

2013. aasta Nobeli meditsiinipreemia rakusisese transpordikorralduse mõistmise eest

Toivo Maimets – TÜ molekulaar- ja rakubioloogia instituut



Prof James E. Rothman
Foto: Yale Office of Public Affairs & Communications



Prof Randy W. Schekman
Foto: Office of Communications and Public Affairs, University of California, Berkeley

2013. aasta Nobeli füsioloogia- või meditsiinipreemia said Randy W. Schekman (California Berkeley Ülikool), James E. Rothman (Yale'i Meditsiiniülikool) ja Thomas C. Südhof (Stanfordi Ülikool). Nobeli komitee otsustas neile auhinna anda “meie rakkude sisest põhilist transpordisüsteemi, vesiikulite liiklust reguleerivate mehhanismide avastamise eest”.

Kõik päristuumsed rakud, olgu nad pärmi-, taime- või loomarakud, sisaldavad keerulist erinevate ruumide süsteemi, mida Rothman juba 1996. aastal võrdles hästi funktsioneeriva linnaga (1). Normaalseks funktsioneerimiseks vajavad nii linnad kui ka rakud head koostööd oma eri osade vahel. Linnaosade vasteks rakkudes on erinevad membraanidega eraldatud „osakonnad”. Rakumembraan, mis kogu raku ümbritseb, on kui linnamüür, mille kaudu tuleb sisse toit ja muu eluks vajalik, välja läheb aga linna „toodang”. Raku sees olevad membraanisüsteemid on kui tootmisettevõtted: valgud toodetakse enamasti endoplasmaatilisel retiikulumil ning transporditakse Golgi kompleksi, kus toimub nende modifitseerimine ning edasitoimetamine kas raku teistesse piirkondadesse või sellest hoopis välja. On ka hulk teisi elutähtsaid membraaniga ümbritsetud rakuorganelle: mitokondrid, tuum, lüsoosoomid jm. Rakusisese transpordi olulisuse mõistmiseks võiks ette kujutada närviraku ehk neuronit, mille jätked (aksonid) võivad olla enam kui meetri pikkused ning kus geneetiline informatsioon peab jõudma rakutuumast signaalvalkude kujul aksonite tippudesse välja.

Et toimetada erinevaid produkte linnosade vahel ja sellest väljapoole, on rakkudes välja kujunenud väga kompleksne transpordisüsteem, mis meenutab veidi lennujaamadest tuttavat konteinertransporti. Kõik ühte suunda viidavad kaubad (näiteks valgud) pakitakse ühisesse kauba-konteinerisse, mida nimetatakse *vesiikuliks*.

Transpordivesiikulid on väikesed membraaniga ümbritsetud põiekesed, mis tekivad erinevatest membraanidest väljapungumise teel, kannavad edasi erinevaid valke ja annavad järgmiste membraanidega ühinedes oma sisu neile edasi. Iga rakk toodab palju erinevaid transpordivesiikuleid, igaüks neist kindlat liiki kauba jaoks, mis liiguvad nii raku eri osade kui ka erinevate rakkude vahel.

Raku jaoks on elutähtis, et valgud, mis annavad olulisi signaale rakkude elutegevuseks või isegi suremiseks, jõuaksid täpselt õigel ajal õigele aadressile. Nii näiteks peab ajus olevate närvirakkude sünapseitest virgatsaine vabanema ja naaberrakuni jõudma ainult siis, kui sinna jõuab aktsioonipotentsiaal. Virgatsaine vabanemine ja ülekanne peab olema täpne ja kiire, toimudes vaid millisekundite jooksul. Pankrease beetarakkudest peab insuliin vabanema ja teiste rakkudeni jõudma vaid siis, kui selle tase veres ei ole piisav selleks, et rakud glükoosi kasutada saaks. Kui signaalid jõuavad valel ajal või hoopis valesse kohta, on tulemuseks väga rasked tervisehäired.

Erinevad viisid raku transpordisüsteemide tundmaõppimiseks

1976. aastal alustas Schekman transpordisüsteemi komponentide otsimist pagaripärmist *Saccharomyces cerevisiae*. Pagaripärm on üherakuline organism, mis on hea mudel geneetiliseks analüüsiks, sest võimaldab üsna lihtsalt teha palju erinevaid geenimutatsioone. Mutantselt geenilt ei tule korralikku valku, ning kui tegu on transpordisüsteemi jaoks olulise valguga, siis kogunevad transpordivesiikulid just samamoodi kui autod liiklusummikusse. Jälgides, kuskohas ummik tekib, on võimalik teha järeldusi vastava geeni rolli kohta protsessis. Nii näiteks leidis Schekman, et mutatsioonid geenides sec17 ja sec18 põhjustasid raku sees ebata-

valiselt väikeste vesiikulite kogunemise ning järeltas, et neil geenidel on roll vesiikulite kokkusulandumises. Sel viisil leidis Schekman 23 geeni, millel on ülesanded erinevates transpordiahela sõlmpunktides.

Ümbes samal ajal püüdis ka Rothman saada aru, mismoodi rakud erinevaid valke transpordivad. Tema valis biokeemilise käsitluse, puhastades hamstri rakuliinist CHO välja kõik vajalikud tarnspordivalgud ning rekonstrueerides kogu transpordiahela *in vitro* tingimustes. Rothman jälgis, kuidas rakud transpordivad vesikulaarse stomatiidi viiruse valku VSV-G, mis viirusega infitseeritud rakkudes koguneb. VSV-G muutis muga-vaks mudeliks asjaolu, et sel valgul on üks eripärane modifikatsioon, mis võimaldab teda lihtsasti kõigist teistest raku valkudest eristada ja tema liikumist jälgida. Biokeemiliste meetoditega puhastaski Rothman rakkudest terve rea valke, mis VSV-G-ga seonduvad ja seda transpordiahelas edasi toimetavad.

Üks esimesi Rothmani väljapuhastatud valke oli *N-etüülmaleimiiditundlik faktor* NSF. Nime sai valk sellest, et kemikaal nimega N-etüülmaleimiid põhjustas transpordisüsteemi seiskumise ning just valk NSF oli selle eest vastutav. Õige pea selgus, et Rothmani NSF oli sellesama geeni sec18 valkprodukt, mille Schekman avastanud oli. Ühest küljest tähendas see, et kaks erinevat käsitlust, geneetiline ja biokeemiline, kohtusid ning andsid samasuguse tulemuse. Kuna aga Schekman uuris pärmirakke ja Rothman hamstri omasid, siis oli ka selge, et selline transpordisüsteem on evolutsiooniliselt väga vana ja tekkinud enne seda, kui pärmide ja imetajate eellased evolutsiooni käigus lahknesid.

Järgmised olulised valgud, mis Rothman leidis, olid SNARE-valgud (*soluble NSF-attachment protein receptors*). Nende valkude avastamine võimaldas seletada, kuidas vesiikulid täpselt teavad, kuskohas oma kaup "maha panna". Erinevaid SNARE-valke on üle 60 ning nad jagunevad kahte rühma. Vesiikuli ehk v-SNARE-d asuvad transportvesiikuli membraanis ning märklaud- ehk t-SNARE-d asuvad neis membraanides, kuhu vesiikulid oma kauba viima peavad. Erinevad v- ja t-tüüpi SNARE-valgud tunnevad üksteist ära ja niiviisi moodustub teatud kood (nagu lukk ja võti), mille alusel vesiikulites sisalduv "kaup" satubki õigesse kohta ja mitte kusagile mujale. SNARE-valgud on väga olulised närviimpulsi ülekandele sünapsites, kus rakk põhjustab temani

jõudnud aktsioonipotentsiaali tõttu vabade vesiikulite sulandumise välismembraaniga ning seetõttu virgatsaine vabanemise. Paljud neurotoksiinid aga mõjutavad otseselt SNARE-valke. Näiteks botuliin ja teetanuse toksiin põhjustavad SNARE-valkude lagunemise. Selle tõttu ei saa vesiikulid oma märklaudmembraanidega seonduda ning närviimpulssi (virgatsaineid) üle ei kanta. Tulemuseks on lihaskontrolli häirimine, spasmid, halvatus ja surm. Tõsi, botuliinitoksiini sellist omadust kasutatakse ka iluravis eesmärgiga halvata näo miimilisi lihaseid.

T. C. Südhofi tööd selgitasid, kuidas ajus toimub virgatsainete vabanemise sobiv ajastamine just aktsioonipotentsiaali saabumise ajal. Uuringud hiirtel näitasid, et siin on olulised kaltsiumiioonid. Kaltsium töötab kui „roheline foorituli” vesiikulite vabastamiseks: kui sünapsisse on jõudnud aktsioonipotentsiaal, siis muutub membraan kaltsiumiioonidele läbilaskvaks ning raku sisene kaltsiumitase suureneb märgatavalt. Selle peale reageerivad kaltsiumitundlikud valgud, näiteks Südhofi kirjeldatud *sünaptotagmiin*, mis asub raku sisepinna lähedal olevates vesiikulites. Tulemuseks on nende vesiikulite sulandumine raku välismembraaniga ning sealt vabanebki sünaptilisse pilusse virgatsaine. Samasugune mehhanism toimib ka pankrease beetarakkudes, kus toimub insuliini vabanemine.

Kolme pärjatud teadlase ja paljude nende kolleegide tööd on võimaldanud sügavamalt mõista mitmete haiguste tekkemehhanismi. Vesikulaarse transpordi häiretega seotud pärilikke sündroome on teada juba paarikümne ringis. Epilepsiapatsientidel on leitud mutatsioone geenides, mille produktid vastutavad vesikulaartranspordi eest. Selliseid mutatsioone on leitud ka päriliku immuunsüsteemi haiguse, perekondliku hemofagotsütaarse lümfohistiotsütoosi korral, mis põhjustab ägedaid põletikke. Ning muidugi on vesikulaarse transpordi häireid seotud mitmete neurodegeneratiivhaigustega. Ehkki seekordne Nobeli meditsiinipremia anti eelkõige baasteaduslike tööde eest, ei ole kahtlust, et varem või hiljem leiavad need ka laialdast praktilist kasutust.

KIRJANDUS

1. Rothman JE, Orci L. Budding vesicles in living cells. *Scientific American* 1996;274:70–5.

toivo.maimets@ut.ee



Prof Thomas C. Südhof
Foto: Stanford University
Office of Communication
& Public Affairs