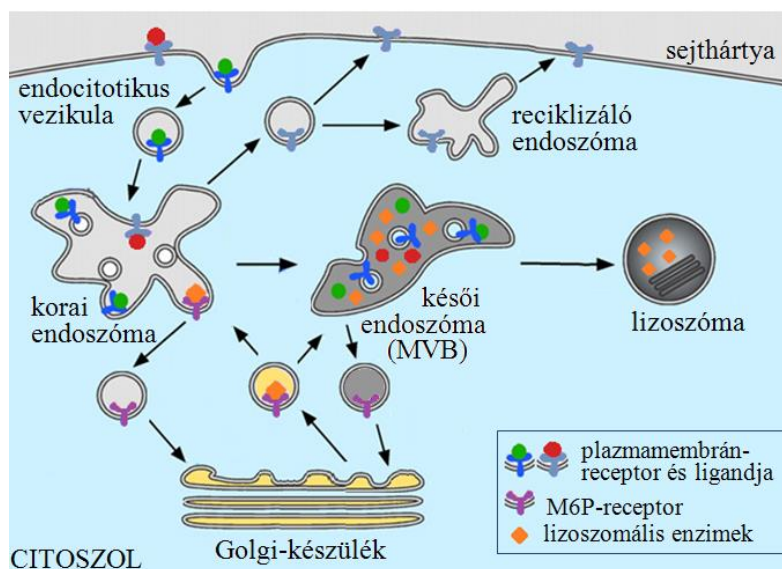
A sejt belsejébe került vezikuláról másodperceken belül leválik a klatrin-burok. Ennek oka ugyanaz, mint általában a vezikuláris transzport során: egy addig a membrán felszínén rögzülő kis G-fehérje hidrolizálja kötött GTP-jét, és GDP-kötött állapotban a citoszolba vándorol. Az endocitotikus vezikula membránjában a többi komponenssel együtt „utazik” egy lipid foszfátáz is, amely szintén aktiválódik, és leszedi a foszfátcsoportokat a PI(4,5)P₂-ről – így a membrán identitása máris megváltozott. A klatrinburok esetében egyéb, ATP-igényes lépés is szükséges a burok széteséséhez.

A buroktól megszabadult vezikula felszínén most már működésbe léphetnek a célmembrán felismeréséhez és a fúzióhoz szükséges fehérjék – elsősorban a v-SNARE-k, Rab-ok és effektorai.

Első lépésben valamennyi lefűződő vezikula egy *korai endoszómával* fuzionál, amely a TGN-hez hasonlóan elosztóállomásként működő, rendkívül dinamikus, folyamatosan változó organellum. Nemcsak az extracelluláris térből fogad anyagokat, hanem a TGN felől is érkeznek lizoszomális enzimeket és membránfehérjéket szállító vezikulák (19.21. ábra). Egy darabig (tipikusan körülbelül tíz percig) folyamatosan áramlanak felé és fuzionálnak vele a különböző irányból érkező vezikulák, de ezzel párhuzamosan igen aktív lefűződés is folyik.

A korai endoszóma komponenseinek egy része ugyanis vezikuláris transzporttal - közvetlenül vagy *reciklizáló endoszómák* közbeiktatásával – exocitózis révén visszakerül a plazmamembránba vagy az extracelluláris térbe, más részük pedig *késői endoszómába* jut, amely a lizoszómába vezető út közbülső állomása. Létezik ugyanakkor a Golgi-készülék irányába tartó, retrográdnak tekinthető irány is. (19.21. ábra).

Általában a plazmamembránba visszajuttatott membránmennyiség jóval nagyobb, mint a visszatartott, végül lebontásra kerülő „maradék”: sok membránfehérjét a sejt szeretne újrahasznosítani. Ezek egy része transzmembrán receptor, receptor-mediált endocitózissal érkezett a korai endoszómába; más részük „véletlenül” került az endocitotikus vezikulába. Ugyanakkor, ha a sejt pillanatnyi helyzete úgy kívánja, a lizoszomális transzport aránya szabályozható: előfordul, hogy egyszerre nagyobb mennyiségű membránfehérje lebontására van szükség.



19.21. ábra. Az endocitotikus útvonal állomásai. A különböző pH-jú tereket eltérő színek jelölik. Két, különböző sorsú plazmamembrán-receptor és az M6P-receptor útját is mutatja az ábra. Egyes receptorok (szürke) ligandjukat elengedve a korai endoszómából visszatérhetnek a sejthártyába. Mások (kék) ligandjukkal együtt a késői endoszómába, majd onnan a lizoszómába kerülnek, ahol lebomlanak. MVB: multivesicular body (lásd később).

A sejthártyába visszairányított membránalkotók egy része először egy külön kompartmentbe, a *reciklizáló endoszómába* kerül. A reciklizáló endoszómáról lefűződő vezikulák szintén a plazmamembrán felé szállítanak, így felvetődik a kérdés: mi értelme egy külön teret fenntartani a visszajuttatandó anyagoknak?

A reciklizáló endoszómákból (az itt is működő retrográd transzport kivételével) ugyan csak a sejthártya irányába történik anyagáramlás, de szabályozható módon. A sejt eldöntheti, mikor, milyen körülmények között engedi vissza az adott plazmamembrán-fehérjét működési helyére. Ez a szabályozás nemcsak a sejtfelszíni receptorok, hanem például transzporterek vagy sejtkapcsoló molekulák funkcióját is befolyásolhatja. A reciklizáló endoszóma membrán-alapanyag raktározására is szolgálhat: a citokinézis során egyszerre nagy mennyiségben van szükség új membránra, amely adott jelre fuzionálhat a meglevő plazmamembránnal; fagocitáló sejtekben a nagyméretű bekebelezett anyag körbevételéhez is szükség van ilyen membránraktárra.

Az endocitózis második szakasza

A korai endoszóma a folyamatos lefűzések után módosulva egy idő múlva a külső térből származó anyagok közül már csak azokat tartalmazza, amelyek sorsa a degradáció. Közöttük van az összes sérült, kicserélendő transzmembrán fehérje és lipid, valamint számos olyan sejtfelszíni receptor, amelynek lebontása létfontosságú a jelátviteli folyamatok megfelelő szabályozása érdekében. Ekkorra a korai endoszóma átalakult úgynevezett *késői endoszómává*.

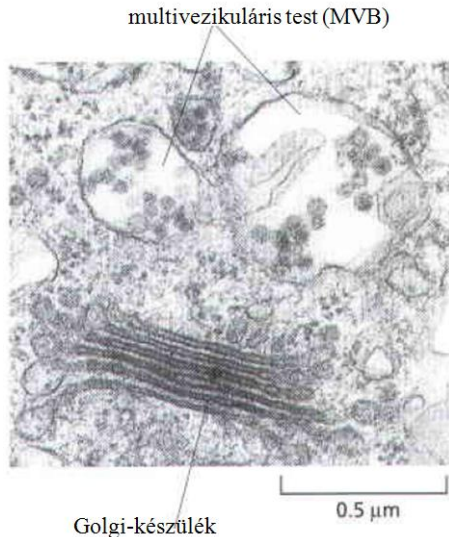
Az érett késői endoszóma végleg elköteleződött a lebontó folyamatok felé. A korai endoszómától „örökölt” lizoszomális fehérjékhez csatlakoznak újabbak: a késői endoszóma irányába is zajlik transzportjuk a TGN felől. A protonpumpáknak köszönhetően a pH egyre savasabb, és a savas hidrolázok némelyike ebben a közegben már képes aktiválódni – a lebontás már a késői endoszómákban is intenzíven folyik. Párhuzamosan növekszik a határoló membrán ellenállóképessége, a TGN-ből érkező erősen glikozilált membránfehérjék által.

Vajon hogyan juthatnak a lebontandó membránfehérjék és lipidek végül a késői endoszóma védett felszínéről a lumenbe, ahol a bontóenzimek hozzájuk férhetnek? A késői endoszóma érésének talán leglátványosabb eleme a belső vezikulák lefűződése.

Már az 1950-es években, mikor a lizoszomális rendszert felfedezték, leírtak úgynevezett multivezikuláris testeket is (továbbiakban MVB: multivesicular body). Olyan membrán-határolt organellumok ezek, amelyekben belül több kisebb vezikula található (19.22. ábra). Később bebizonyosodott, hogy a MVB-k tulajdonképpen a késői endoszómáknak felelnek meg, sőt, kismértékben, de már a korai endoszómára is jellemző a lumenben

lokalizálódó belső (úgynevezett intraluminális) vezikulák jelenléte (lásd 19.21. ábra).

A belső vezikulák membránja tartalmazza azokat a membrán-komponenseket, amelyek később teljesen lebomlanak. Tehát valamilyen módon a késői endoszóma membránjáról befelé, a lumen irányába - azaz a citoplazmából nézve kifelé - történik lefűződés.



19.22. ábra. MVB-k elektronmikroszkópos képe.

2001-ben élesztőben azonosították az első komplexet, amely szerepet játszik az ilyen belső vezikulák képződésében. Röviddel ezután a folyamat többi elemét is izolálták, és megtalálták az emlősök hasonló fehérjeit is, ESCRT-oknak (endosomal sorting complex required for transport) nevezik őket. Tulajdonképpen öt, egymással szoros kölcsönhatásban és munkamegosztásban működő egységről van szó.

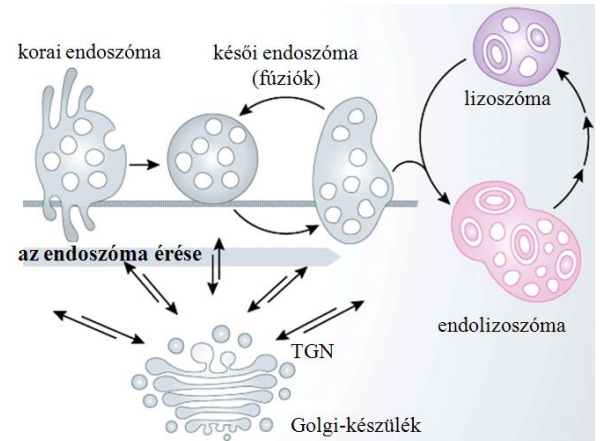
Az ESCRT-komplexek felfedezése óta arra is fény derült, hogy – bár az egyes komplexek nem egyenlő mértékben – szerepet játszanak más folyamatokban is. Például néhány vírusfajta (köztük a HIV-vírus) a sejt saját ESCRT-alegységeit használja fel a sejtől való kijutásra. Ekkor a belső vezikulák formálódásával topológiailag azonos esemény történik: a citoplazmából kifelé, csak hogy ebben az esetben a plazmamembrán területéről fűződik le a vírustartalmú vezikula.

A késői endoszómák a TGN felől folyamatosan érkező újabb lizoszóma-specifikus enzimek és membránkomponensek révén funkciójukban egyre inkább hasonlítanak a lizoszómákhoz. Ráadásul képessé válnak a velük való fúzióra is, így valóban egy hibrid, az *endolizoszóma* jön létre, amely molekuláris és funkcionális szempontból is mindkét organelum tulajdonságait képviseli. Állati sejtekben a késői endoszóma – endolizoszóma - lizoszóma tulajdonképpen ugyanazon organelum különböző érési stádiumaként is felfogható (19.23. ábra).

Az endocitózis és a jelátvitel

Az endocitózis szerepét először a jelátvitel leállításában ismerték fel. A sejt normális működésében éppolyan fontos szerepe van a szignalizációs folyamatok hatékony és gyors leállításának, mint a jel

generálásának. Erre sokféle módszer fejlődött ki az evolúció során, többek között az aktivált receptor eltávolítása a sejt felszínéről. Ha a ligand-receptor kapcsolat megszűnik a korai endoszóma savas környezetében, a receptor inaktíválódik. Ezzel együtt a felszínen hozzáférhető receptorok számának szabályozására is lehetőség van: a szabad receptor rögtön a plazmamembránba kerülhet vissza és új ligandot fogadhat, vagy egy ideig reciklizáló endoszómában várakozhat (19.21. ábra).



19.23. ábra. A késői endoszóma lizoszómává érési átalakulások és fúziók révén.

A jelátvitel tartós felfüggesztését, a sejt hosszabb távú érzéketlenítését (deszenzitizációját) teszi lehetővé, ha a liganddal együtt a receptor is lebomlik (19.21. ábra). Egyes növekedési jeleket kötő receptorok sorsa ennek klasszikus példája. Fontos azonban megjegyezni, hogy sok esetben a receptor mindaddig, míg ligandjához kapcsolódik - az endoszomális útvonal állomásain is – aktív marad, és folytatja a jel generálását. Egyes tumoros megbetegedéseknél azt találták, hogy az ESCRT-komplexek valamely tagjának génjében bekövetkezett mutáció szerepet játszott a tumor kifejlődésében. Az ESCRT-ok funkciójának meghibásodása azt okozta, hogy az adott-receptor nem került belső vezikulákba, hanem a MVB felszínén maradvia folyamatos osztódásra serkentette a sejtet.

Az utóbbi évtized alaposan megváltoztatta az endocitózisnak a jelátvitelben betöltött szerepéről kialakult képet. Kiderült, hogy sok esetben éppen a receptornak a sejt belsejébe kerülése szükséges a megfelelő hatás eléréséhez. Bizonyos esetekben pedig a reciklizáló endoszómán alakul ki az a speciális környezet, amely alkalmas az adott jel átadására.

Érdekes a G-fehérje-kapcsolt receptorok (GPCR) endocitózisával kapcsolatban leírt jelenség is. Miután a sejt felszínén teljesítették feladatukat, azaz aktiválták a megfelelő heterotrimer G-fehérje-komplexet, a GPCR-ek klatrin-burkos vezikulákban a sejt belsejébe kerülnek. Egyes receptorok ekkor válnak képessé arra, hogy az endoszóma felszínén egyéb (például MAPK vagy PI3K) jelátviteli útvonalakat is indukáljanak

A jelátvitel finomra hangolásában tehát egyre nyilvánvalóbban jelentős részt vállal az endocitotikus útvonal, nem véletlen, hogy az endoszomális rendszer kutatása igen intenzíven zajlik.