Proteomkutatás – egy új tudományág születése

Tárgyszavak: humán genom; genomika; proteomika; kutatás; fehérjeszerkezet; háromdimenziós szerkezet; gyógyszeripar.

Az ember genetikai kódjának feltérképezése valószínűleg a 2001. év egyik legnagyobb tudományos felfedezése volt. A szakemberek figyelme ezután a genetikai információ felé fordult, miután kiderült, hogy a gének nem egyetlen fehérje kódját hordozzák. A folyamat ennél sokkal bonyolultabb, az adott sejtre vagy szervre jellemző fehérjeszintézis több lépésből áll. Minden egyes lépést számos folyamat ellenőrzi, ill. szabályozza annak érdekében, hogy a megfelelő funkciójú végtermék keletkezzék. Egy gén sokféle funkcióért felelős.

A kutatók számára az is világossá vált, hogy a fehérjeszintézis során lejátszódó szabályozási és kémiai folyamatokban keletkező fehérje funkcióját minden genetikai, környezeti vagy a sejt anyagcseréjét érintő hatás megváltoztathatja. Így született meg az az új tudományterület, amelyet a genomkutatás (genomics) analógiájára *proteomkutatásnak* (proteomics) neveztek el. A proteomkutatás célja a teljes pillanatnyi fehérjekészlet elemzése.

A proteom kifejezést először egy ausztrál kutató használta 1994-ben abból kiindulva, hogy a fehérjeszintézis kódja a genomban található. Egy új tudományág születése rendszerint bizonyos fokú fogalmi tisztázatlansággal jár, ez alól a proteomkutatás sem kivétel. Ennek ellenére megfogalmazható a kutatás célja:

- az adott szövet vagy szerv sejtjeiben található fehérjék azonosítása;
- a fehérjék közötti, az elektromos áramkörhöz hasonló kapcsolat felderítése és
- a fehérjék háromdimenziós (3D) konfigurációjának megismerése.

A humán genetikai információ (genom) feltérképezése során született meg az a gondolat, hogyha a humán gén mintegy 3 milliárd betűből álló kémiai kódját sikerül megfejteni, akkor ez a génekben kódolt fehérjék megismerése felé tett első lépésnek tekinthető. A proteomkutatás első nehézségét a DNS összetételénél sokkal bonyolultabb fehérje jelentette. A DNS lényegében négy

bázisból áll, ezek az adenin (A), citozin (C), guanin (G) és tiamin (T). A fehérjék 20-féle aminosavból állnak. A gének az adott fehérjére jellemző aminosavak sorrendjére vonatkozó információt hordozzák, de tisztázatlan a fehérje funkciója és a fehérjék közötti kölcsönhatás. A fehérjemolekula háromdimenziós konfigurációjának döntő szerepe van az adott funkció betöltésében. Mindebből következik, hogy a proteomkutatás a molekuláris biológia és a fehérjekémia határterületén mozgó új tudományág. A klasszikus fehérjeanalitikai technikák forradalmi átalakulása lehetővé tette egy adott fiziológiai állapotú biológiai minta teljes fehérjekészletének analízisét. Ez sok esetben a szóban forgó sejtben egyszerre jelen levő több ezer fehérje, illetve peptid minőségi és mennyiségi viszonyainak leírását jelenti.

A sejtben a DNS által kódolt fehérje más, nem fehérjetermészetű vegyületekkel is reakcióba lép. Ezek között kiemelt jelentősége van a különböző szénhidrátokkal lejátszódó folyamatoknak, amelyek funkcióváltozáshoz és szerkezeti átalakuláshoz vezetnek. A fehérjék eltérő környezeti körülmények között fejtik ki hatásukat, így pl. egyesek vízben oldódnak, másokat hidrofób (olajos) közeg vesz körül, és gyakori az az eset, amikor a fehérje egy bizonyos tartománya a sejtmembrán zsírtartalmú közegébe ágyazódik be.

A proteomkutatás bonyolultságát támasztja alá az a tény is, hogy egy sejtben több száz, sőt ezer különböző fehérje, ill. peptid található, szemben a humán génkészlet kb. 40 ezer génjével. A Human Genom Project (HUGO)-ban alkalmazott egy gén–egy fehérje elv a Human Proteome Organisation (HUPO) munkájában nem alkalmazható. Ezt a szervezetet 2001-ben hozták létre azzal a céllal, hogy anyagi és politikai támogatást szerezzenek a genomkutatás folytatásának tekinthető proteomkutatásnak.

A proteomkutatás máris versenyhelyzetet teremtett a vezető műszer- és gyógyszergyártó cégek között, amelyek óriási összegeket fordítanak műszer- és módszerfejlesztésre. A Frost&Sullivan piackutató cég felmérése szerint 2005-ben a proteomkutatásban használatos eszközök, anyagok és szolgáltatások értéke eléri a kb. 5,6 Mrd USD értéket. 1999-ben az erre fordított összeg mindössze 700 M USD volt. Az 5,6 Mrd USD-hez még hozzá lehet adni a proteomkutatás eredményeként előállított gyógyszerek és diagnosztikumok értékét. 2000-es adatok szerint a gyógyszeriparban 30 Mrd USD-t költött a proteom kutatás–fejlesztésre, de mindössze 30 készítményt törzskönyveztek. A proteomkutatás a gyógyszerkutatás és ezáltal a gyógyszeripar forradalmi átalakítását teszi szükségessé, amennyiben ez elmarad, alig van esély a fennmaradásra.

A proteomkutatás módszerei

A biológiai minták feldolgozásában egyre terjednek a kíméletes technikák, amelyek lehetővé teszik a hőre érzékeny biológiai minták vizsgálatát. A piacvezető cégek stratégiájában a kézzel fogható munkamegosztás mellett

megjelentek a más iparágaknál kifejlesztett csúcstechnológiák. A Salt Lake City-ben székelő Myriad például a proteomkutatásba olyan cégeket vont be, amelyek az autóiparban bevált robottechnikát alkalmazzák. A cég tavaly a Hitachi és Oracle műszergyártó cégekkel karöltve egy 3 éves 185 M dollár költségvetésű programot dolgozott ki, amely hivatalosan 2002-ben indult el. A jövőben egyedül a Celera cég, amely a HUGO programban vezető szerepet játszott, 1 Mrd USD-t fordít proteomkutatásra. A cég egyébként is változtat eddigi kutatási filozófiáján, amennyiben saját proteomkutatási eredményeiből összeállított adatbázis alapján saját maga kíván gyógyszerkutatást folytatni.

A proteomkutatásban a fehérjeállomány mennyiségi és minőségi analízise mellett a fehérjeszerkezet-kutatásnak jut kulcsszerep. A mennyiségi és minőségi analízisben jelenleg két módszer használatos: a kétdimenziós (2D) gélelektroforézis és a tömegspektrometria.

A 2D gélelektroforézissel a fehérje-, ill. peptidmolekulákat nagyság és elektromos töltés szerint választják szét. Megfelelő vizsgálati körülmények között először elektromos erőtérben vándorolnak a fehérjék, amelyeket a gél egy adott pontján rögzítenek. A második, molekulatömegük szerinti szétválasztás az eredeti futásirányra merőlegesen történik. A 2D gélelektroforézissel kapott 3–5 ezer fehérjefoltot érzékeny festési eljárással előhívják. A foltok kiértékelése speciális pásztázó berendezéssel történik. A vizsgált minta peptid-, ill. fehérjemintázatát a kapott foltok összessége adja meg.

A tömegspektrometria segítségével gyors és pontos tömegmérés végezhető. Az utóbbi évtizedben bekövetkezett ugrásszerű fejlődés következtében lehetővé vált a biológiai minták kíméletes vizsgálata is. Az eljárás során a fehérjetartalmú oldatot először nagy energiájú atom- vagy ionsugárral bombázzák, ezt követően az ionokat először elektromos, majd mágneses erőtérben szétválasztják. A jó felbontás következtében a molekulatömeg nagy pontossággal meghatározható, így egyetlen aminosav jelenléte vagy hiánya is kimutatható. A tömegspektrométer alkalmas a fehérje aminosavszekvenciájának meghatározására is.

Mindkét analitikai módszerrel kapott eredmények *on-line* összeköttetés révén közvetlenül összevethetők a nagy nemzetközi adatbázisokkal.

Mivel az adott sejtben vagy szervben található fehérje funkciója és térszerkezete szoros kapcsolatban áll egymással, a proteomkutatásban nélkülözhetetlen a fehérje háromdimenziós szerkezetének vizsgálata. Az egyéb tudományterületeken bevált röntgenkrisztallográfia jó eredménnyel alkalmazható a fehérjeszerkezet-kutatásban is. A tisztított fehérjéből egykristályt állítanak elő, amelyet fókuszált röntgensugárral bombáznak. A röntgenlézerek kifejlesztése óta már laboratóriumi méretű készülékek is rendelkezésre állnak. A mérési eredményeket adatbankban tárolják. A genom- és proteomkutatásban kapott eredmények ma már részben szabadalmi oltalomban részesülnek. Míg korábban elsősorban a DNS-szekvenciákra kértek oltalmat, jelenleg a fehérjékre vonatkozó szabadalmi bejelentések száma nő.

A proteomkutatás eddigi eredményei

A kutatások a fehérjékben lejátszódó biokémiai láncreakciók reakciómechanizmusának tanulmányozása mellett elsősorban a fehérjék közötti kölcsönhatások felderítésére irányulnak. A munkában világszerte magánvállalatok és intézmények egyaránt részt vesznek, gyakran különböző együttműködési formában. Ez év januárjában jelent meg az a közlemény, amelyben a kutatók élesztőkkel végzett kísérletekről számoltak be. A vizsgálatban a DNS egy szakaszát jelölték meg, amellyel azután további több száz élesztőgént kódoltak. Végül a módosított gének által termelt fehérjéket a hozzájuk kötődő fehérjékkel együtt olyan töltött oszlopon választották szét, amely csak a megjelölt szakaszt kötötte meg. Az oszlopról lejövő fehérjeoldat tömegspektrometriás vizsgálati eredményének analízisekor kiderült, hogy a minta több mint 90%-a ismeretlen funkciójú fehérjét tartalmaz. A biokémiai láncreakciók bonyolultságát támasztotta alá az a további eredmény, hogy a fehérjék mintegy 80%-a legalább még egy fehérjével lépett kölcsönhatásba. Az élesztősejtekkel végzett kísérletek azért kedveltek a kutatók körében, mivel ezzel a modellel a vizsgálatok mindössze néhány hetet tesznek ki.

A Michigani Egyetemen létrehozott HUPO több proteomkutatási projekt összekapcsolásával elsődleges feladatának a vérszérum fehérjéinek meghatározását tűzte ki célul.

Az amerikai National Cancer Institute (NCI) és a Food and Drug Administration (FDA) közös programjában a proteomkutatás eredményeit a rák pontosabb diagnosztizálásában és hatékonyabb kezelésében kívánják hasznosítani. A 2001 júliusában meghirdetett program egyik cél a rákbetegségek osztályozását (tipizálását) segítő nagyszámú jelzőfehérje azonosítása. A vizsgálattal az egészséges és beteg sejtek fehérje-ujjlenyomatát hasonlítják össze, aminek alapján kimutathatók a rákos sejtekre jellemző fehérjék. Agresszív rákfajták esetén különösen fontos a jelzőfehérjék diagnosztizálása.

A proteomkutatásba bevont hatalmas szellemi és anyagi erőforrás mozgatórúgója olyan gyógyszerek kifejlesztése, amelyekkel pontosan megcélozható és javítható a fehérjék betegséget okozó elváltozása.

(Haidekker Borbála)

Ezzel, C.: Proteins rule. = Scientific American, 286. k. 4. sz. 2002. p. 27–28, 30–32.

Grandi, G.: Antibacterial vaccine design using genomics and proteomics. = Trends in Biotechnology, 19. k. 5. sz. 2001. p. 181–188.