

Jaapani bioloog Yoshinori Ohsumi sai Nobeli preemia autofaagiaprotsessi mõistmise eest

Toivo Maimets – TÜ molekulaar- ja rakubioloogia instituut

KUMMITUSLIK VALGUAKTIIVSUS

2016. aasta Nobeli füsioloogia- ja meditsiinipreemiale aluse pannud sündmusi võib kirjeldada tõelise põnevusjutuna. Oli eelmise sajandi keskpaik ning belgia teadlane Christian de Duve tundis huvi selle vastu, mismoodi reguleerib insuliin vere suhkrusisaldust. Suhkrute lagundamises osalevad mitmed ensüümid, näiteks glükoos-6-fosfataas, ning de Duve grupp tahtis taolisi ensüüme saada rakkudes kätte puhtal kujul, et nende aktiivsust täpsemini mõõta.

Päristuumsed rakud (siia hulka kuuluvad nii pärmi kui ka inimese rakud) on rakumembraaniga ümbritsetud üksused, mis sisaldavad lisaks rakutuumale veel mitmesuguseid teisi osiseid ehk organelle. Mitokondrites toimub rakkude varustamine energiaga, ribosoomides valkude süntees, peroksüsoomid hoolitsevad pikkade rasvhapete lõhustamise eest ja nii edasi.

Albert Claude oli äsja välja töötanud rakkude fraktsioneerimise meetodi, mis seisneb selles, et rakumembraanid lõhutakse jahvatamise teel ning vabanevad organelid eraldatakse üksteisest filtreerimise ja tsentrifuugimisega. Nüüd tahtis de Duve teada, millistes organelides veresuhkru taseme regulatsiooniga seotud ensüümid toimivad. Üks ensüüm, mida katses kasutati, oli happeline fosfataas. Selle aktiivsus oli aga saadud rakufraktsioonides alati hämmastavalt madal – vähem kui 10% oodatust – ning seletust sellele ei leitud. Kuhu oli kadunud enamik ensüümist?

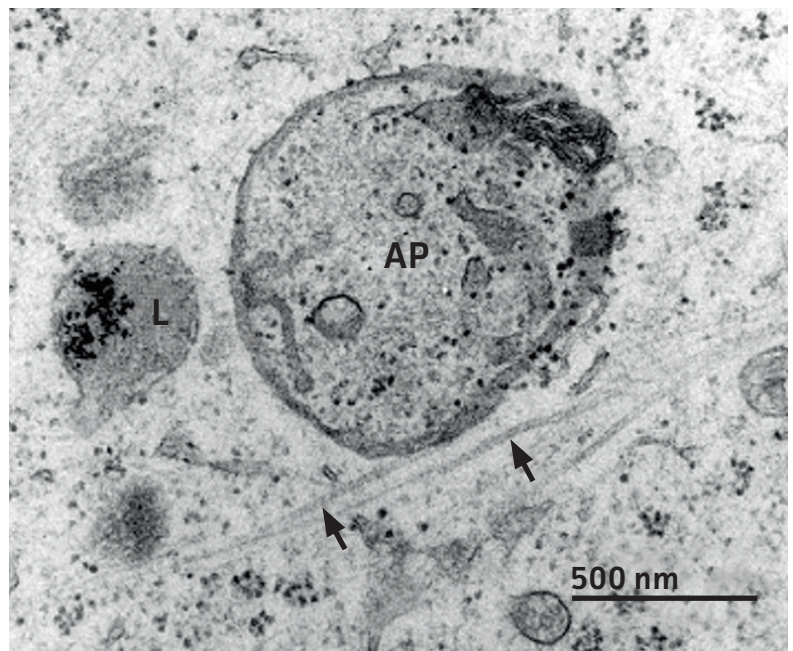
Kord aga võeti uurimise alla rakufraktsioonid, mis olid pärast eraldamist viis päeva külmpapis seisnud. Üllatus oli suur – nendes preparaates oli aktiivsus oluliselt suurem kui värsketes fraktsioonides. Osutus, et värsketes preparaates olid ensüümmolekulid pakitud väikestesse membraaniga ümbrit-

setud „kottidesse”, millest difusiooniline väljaimbumine võttis mitu päeva aega. Kuna sellised kotid sisaldasid ka mitmesuguseid teisi ensüüme, mis erinevaid aineid lagundavad (nn lüütilised ensüümid), nimetas de Duve nad lüsoosoomideks.

Õige pea selgus, et aeg-ajalt pakitakse lisaks ensüümidele ka mõned raku organelid (näiteks mitokondrid, peroksüsoomid või ribosoomid) samasugustesse membraankottidesse. Osutus, et taolistes kottides toimetatakse raku osised lagundamise ning siit tuletas de Duve ka protsessile nime – **autofaagia** ehk eneselagundamine. Autofaagia algab kahekordse membraanstruktuuri moodustamisega, mille sisse



Toivo Maimets



Joonis. Elektronmikrofotol hiire fibroblastist on näha mitmeid rakuosi sisaldav autofagosoom (AP) ja lüütilisi ensüüme sisaldav lüsoosoom (L). Nende ühinemisel tekib autolüsoosoom, kus toimub mittevajalike rakuorganellide ja valkude lagundamine. Nooltega on näidatud raku mikrotobulid (Eskelinen ja Saftig, 2009).

jäävad lagundamisele minevad rakuosad (nn *autofagosoom*). Autofagosoomid on lühiajalised (eluiga 10–20 min) struktuurid (vt joonis). Nad ühinevad lüsoosoomidega, moodustades *autolüsoosoomi*, kus lüütilised ensüümid viivadki läbi lagundamisreaktsioonid.

Koos Albert Claude'i ja George Paladega (Rumeenia-Ameerika teadlane, kes esimesena kirjeldas ribosoomi ja mitmeid teisi rakuosiseid) pälvis de Duve Nobeli preemia 1974. aastal.

AUTOFAAGIA GEENID PÄRMIRAKKODES

Yoshinori Ohsumi hakkas autofaagia vastu huvi tundma 1990. aastatel. Ise on ta põhjendanud sellist teemavalikut asjaoluga, et selles vallas puudus meeletu konkurents ning seetõttu oli võimalik oma tööd rahu-likult süvenedes teha. Mudelobjektiks valis ta pagaripärmi, mis on päristuumne nagu imetajarakk, ent paljuneb oluliselt kiiremini ning seetõttu on ka tema mutantide tegemine palju hõlpsam. Lüsoosoomitaolisi moodustisi (vakuoole) leidub ka pärmis ning Ohsumi arvas, et ka need võiksid mitmeid aineid lagundavaid ensüüme sisaldada. Ja tõepoolest – kui ta muteeris mitmete ensüümide geenid nii, et need ei saanud enam vakuoolidesse kogunevaid aineid lagundada, siis hakkasid vakuoolid neisse kogunevate rakuosiste tõttu üha suurenema, kuni muutusid valgusmikroskoobiski nähtavaiks.

Nüüd oli üsna lihtne teha uusi pärmi-mutante ning vaadata, milliste geenide väljalülitamine põhjustab autofaagiaprotsessi seiskumise. Niiviisi selgitas Ohsumi välja esimesed 15 geeni, mis kõik olid selle protsessi eest vastutavad (*ATG1 – ATG15*). Nende geenide kodeeritavate valkude tundmaõppimine võimaldas aru saada mehhanismist, mis kaskaadina seob erinevate valkude aktiivsuse ja tegutsemisjärjekorra autofaagiaprotsessis.

Koos kolleegidega näitas Ohsumi, et samasugused geenid on ka imetajarakkudes, sealhulgas inimeses.

MIDA AUTOFAAGIA ORGANISMIS TEEB?

Kui mingid geenid on sarnastena säilinud nii pika evolutsiooni vältel pärmirakkudest kuni inimeseni, siis võib juba ette arvata, et nad on osalised mingites eluliselt väga tähtsates protsessides. Tõepoolest on see



Yoshinori Ohsumi

nii ka autofaagia puhul.

Esimesena avastati autofaagia roll rakkude stressisituatsioonis. Näiteks võib raku elus olla perioode, kus lühema või pikema aja jooksul ei ole tal piisavalt kättesaadavaid toitained. Kui selline seis püsib juba mõne tunni vältel, siis rakenduvadki autofaagiaprotsessid, mille käigus hakkavad rakud energia ja uute molekulide ehitusplokkide saamiseks lagundama omaenda valke.

Autofaagiat kasutab rakk ka siis, kui sinna on kogunenud kahjustatud valgud. Ehkki vigaste valkude lagundamiseks on ka teisi mehhanisme (näiteks ubikvitiinirada, mille avastamine tõi Aaron Ciechanoverile, Avram Hershkole ja Irwin Rosele Nobeli preemia 2004. aastal), on autofaagia ka siin ülioluline.

Autofaagia abil saab lagundada ka raku organelle (mitokondrid, peroksüsoomid või ribosoomid). See võib toimuda selektiivselt, näiteks lagundatakse vaid mingil põhjusel kahjustatud mitokondrid. Mitteselektiivne mitokondrite lagundamine toimub aga siis, kui rakul ei ole piisavalt toitained ning raku tegutsemisaktiivsust tuleb vähendada – selle tulemusena kahaneb rakus normaalsete mitokondrite arv.

Samuti saab autofaagia abil lahti raku tunginud viirusosakestest või bakteritest. Nii hävitatakse näiteks bakterid *Streptococcus pyogenes* ja *Shigella flexneri*. Tuberkuloosi põhjustav *Mycobacterium tuberculosis* on aga kasutusele võtnud kavala mehhanismi, millega autofaagiat pidurdada ja seetõttu bakteri ellujäämise võimalusi

suurendada. On aga olemas meetodid, millega on võimalik autofaagiat aktiveerida, näiteks rakkude näljutamine või töötlus rapamütsiiniga (Sirolimus). Sel juhul toimub bakterite pakkimine autofagosoomidesse, nende liitumine lüsoosoomidega ning bakterite hävitamine.

Kaugeltki alati ei ole autofaagia bakterite või viiruste vastu võitlemisel abimeheks. Näiteks kasutab polioviiirus membraaniga ümbritsetud nn kotte hoopis selleks, et seal rahumeeli paljuneda, ning autofaagia aktiveerimine hoopiski suurendab viiruseosakeste produktsiooni. Samasugust n-ö trikki kasutab ka näiteks inimestel rasket kopsupõletikku põhjustav *Legionella pneumophila*.

AUTOFAAGIAHÄIRED ON SEOTUD ERINEVATE HAIGUSTEGA

Viimasel aastakümnel on aga leitud autofaagia seoseid organismi kõige olulisemate funktsioonide ja arengumehhanismidega. Näiteks osalevad autofaagiaprotsessid rakkude diferentseerumisel ja varajases embrüogeneesis. Autofaagia aktiveerub viljastatud munarakus juba neli tundi pärast viljastamist ning osaleb viljastamiseelsete valkude ja organellide degradatsioonil ning tagab sellega raku ümberprogrammeerimise embrüo arenguks. Autofaagia on osaline ka vererakkude eellaste küpsemisel, näiteks mitokondrite lagundamisel erütrotsüüdi valmimise käigus (mitofaagia).

Oluliseks teenäitajaks on asjaolu, et paljudes inimese rinnanäärme, eesnäärme ja munasarja kasvajates on leitud mutatsioone geenis *Beclin-1*. Selle geeni valkprodukt BECN1 on aga Ohsumi leitud pärmigeeni ATG6 homoloog, mis on oluline autofaagia regulaator. Järelikult võib arvata, et ka need

kasvajad on seotud häiretega autofaagia mehhanismis.

Mitmed neurodegeneratiivsed haigused on seotud valesti struktureeritud valkudega, mis kipuvad andma mittelahustuvaid komplekse ning on rakkudele toksilised. Näiteks kogunevad autofaagiale osutavad vakuoolid nii Alzheimeri tõve, Huntingtoni tõve kui ka Parkinsoni tõve puhul. Kui selliste haiguste puhul (seni küll enamasti haiguste loomudelites) aktiveerida autofaagiaprotsessid (näiteks rapamütsiini või tema analoogidega), siis on toksiliste valgukomplekside kahjulik toime palju väiksem. Autofaagiaprotsesside häired (hiire) ajus (näiteks geenide ATG5 ja ATG7 muteerimise tõttu) põhjustavad otseselt neurodegeneratsiooni. On olemas ka hulk autosoomseid retsessiivseid inimesehaigusi, kus vigaste autofaagiaprotsessidega kaasnevad aju arenguhäired, arengupeatus, intellektuaalse võimekuse vähenemine, epilepsia, liikumishäired ja neurodegeneratiivsed protsessid.

Huvitavaid seoseid on leitud autofaagia ja vananemise vahel. Kuna autofaagia viib rakkudest välja vigaseid valke ja organelle, on tema vananemisvastane toime ootuspärane. Tõepoolest on vähemalt katseloomadel (ümaruss ja hiir) näidatud, et autofaagia aktivaator Sirolimus (rapamütsiin) pikendab nende eluiga. Samuti on vanemate inimeste ajus leitud autofaagiageenide väiksemat aktiivsust kui noortel. Alzheimeri tõvega patsientidel aga on see oluliselt suurenenud.

Viimase aja uuringud on näidanud, et autofaagia on oluline ka tüvirakkude säilimiseks ning nende diferentseerumiseks. Kuna tüvirakud võivad anda paljusid rakutüüpe, on see teadmine regeneratiivmeditsiini jaoks väga oluline.

Eesti Arstide Päevad 2017

Eesti Arstide Päevad toimuvad 20.–21. aprillil 2017 Tartus.

Kutsume arste, arstiüliõpilasi ja tervishoiuvaldkonnaga seotud inimesi aasta suursündmusest osa saama.

Teavet konverentsi ja osalemistingimuste kohta leiata Eesti Arstist ja Eesti Arstide Liidu kodulehelt www.arstideliit.ee.

Eesti Arstide Liit