

# Szabályozó *fehérjék* szerepe az öregedési folyamatban

Terület:

- öregedés szabályozása
- autofágia (sejtes önemésztés)
- sejtes stresszválasz



Dr. Vellai Tibor  
ELTE Genetikai Tanszék



Terület:

- sejtes stresszválasz
- öregedés szabályozása
- hősokk fehérjék



Dr. Solti Csaba  
SE Orvosi Vegytani Intézet



1, az öregedést okozó faktorok meghatározása

2, a hősokk-választ, endoplazmatikus stressz-választ és az autofágiát összekapcsoló szabályozó fehérjék feltárása

3, az öregedési folyamat szabályozási hálózatának megértése

Terület:

- endoplazmatikus stressz
- degeneratív betegségek
- redox homeosztázis



Dr. Bánhegyi Gábor  
SE Orvosi Vegytani Intézet



# Öregedés, öregkori betegségek

Molekuláris károsodások  
progresszív felhalmozódása a  
sejtekben



öregedés

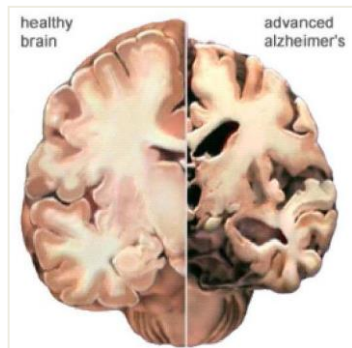


öregkori betegségek

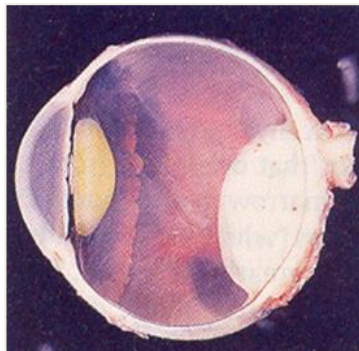


**„a new focus on research to promote healthy aging”**; Abbott, *Nature* 428:11

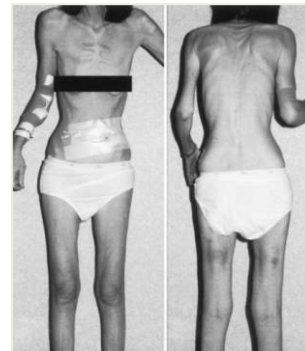
Neurodegeneratív  
betegségek



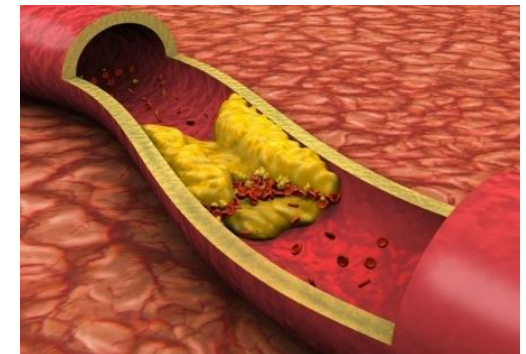
Rák



izomsorvadás



Érszűkület



# Öregedés: egy soktényezős biológiai folyamat

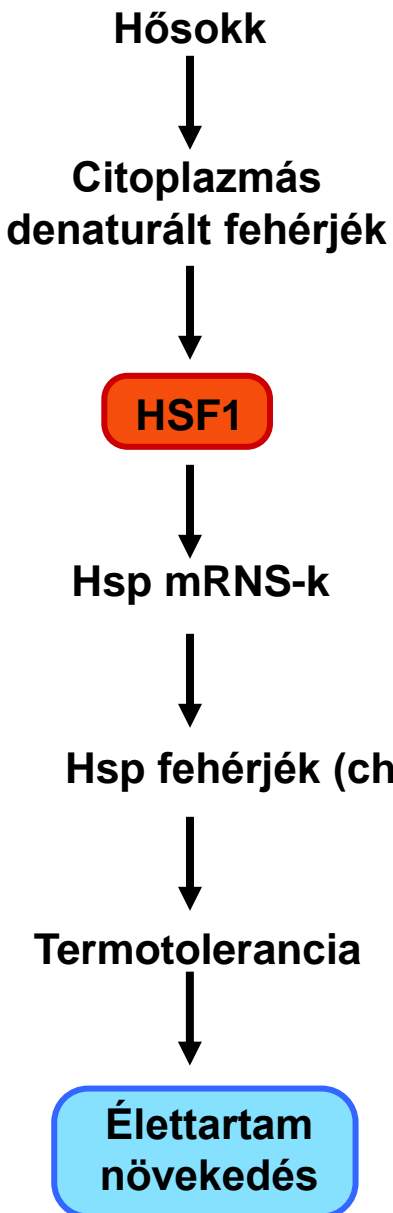
- Jelátviteli útvonalak: insulin/IGF-1; TGF-beta; JNK; Ras/RTK; TOR kináz jelátvitel ...
- Metabolikus komponensek: mitokondriális respiráció; transzlációs gépezet ...
- Szabályozó fehérjék: p53, FoXA; HSF1; Nrf2/SKN-1 ...
- Sejtbontó folyamatok: autofágia; ubiquitin/proteaszóma rendszer; chaperonok
- Kémiai anyagok: resveratrol; ...
- Környezeti hatások: hőmérséklet; O<sub>2</sub>-szint; tápanyag ellátottság ...

... > 450 gén, ..., kölcsönhatások?, szabályozási hálózat?, mi okozza az öregedést?, ...

# Stresszválaszok az öregedésben



## Hősokk válasz



- túlélés és regeneráció
- **HSF1 transzkripciós mester regulátor**
- az életkorral a HSF1-függő *hsp* transzkripció hanyatlik
- a *C. elegans* HSF-1 szükséges a normál élettartamhoz

*Powers et al, 2009.*



Hősokk

# A H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (oxidatív stressz) és az öregedés az RNSi révén gátolja a termotoleranciát *C. elegans*-ban



Hősokk  
↓  
Citoplazmás denaturált fehérjék



HSF1

Hsp mRNSk

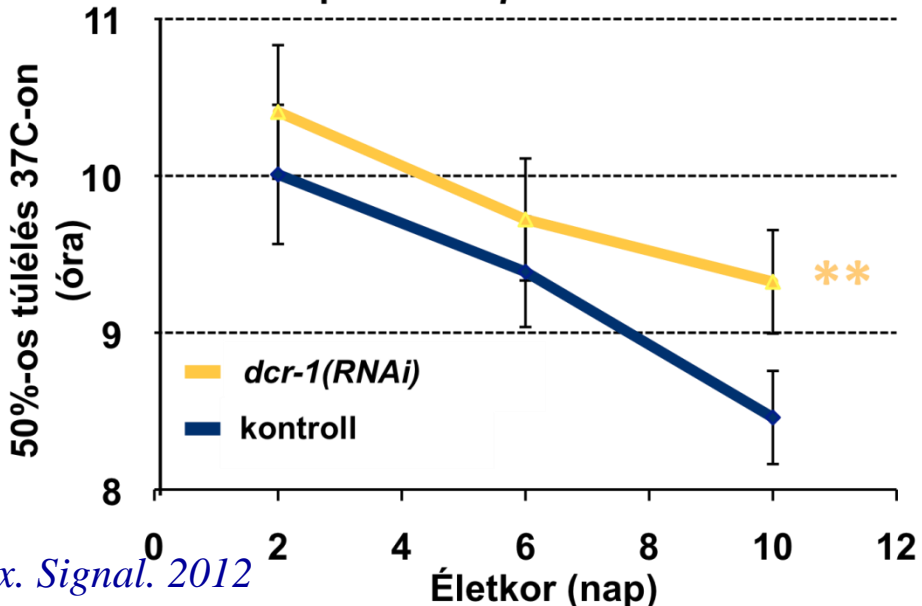
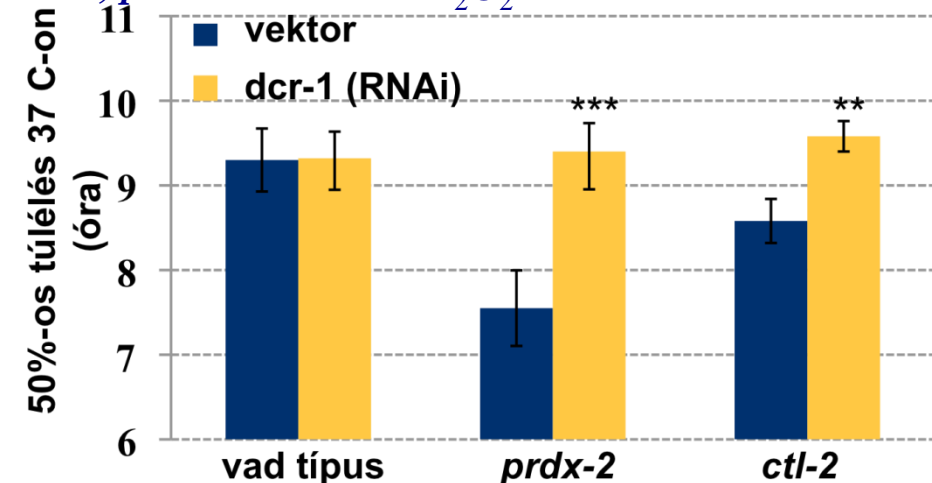
RNSi  $\text{H}_2\text{O}_2$  öregedés

Hsp fehérjék

Termotolerancia

Élettartam növekedés

Vad típus, *ctl-2, prdx-2* → endogén H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → *dcr-1(RNSi)* → TT



# A SKN-1/Nrf2 szerepe a *C. elegans* immunitásban és immunszenescenciában



Xenobiotikus/patogén

stressz

p38MAPK

SKN-1

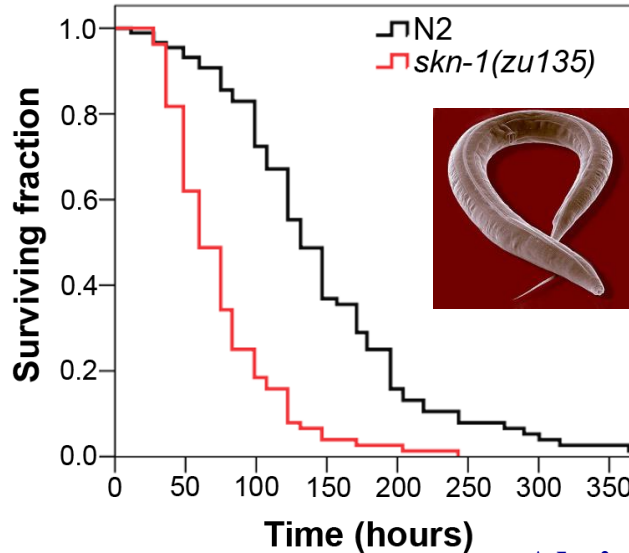
cél mRNS-ek

cél fehérjék

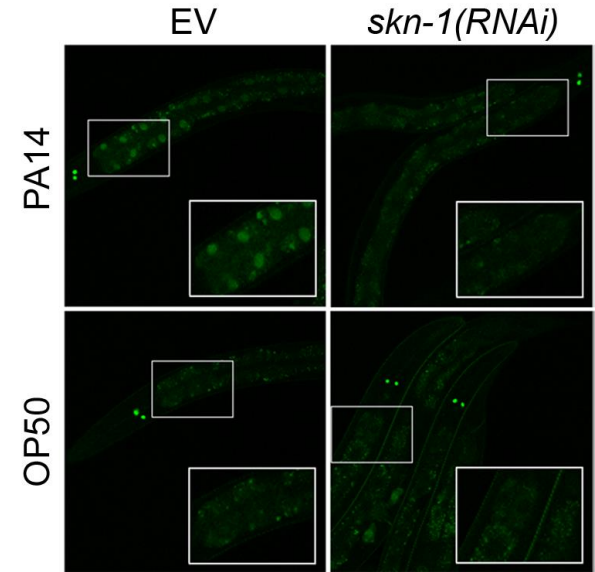
Patogén rezisztencia

Élettartam növekedés

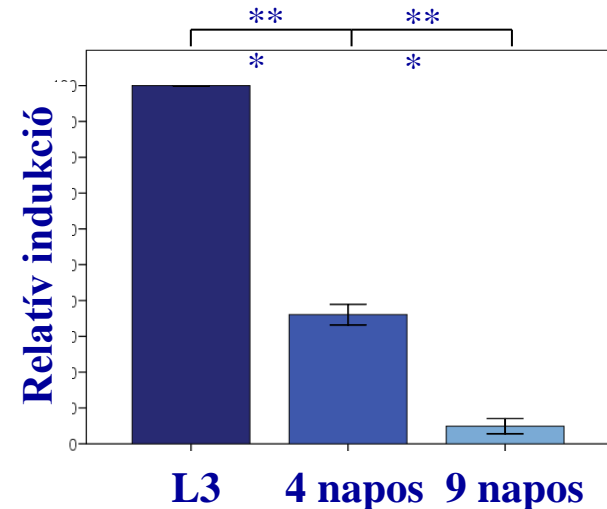
Patogén assay: szükséges



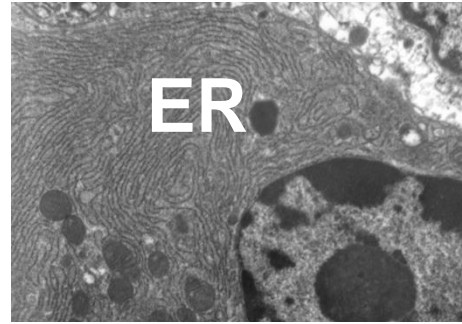
Patogén expozíció: aktiválódik



Aktiválhatóság fiatal korban összeomlik



# Endoplazmás retikulum (ER) stressz – *unfolded protein response* (UPR) – az öregedésben



- fehérje *fold*ing
- lipidszintézis
- Ca<sup>2+</sup>-raktározás

ER homeosztázis  
zavarai

ER stressz

*Folding*hibás  
fehérje

ER szenzorok  
(IRE1, PERK, ATF6)

UPR

chaperon indukció  
gátolt transzláció  
fokozott proteolízis

apoptózis

helyreállított  
ER homeosztázis



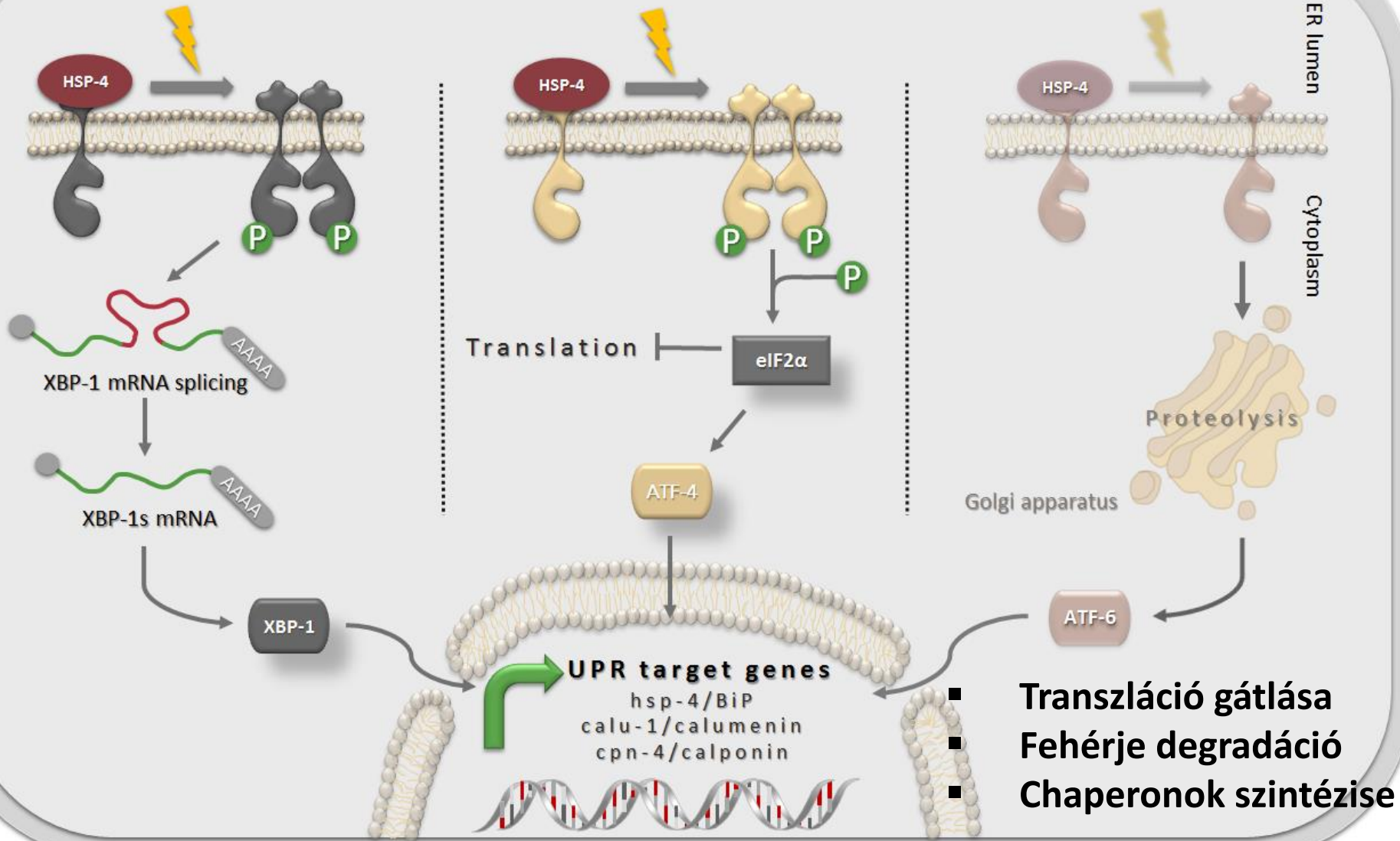
# Endoplazmás retikulum (ER) stressz – *unfolded protein response (UPR)* – az öregedésben



**IRE-1**

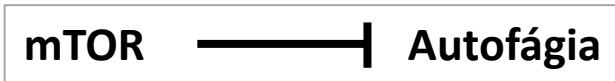
**PEK-1**

**ATF-6**

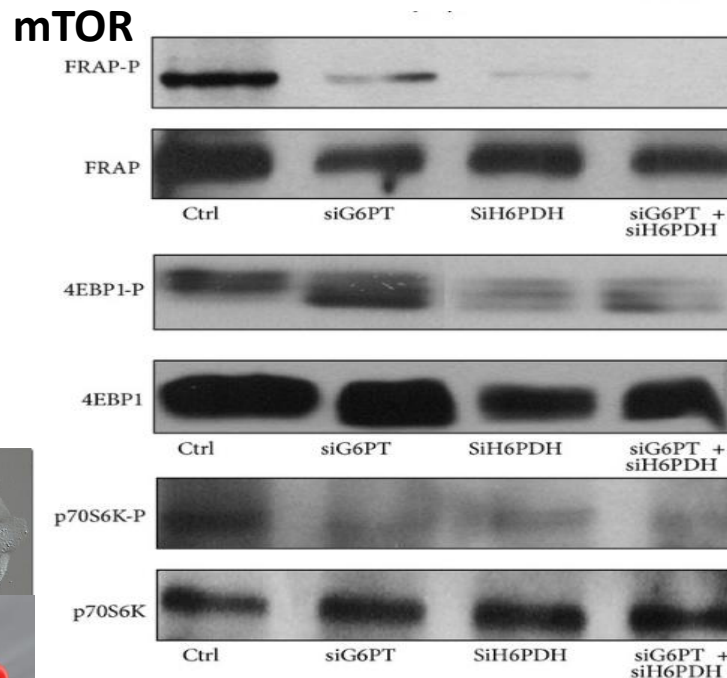
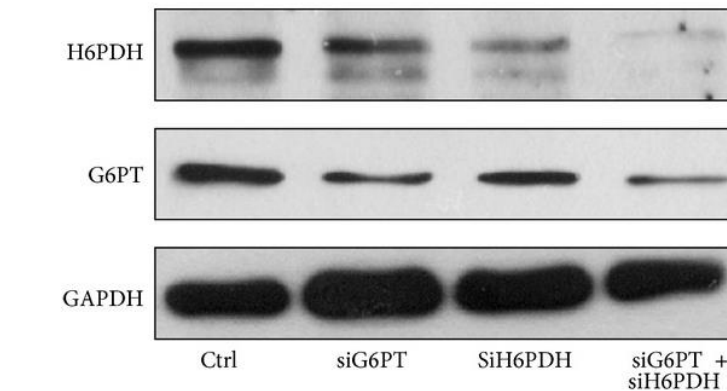
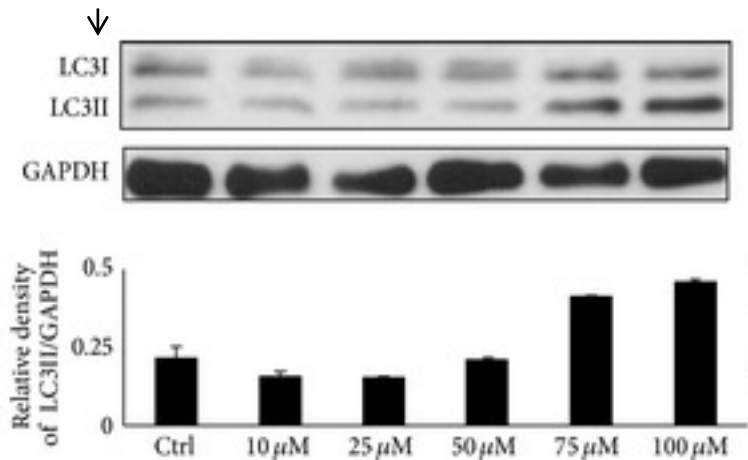




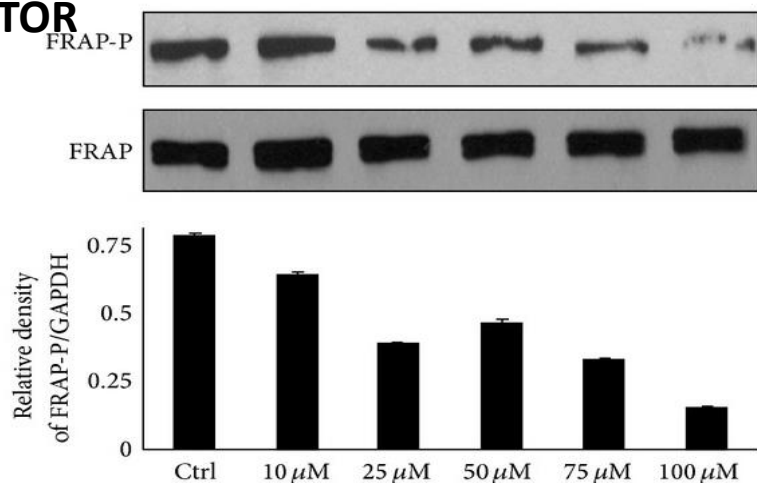
# Redox alapú ER stressz (luminális NADPH depléció) az mTOR jelpálya gátlásán keresztül autofágiát indukál



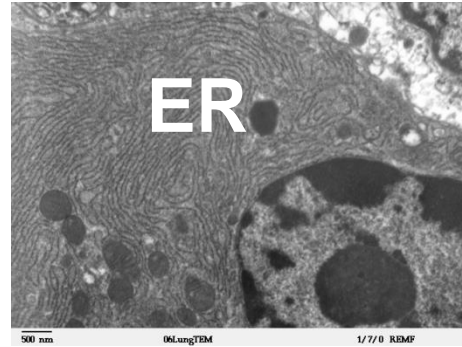
LC3: Autofágia marker



mTOR



# Endoplazmás retikulum (ER) stressz – *unfolded protein response* (UPR) – az öregedésben



ER homeosztázis  
zavarai

ER stressz

Foldinghibás  
fehérje

ER szenzorok  
(IRE1, PERK, ATF6)

mTOR

autofágia

apoptózis

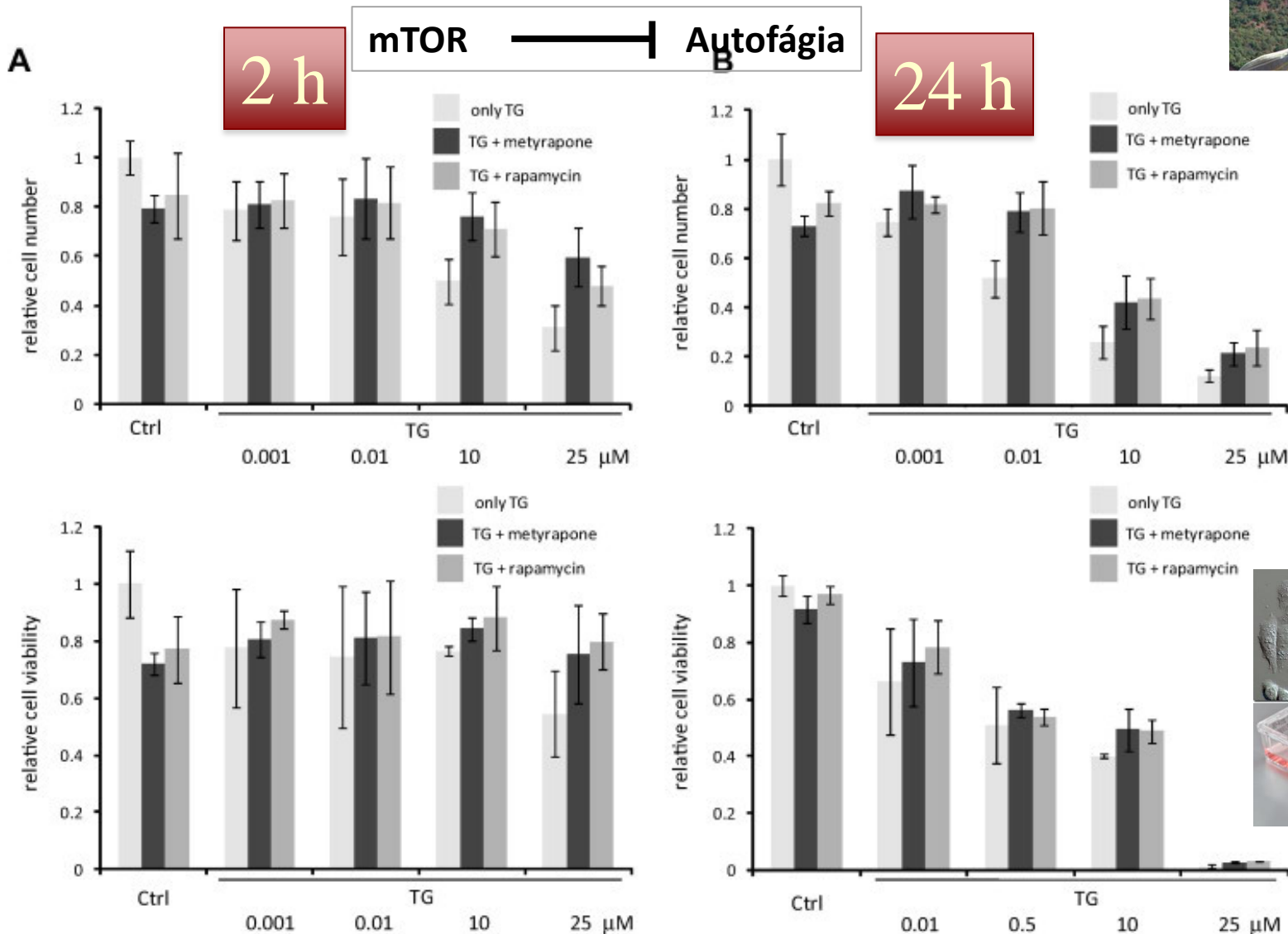
UPR

chaperon indukció  
gátolt transzláció  
fokozott proteolízis

helyreállított  
ER homeosztázis



# A luminális NADPH depléció által kiváltott autofágia elősegíti a sejtek túlélését ER stressz során

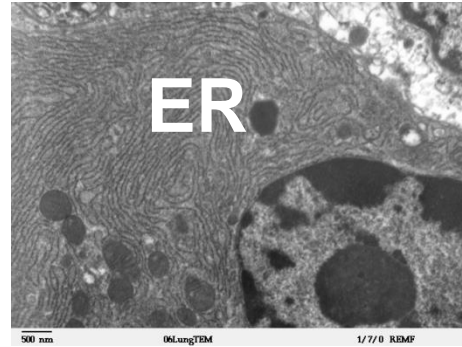


Kapuy et al., FEBS OpenBio 2014

ER stresszor tapsigargin;  
TOR gátló rapamycin; TOR jelátvitel gátló metirapon



# Endoplazmás retikulum (ER) stressz – *unfolded protein response (UPR)* – az öregedésben



ER homeosztázis  
zavarai

ER stressz

Foldinghibás  
fehérje

ER szenzorok  
(IRE1, PERK, ATF6)

UPR

chaperon indukció  
gátolt transzláció  
fokozott proteolízis

mTOR

autofágia

Sejt túlélés

apoptózis

helyreállított  
ER homeosztázis



# ***unfolded protein response (UPR) kapacitásának életkor-függő csökkenése***



- **ER stresszel járó betegségek gyakoribbá válnak az öregedés során (neurodegeneratív betegségek, 2-es típusú diabétesz, elhízás, stb.)**
- **az életkorral az ER chaperonok expressziója és aktivitása hanyatlik**

# HSF-1 célgének keresése *C. elegans*ban



Hősokk  
↓  
Citoplazmás  
denaturált fehérjék

HSF1

?

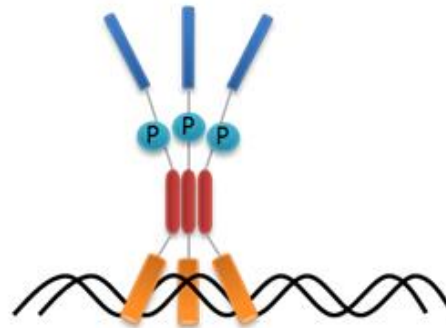
Hsp mRNSk

Hsp fehérjék (chaperonok)

Termotolerancia

Élettartam  
növekedés

Hősokk válasz

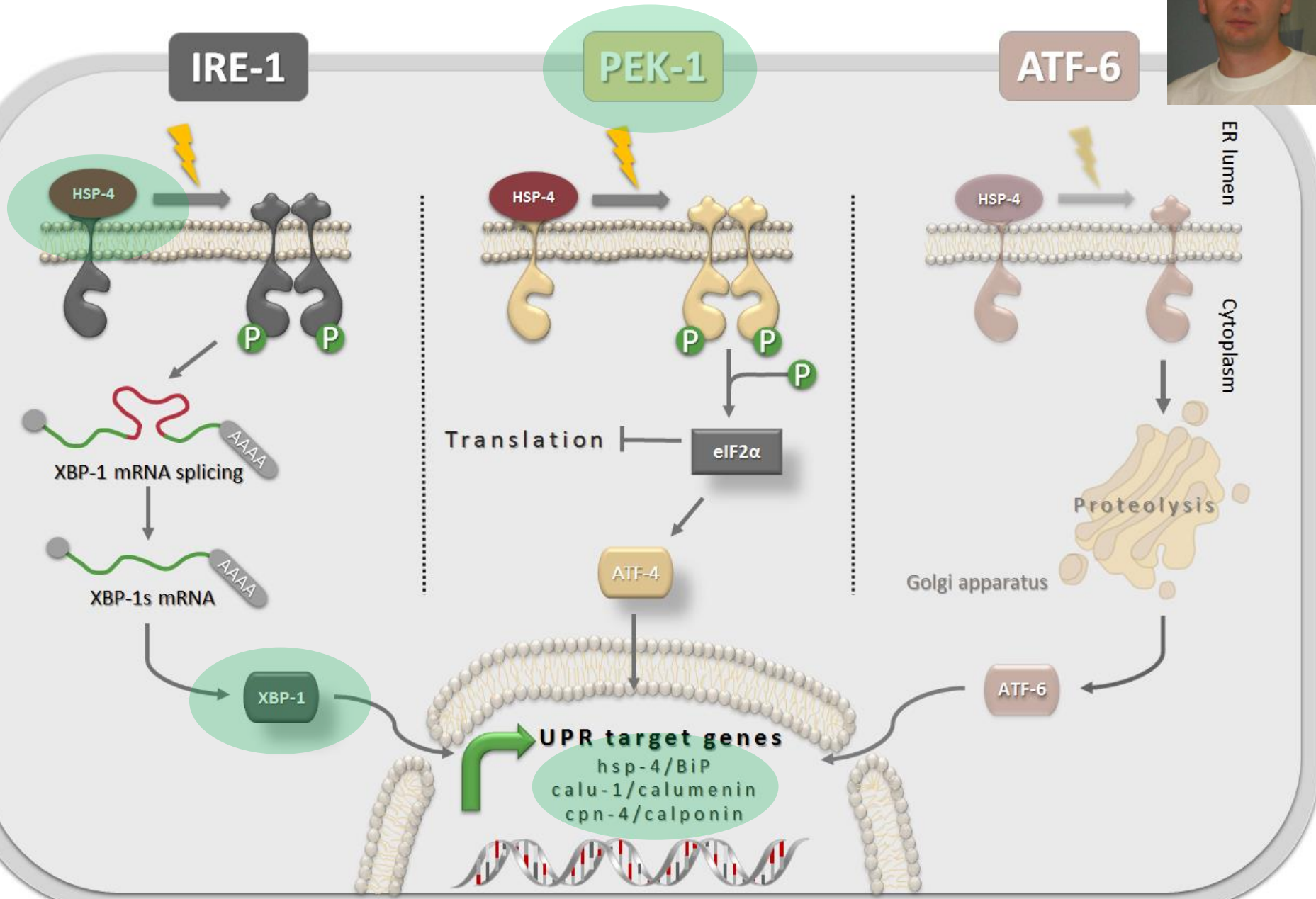


TTC NN GAA NN TTC

UPR

*hsp-4/Grp78/BiP*  
*xbp-1/Xbp-1/XBP1*  
*pek-1/Pek-PA/PERK*  
*calu-1/Scf-PA/Calumenin*  
*cpn-4/Chd64/Calponin*

# UPR – HSF-1 szabályozás



# Példa: az *xbp-1* gén 5' szabályozó régiójában konzervált HSF-1 kötőhely található



*xbp-1* prekurzor

mRNS



Splicing (IRE-1)



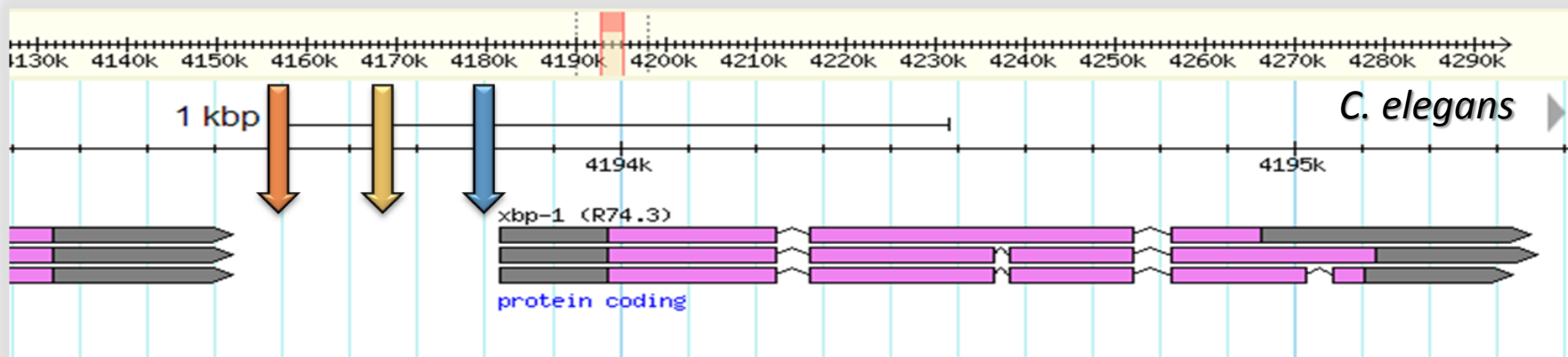
Aktív XBP-1  
fehérje



UPR

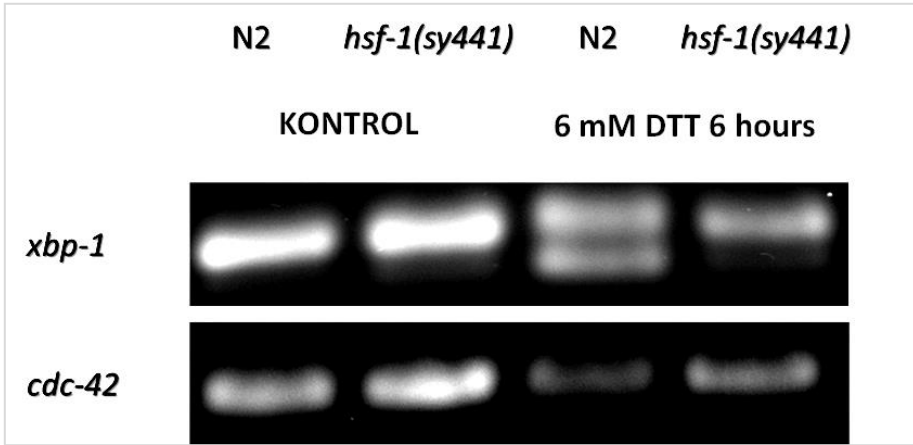


<i>xbp-1</i>	Konszenzus hősokk elem (HSE)	ORF-től való távolság (bp)
<i>C. elegans</i>	<b>GAA</b> at <b>TTC</b> at <b>GAG</b>	-404
<i>C. briggsae</i>	<b>GAA</b> ac <b>TTC</b> cg a <b>TC</b>	-264
<i>C. remanei</i>	<b>TTC</b> tt <b>GAA</b> ca <b>TTt</b>	-64
<i>D. melanogaster</i>	<b>TTC</b> ta <b>GAA</b> ga g <b>Tt</b>	-306
<i>H. sapiens</i>	g <b>TC</b> tg <b>GAA</b> ag c <b>TC</b>	-332



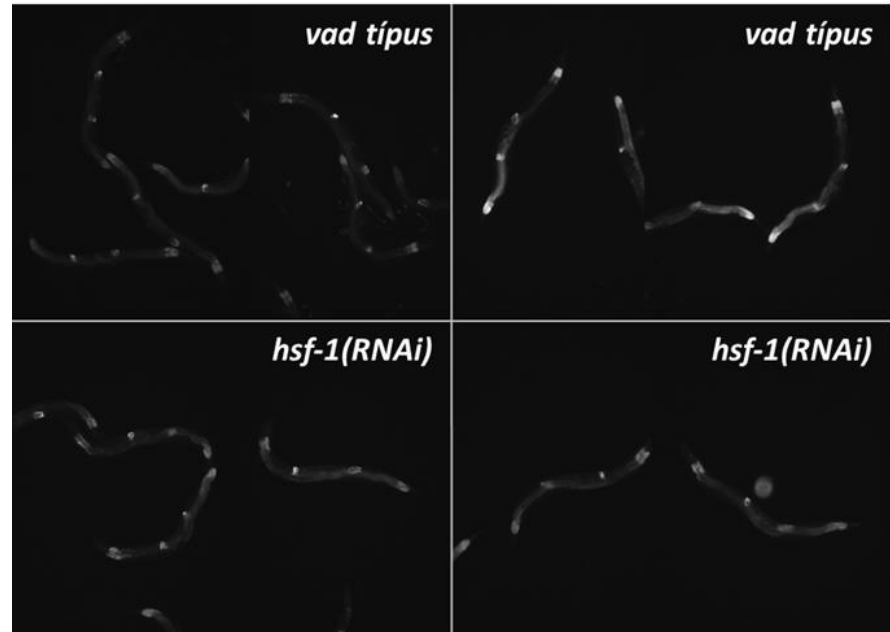


# Példa: a HSF-1 szükséges az **XBP-1** aktivációhoz DTT-indukált ER stressz során



Kontroll

Hősokk



37°C  
45 perc

Hősokk hatására az ***xbp-1*** expressziója HSF-1-függő módon nő meg

# HSF-1 célgének keresése *C. elegans*ban



## Hősök válasza



Transzkripciós aktiválás



Hősök  
↓  
Citoplazmás  
denaturált fehérjék

HSF1

Hsp mRNSk

Hsp fehérjék (chaperonok)

Termotolerancia

Élettartam  
növekedés

ER homeosztázis  
zavarai

ER stressz

Foldinghibás  
fehérje

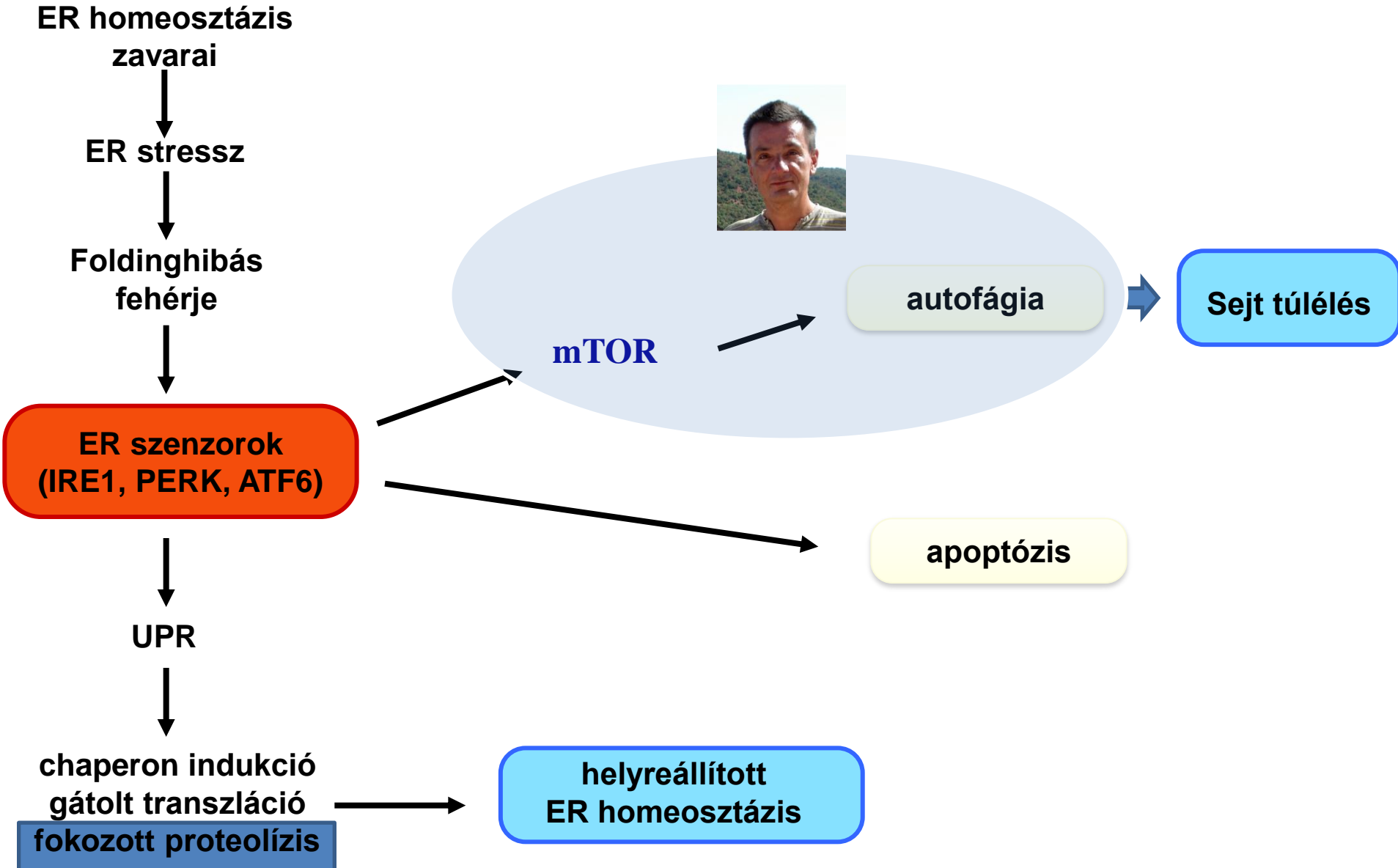
ER szenzorok  
(IRE1, PERK, ATF6)

UPR

chaperon indukció  
gátolt transzláció  
fokozott proteolízis

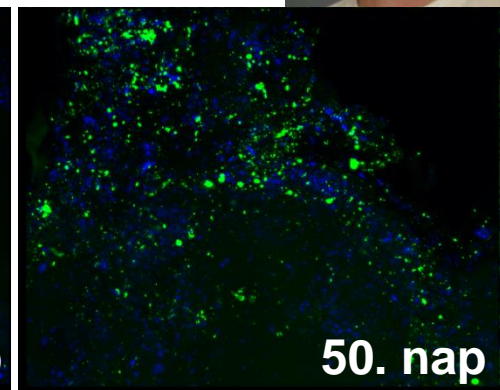
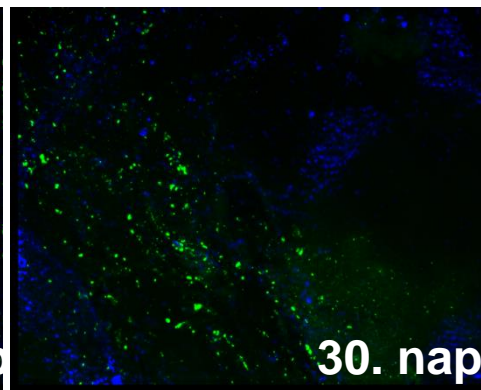
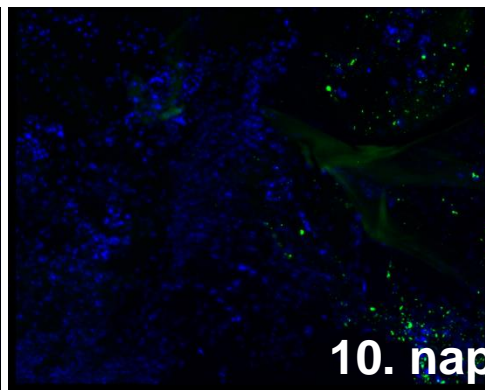
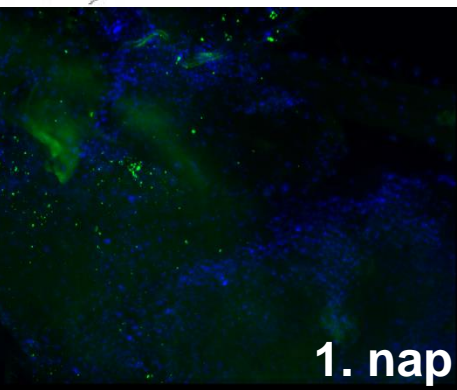
helyreállított  
ER homeosztázis

# Endoplazmás retikulum (ER) stressz – *unfolded protein response (UPR)* – az öregedésben





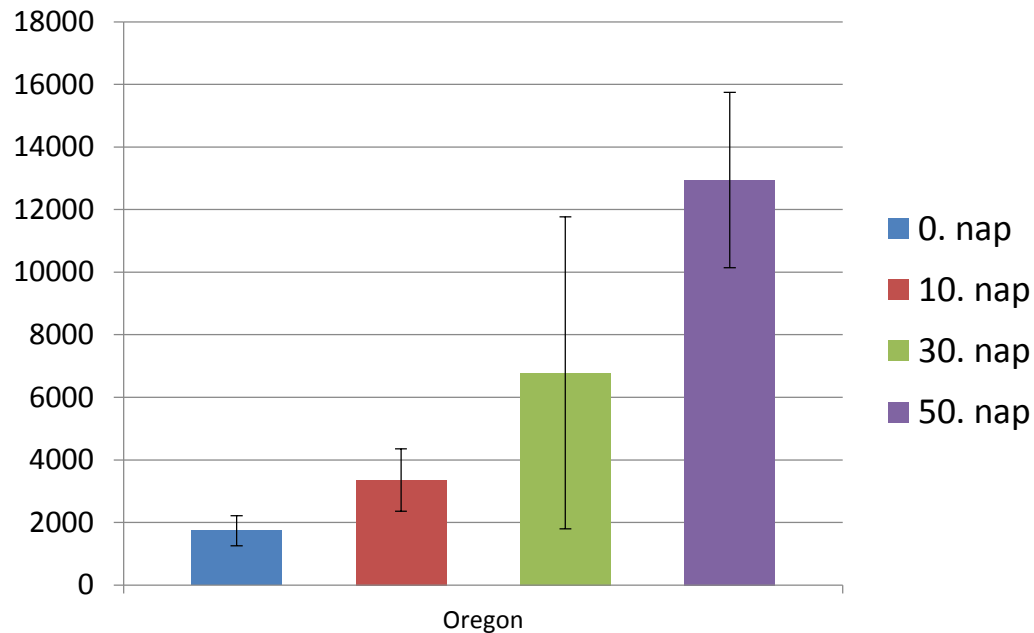
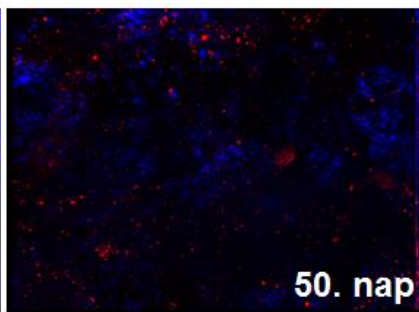
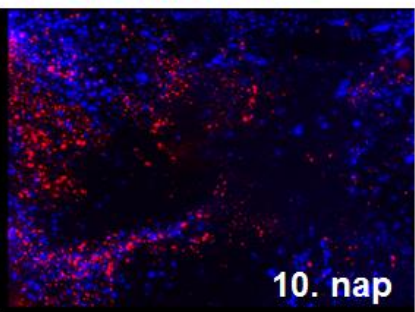
# Az autofágia aktivitása életkor-függő módon csökken *Drosophila* agyban



anti-P62  
Hoecht - sejtmag

P62: egy autofágia szubsztrát

mCherry::Atg8a (autofágia marker)



# Stressz-válasz mechanizmusok (autofágia, chaperonok, UPR) életkor-függő hanyatlása – mi lehet a mechanizmus?



			Length	Copy number	Fraction of genome
LINEs	Autonomous		6–8 kb	850,000	21%
	Non-autonomous		100–300 bp		
SINEs	Autonomous		6–11 kb	450,000	8%
	Non-autonomous		1.5–3 kb		
Retrovirus-like elements	Autonomous		6–11 kb	450,000	8%
	Non-autonomous		1.5–3 kb		
DNA transposon fossils	Autonomous		2–3 kb	300,000	3%
	Non-autonomous		80–3,000 bp		

A humán genom közel felét mobilis genetikai elemek (MGE-k) alkotják. Ezek jelentős része aktív (ENCODE). Mobilizálásuk közben mutagenizálják (dezintegrálják) a szomatikus genomot.

Cél: idős állatokban MGE-k kimutatása autofágia, *chaperon* (*hsp*) és UPR génekben.



# Köszönetnyilvánítás



**Perczel András**



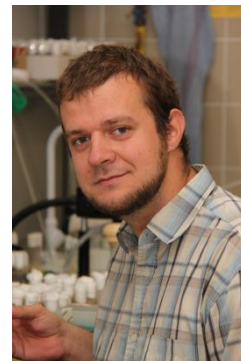
**ELTE TTK Biológiai Intézet**

**Vellai Lab:**

**Barna János**



**Kovács Tibor**



**Sturm Ádám**

