

# GÉNREGULÁCIÓ A MAGASABBRENDŰ ÉLŐLÉNYEK BEN

SZESZÁK FERENC\*

Debreceni Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete

A baktériumok esetében már meglehetősen világos képet alkothatunk azokról a folyamatokról, amelyek a baktériumsejtben a DNS-ben kódolt genetikai információnak az ún. messenger, vagy hírvivő RNS-be történő átíródását szabályozzák. Az utóbbi években sikerült több szabályozási egység (operon) operátor-helyére ható represszor anyagot kémiai tisztán előállítani (36, 87). Elég jól ismerjük az átírás folyamatát végrehajtó RNS polimeráze enzimet, a baktérium és fág-DNS meghatározott nukleotida-szekvenciáit felismerni tudó  $\sigma$ -faktort (80), valamint azt az aktivátor fehérjét, amely a szabályozási egységek promotor régiójában pozitív kontrolláló hatást fejt ki az átíródás folyamatára, és amely a ciklikus adenzin monofoszfát hatása alatt áll. A lac operon szabályozási folyamatait ma már *in vitro* tudjuk vizsgálni (30, 23).

Ezeknek az eredményeknek az alapján a bakteriális mRNS szintézisének szabályozását mintegy molekuláris szinten tudjuk értelmezni. A magasabbrendűekben lezajló génregulációs folyamatokkal kapcsolatban azt állapíthatjuk meg, hogy tudásunk még korántsem áll ilyen exakt alapokon; csak azt állíthatjuk bizonyossággal, hogy a magasabbrendűekben a gének működésének regulációja valószínűleg más, minőségileg bonyolultabb folyamatok útján valósul meg, mint az alacsonyabbrendűeknél. A sejtmaggal rendelkező élőlényekben a dezoxiribonukleinsav mennyisége a baktériumokénak mintegy ezerszerese, azt bonyolult, hisztonokból, nem-hisztonszerű fehérjékből és RNS-ből álló összetett szupra-molekuláris struktúra veszi körül, melyet kromatin anyagnak nevezünk. A riboszómák szintézisére külön morfológiai képlet, a magvacska differenciálódott ki. A sejtmag összetett struktúráiban lezajló regulációs folyamatok kutatása összetett feladat, az ezzel foglalkozó irodalom rendkívül szerteágazó, és ma még sok vonatkozásban ellentmondásos. Ennek egyes fejezeteibe ad betekintést az alábbi összefoglaló.

\* Jelenlegi cím: MTA Szegedi Biológiai Központ, Biokémiai Intézet.

### Dezoxiribonukleinsav a magasabbrendűekben

Míg az *E. coli* baktérium egy sejtben levő DNS hossza kb. 1,1 mm, addig egy emberi sejtmagban található DNS fonalak kiterítve mintegy 1,74 m hosszúságot tennének ki. Ez az élesen szembeötlő nagyságrendi különbség azonban nem mutatkozik meg a termelt enzimek számában.

Az ellentmondást elméletileg kétféle képpen lehet magyarázni:

a) A magasabbrendűekben sok-sok olyan gén van, amely ugyanazon enzimfehérje szintézisét irányítja;

b) A DNS főleg olyan szekvenciákból adódik, melyek a fehérjeszintézis számára nem tartalmaznak kódokat, tehát minőségileg különböznek a hagyományos értelemben vett „struktúr-gének”-től.

Az első feltételezést reprezentálta az ún. „master-slaves” teória (16), melyet azonban a későbbi kísérleti adatok nem erősítettek meg. A kutatások mai állása szerint legvalószínűbb, hogy egy pár kivételtől eltekintve (a riboszomális RNS és a hisztonok génjei, 52) a hatalmas DNS főleg fehérjekódokat nem hordozó szekvenciákból áll, és szerepe a magasabbrendűek minőségileg bonyolultabb szabályozási folyamataiban mutatkozik meg.

A magasabbrendűek DNS-ének legjellegzetesebb sajátága, hogy abban egyes, átlagban pár száz nukleotidnyi hosszúságú szekvenciák igen sokszor, egyes esetekben 1 000 000 példányban is megismétlődnek ugyanazon sejtmag DNS-én belül (13). A szekvenciáknak ilyen — kezdetben teljesen hihetetlennek tűnő — mértékű sokszorozottságára BRITTEEN és KOHNE vizsgálatai során derült fény. Az ő kísérleti technikájuk és gondolatmenetük a következő volt: hidroxilapatit oszlopon a kétszálú DNS erősebben kötődik és megfelelő körülmények között az egyszálú daraboktól szétválasztható. Ha egy adott fajból kivont DNS kétszálú darabjait hővel denaturáljuk, akkor a renaturáció számára kedvező feltételek mellett a komplementer szekvenciájú darabok közötti „eredményes” ütközések számától függően a szálak újra összekapcsolódnak, helyreáll a dupla helix állapot a másodrendű kémiai reakciókra jellemző kinetika szerint. A renaturáció folyamata a megfelelő időintervallumokban elvégzett hidroxilapatit kromatográfiával követhető. A folyamat mérésére bevezették a  $C_0t$  egységet, amely a DNS kémiai koncentrációjának és a renaturációs időnek a szorzata (azonos renaturációs hatások elérése szempontjából a renaturációs idő és a koncentráció növelése egymással helyettesíthető paraméterek). A bakteriális eredetű DNS preparátumok renaturációja az elméletileg várt kinetikának megfelelően ment végbe. A magasabbrendű élőlények (elsők között az egér és szarvasmarha) DNS-ének vizsgálata hozta azokat a teljesen váratlan eredményeket, amelyek az ismétlődő szekvenciák felfedezéséhez vezettek. Ha ugyanis igaz lett volna az a feltételezés, hogy az egérsejtmagnak a baktériumoknál 3 nagyságrenddel nagyobb mennyiségű DNS-e csupa egymástól különböző szekvenciából áll, akkor a szokásos

DNS koncentrációk és inkubációs idők mellett csak egészen minimális renaturációt lett volna szabad kapni. A kísérletek ugyanakkor azt mutatták, hogy pl. az egér DNS-nek kb. 10%-a még a bakteriális DNS-nél is alacsonyabb  $C_0t$  értékeknél renaturálódik. Számos, többirányú ellenőrző kísérlet után vonták le BRITTENÉK a következtetést, hogy a gyors renaturáció oka az, hogy az illető szekvenciák egy-egy sejtmag DNS állományában igen sok példányban vannak jelen, koncentrációjuk tehát sokkal magasabb a DNS oldatában, mint ahogy ezt feltételezték. Megfelelő kísérletek azt is igazolták, hogy a  $C_0t$  1/2 érték (az illető szekvencia egyszálú formájának fél-életideje a renaturációs rendszerben) arányos a rendszerben jelenlevő komplementer szekvenciák számával és az egy sejtmagban levő DNS mennyiségének ismeretében az illető szekvencia ismétlődésének mértéke meghatározható. Az ismétlődés mértéke és egyéb jellegzetességek alapján a magasabbrendű DNS szekvenciáit 3 jól definiálható típusra oszthatjuk (13):

a) Apród DNS: az ismétlődés mértéke itt a legnagyobb, sejtmagonként 100 000—1 000 000 példányban van jelen egy-egy apród szekvencia. Az apród DNS-ek bázisösszetétele a DNS főtömegéhez képest oly mértékben eltérő, hogy azok fajlagos sűrűségük alapján céziumklorid sűrűségi gradiensben a DNS főtömegétől szétválaszthatók (57). Az apród DNS jelenléte főleg az emlősökre jellemző, bár az ízeltlábúakban is találunk apród frakciókat. Fajonként különböző számú, rendszerint 3—5 egymástól eltérő fajlagos sűrűségű apród DNS-t mutathatunk ki. Az apród frakcióknak általában érdekes jellemzője azok nagyfokú fajspecifitása, melyek jelentőségét még nem értjük pontosan. Viszonylag közeleső fajok (pl. különböző rágesálók) apród frakciói nagyfokban eltérnek egymástól (84).

Az apród DNS dupla-spiráljaiban a bázisok eloszlása annyira egyenetlen, hogy azok sok esetben alkálikus céziumklorid gradiensben egy purin és egy pirimidin bázisban gazdag láncra frakcionálhatók szét (31, 19). Az apród DNS frakciók lokalizációja a kromoszómák mentén nagyfokban fajlagos. Általában a kromoszómák centromer régiói körül találhatók, de pl. a humán DNS 1,693 fajlagos sűrűségű frakciója kizárólag az 1. és 16. kromoszóma-pár centromérje körül helyezkedik el (49), az 1,703 pedig egyetlen kromoszóma-pár, a 9. centromérjében található (68). Megint más apród DNS frakciót találhatunk az Y kromoszóma karjainak a centromerrel ellentétes végén (86).

Milyen hosszú egy-egy ilyen szekvencia-darab, amely vagy közvetlenül saját végében („tandem” szerűen) vagy a genom más helyein újra meg újra megismétlődik. BRITTENÉK klasszikus kísérleteiben az egér apród DNS-ében 300 nukleotida-párnyi hosszúságúnak adódott az újra ismétlődő szekvenciák hossza.

Az ízeltlábúak apród frakcióit ennél sokkal egyszerűbbnek találták. Pl. a rák apród DNS-e gyakorlatilag tiszta poly dAT (70). Drosophilák rokon fajaiban az ismétlődő szakaszokat igen rövid, hexa-, ill. heptanukleotidoknak

találták, melyeknek ma már szekvenciája is ismert (81). Ez a felismerés azt sugallja, hogy a magasabbrendűek ismétlődő szekvenciái nem a klasszikus értelemben vett „génduplikáció” mechanizmusa alapján alakultak ki, hanem valami egyszerűbb nukleotid sokszorozódás révén, és az evolúció során az egyszerűbb, monoton szekvenciákból alakultak ki az összetettebbek.

b) Közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciák. Ezek a magasabbrendűek genomjában néhányszor 10 000 példányban fordulnak elő. Ezeknek a közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciáknak az elhelyezkedését a kromoszómákon vizsgálni lehet a következő technikával (59): a metafázis kromoszómákat sűrűségi gradiens centrifugálással frakcionálni lehet. Az izolált kromoszóma-frakciókból izolálják a DNS-t, majd hibridizálják az *in vivo* szintetizálódott, izotópjelzett dRNS frakcióval. A hibridben maradt dRNS-t újra izolálják, majd kereszt-hibridizációt végeznek a többi kromoszóma-frakció DNS-ével. Ezekből a kísérletekből az adódott, hogy ezek a közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciák a különböző kromoszómákon egyenletesen szétosztva találhatók. Tehát ugyanazon szekvenciaféleség a legkülönbözőbb kromoszómáknak legkülönbözőbb pontjain feltalálható.

c) Nem ismétlődő szekvenciák. Ezek a szekvenciák egy sejtmag DNS-ében csak egy, vagy néhány példányban találhatók. Ezt a DNS frakciót jelenlegi módszereinkkel viszonylag kevésbé tudjuk részletesen jellemezni.

Az ismétlődő szekvenciák össz mennyisége a magasabbrendűek vonatkozásában fajokként változik, így pl. a szalamandrában az össz-DNS 80%-a, a szarvasmarhában 45%-a, az embernél kb. 1/3-a képvisel ismétlődő szekvenciát. Az apród DNS frakció mennyisége általában az össz DNS-nek 10%-a. Így a humán DNS kb. 2/3 részben nem-ismétlődő, 23%-ban közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciákból áll, míg kb. 10%-a apród DNS (14).

Meg kell jegyezzük, hogy újabb kísérletek (8) BRITTENÉKKEL ellentétben kimutatták, hogy a közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciák mért mennyisége függ a DNS darabolásának mértékétől renaturációs kísérletben. Nagyobb fokban darabolt DNS-t használva az egér közepes gyakorisággal ismétlődő frakcióját a korábbi 20% helyett 50%-nak találták.

#### **Az átörökítő anyagot hordozó struktúra a magasabbrendűekben: a kromatin**

Az eukaryotákban a DNS mindig egy meglehetősen állandó összetételű, bonyolult és csak részben ismert szerkezetű struktúrában található, ezt nevezük kromatinnak. Ebben a kromatin anyagban a DNS-en kívül találjuk a hisztonokat, a nem-hisztonszerű fehérjéket és valamennyi RNS-t. Ha a DNS mennyiségét 1-nek vesszük, akkor ezeknek a komponenseknek az aránya hozzávetőlegesen: 1 : 1 : 0,3—0,7 : 0,003—0,07 (9). Ez a meglehetősen stabil komplex a sejtmagból jól izolálható (56) és a génreguláció jelenségeinek kutatásá-

nál kiterjedten használják. Hisztokémiai viselkedése alapján már régen két frakcióját különböztették meg, az ún. hetero- és eukromatint. Később ezt a két frakciót preparatív úton is szét tudták választani egymástól (32) és kiderült, hogy azok templátaktivitása eltér egymástól (33). A heterokromatin az RNS szintézis szempontjából sokkal kevésbé aktívnek mutatkozott, mint az eukromatin. A génaktivitás szabályozásának felderítése szempontjából ez a tény kevésbé gyümölcsözőnek mutatkozott, mint ahogy azt korábban várni lehetett. Ennek okai:

a) A két frakció kémiai összetétele a fehérjekomponensek szempontjából nem mutat olyan jellegzetes eltérést, amelynek alapján a heterokromatin genetikailag inaktív jellegét magyarázni lehetne.

b) Egy adott szövetféleségen belül a kétféle kromatinfrakció egymásba való átalakulása fiziológiás körülmények között nem figyelhető meg.

c) A heterokromatinizációnak a metafázis kromoszómákon való tanulmányozásakor kiderült, hogy a heterokromatikus szakaszok a kromoszómáknak mindig meghatározott részein — a centromérek körül található (20). Újabb vizsgálatok kimutatták (83, 84), hogy a heterokromatinban található DNS tekintélyes része apród DNS-ből áll, amely valószínűleg egyáltalán nem tartalmaz fehérje-kódokat.

Ezeknek az adatoknak az ismeretében az látszik valószínűnek, hogy a preparatív izolálható heterokromatin frakció a DNS-templát tartósan inaktív formáját képviseli és kevésbé alkalmas az anyagsere szükségleteinek megfelelően a DNS templáton állandóan végbemenő repressziós és derepressziós folyamatok tanulmányozására.

Melyek a kromatin főkomponenseinek jellegzetességei és hogyan viselkednek a kromatin struktúrájában?

#### *A hisztonok szerkezete*

A hisztonok olyan, viszonylag kis molekulásúlyú (10000—20000 Dalton) fehérjék, amelyekben a bázikus aminosavak relatív mennyisége magasabb, mint az átlagos összetételű fehérjékben. 5 frakciójuk van, amelyek közül az  $F_1$  és  $F_{2b}$  hisztonfrakciók bázikus karaktere főleg a lizin, míg az  $F_{2al}$ ,  $F_{2a2}$  és az  $F_3$  frakciók bázikus viselkedése főleg az arginin fölöslegéből származik (9,71). A hisztonok jelenléte a magasabbrendűek sejtmagjában egyike azok legjellegzetesebb és legáltalánosabb sajátosságának.

Érdekes sajátága a hisztonoknak összetételük és szerkezetük igen nagyfokú konzerváltsága. Nemhogy a hisztonfrakciók száma és relatív aminosavösszetétele, de még aminosavak sorrendje is csak jelentéktelen mértékben különbözik egymástól, az egyébként igen távoli fajokban (pl. hüvelyes növények és emlősök). Feltehetően nagy szelekciós nyomás „örkődik” a hisztonok állandósága fölött.

Az öt hisztonfrakció aminosav sorrendje ma már majdnem teljesen ismert, és a röntgen-diffrakciós, valamint a mágneses magrezonancia mérések jóvoltából háromdimenziós térszerkezeti modelljeik is nagyrészt rendelkezésre állnak. A hisztonok térszerkezeti sajátosságait az  $F_{2a1}$  frakció bemutatásával jellemezzük (63).

Az arginin-gazdag  $F_{2a1}$  hiszton molekula 102 aminosavból áll és két régióra bontható. Az egyik régió a polipeptid-lánc N-terminális végétől a 45. savmaradékig tart, a másik régió pedig a 46-os aminosavtól a C-terminusig. Ennek a két régiónak az aminosav-összetétele és ennek megfelelően fizikokémiai viselkedése eltér egymástól. A molekula 27 bázikus aminosavából 17 az N-terminális régióba esik. A 7 savanyú aminosavból viszont csak egyet találunk az első régióban. A második régióra jellemző a hidrofób oldalláncú aminosavaknak a felszaporodása (36-ból 26) és a molekula 6 aromatikusan oldalláncú aminosava mind a 2. régióban foglal helyet. Ugyancsak figyelembe véve az N-terminális régió magasabb prolin tartalmát, valószínű, hogy az egyszerű, konformáció nélküli polipeptid lánc formájában van jelen. A molekula C-terminális fele  $\alpha$ -helix struktúrába rendeződik rövidebb megszakításokkal. A hisztonokra ez a viselkedés általában jellemző: molekuláiknak vannak erősen bázikus, kinyújtott polipeptid-lánc formájában jelenlevő szakaszai, és kevésbé bázikus,  $\alpha$ -spirálba rendeződött részei.

A másik, funkcionális szempontból valószínűleg igen fontos sajátossága az említett struktúrának az ionerősség-változásokra való nagyfokú érzékenysége. Az  $\alpha$ -helix struktúra csak 0.1 M NaCl koncentráció fölött stabil. Alacsonyabb ionerősségeknél a molekulák teljesen kinyújtott állapotba kerülnek (12).

Ezen általános jellemzőkön túlmenően azonban minden hisztonnak megvan a maga szerkezeti jellegzetessége, amivel a többiek nem rendelkeznek, mutatván, hogy a közreműködésükkel kialakuló kromatin-fonalak sem lehetnek monoton, lokális jelleg nélküli struktúrák.

A lizin gazdag  $F_1$  molekulája kb. kétszer olyan hosszú polipeptid láncból épül fel, mint a többiek (216 aminosav). Mindkét vége kinyújtott polipeptid lánc alakjában található és centrális, 47—107 aminosavmaradékok közötti szakasza képez  $\alpha$ -spirált (12). Keletkezési és lebomlási sebessége a többi hisztonokénál nagyobb. Aminosav szekvenciája nincs annyira konzervált, mint a többi hisztonoké, láncjaiban találunk kisebb-nagyobb helyi eltéréseket.

Az  $F_{2b}$  molekulája kisebb (125 aminosav) és szerkezete valamelyest hasonlít az  $F_1$  elrendeződésére. BRADBURY és munkatársainak (10) mágneses magrezonancia-méréssel végzett vizsgálatait azt mutatják, hogy az  $F_{2b}$  hiszton mind az N-, mind a C-terminális végén rendelkezik egy-egy kinyújtott polipeptid-lánc szakasszal, míg a 30 és 102 aminosav között van egy  $\alpha$ -helikális rész. Ennek a régióknak az  $\alpha$ -helix formáló hajlama nem egyenletesen erős, legstabilabb a 60—102 között helyetfoglaló mag, és a 30—59 szakasz csak magasabb ionerősségnél veszi fel az  $\alpha$ -helix konformációt.

Az  $F_{2a2}$  hisztonnak (129 aminosav) igen hidrofób centruma van a 49—55 aminosavmaradékoknak megfelelő láncszakaszon (85). C-terminális végéhez közel viszont egy savanyú oligopeptid szakasza is van (a 90—93 aminosavak).

Az  $F_3$  hiszton (135 aminosav) molekulája tartalmaz egyedül ciszteint, ez is csak egyetlen molekulát, de a vele kialakuló S—S hidak fontosságát a kromatinban már kimutatták (82).

### *Nem-hisztonszerű fehérjék*

A fehérjéknek ez a csoportja a különböző kromatin-preparátumokban kb. felényi mennyiségben fordul elő, mint a hisztonok. Sajátságai:

a) Vannak átlagos, egyéb citoplazma-komponensekre emlékeztető képviselői, míg mások kifejezetten savanyú karakterűek.

b) A frakció összetétele igen heterogén. Gélelektroforézissel legalább 20—30 komponens különböztethető meg benne.

c) A nem-hisztonszerű fehérjék szövetspecifitást mutatnak. A frakció összetétele ugyanazon faj különböző szöveteiben is eltérő (64).

d) A nem-hisztonszerű fehérjéknek vannak olyan képviselői, melyek csak faj-azonos DNS-hez kötődnek meg (53).

A nem-hisztonszerű proteinek egyes képviselői *in vivo* foszforilálódnak. A foszfát-csoportok a fehérjék szerin és kisebb részben treonin aminosav-oldalláncaira szubsztituálódnak.

### *A kromatin RNS komponense*

A legkülönbözőbb élőlényekből és szövetekből származó kromatin preparátumok tartalmaznak egy kisebb mennyiségű RNS-t (9). Ennek egy része sós közegben ledisszociál, más része fehérje-komplexben marad. A hatását DNS-RNS bázispárosodás útján kifejtő valamely RNS mint regulátor anyag gondolatát többen felvetették (33, 6, 15), amely azonban nem bizonyult termékeny munkahipotézisnek (45, 3, 76). A génreguláció folyamatait tanulmányozó kutatócsoportok többsége ma azzal a munkahipotézissel dolgozik, hogy a DNS felszínén folyó RNS szintézis szabályozása valamilyen módon fehérje-mediátorokon keresztül valósul meg.

### *A kromatin-anyag szerkezete*

A kísérleti módszerek szabta jelenlegi lehetőségeink a DNS és a hisztonok közötti kapcsolat felderítéséhez nyújtanak leginkább alapot, míg a kromatin egyéb komponenseinek strukturális elrendeződése a kromatinon belül kevésbé ismert.

### Nukleohiszton szerkezete

A DNS-nek a hisztonokkal alkotott komplexének szerkezetére vonatkozóan RICHARDS és PARDON (63) dolgozott ki modellt. Ők szintén az  $F_{2a1}$  hisztonnal dolgoztak. RICHARDS és PARDON modellje szerint a  $F_{2a1}$  hiszton molekulái a DNS dupla-spirálnak 3 csavarulatával (21000 Dalton) alkotnak komplexet, a DNS szélesebb hornyába feküdvén. A hisztonmolekulának az N-terminális, bázikusabb karakterű láncza kötődik erősebben a DNS fonalakhoz, ezen a szakaszon tekinthető a foszfát csoportok közömbösítése teljesnek. A C-terminális,  $\alpha$ -helixbe rendeződött szakasz csak lazább összeköttetésben lenne a DNS-sel, és végeredményben az  $F_{2a1}$  hiszton egy molekulájával letakart DNS szakaszon a foszfát-csoportoknak még mindig csak 60%-a lenne közvetlenül bázikus aminosavmaradékkal leközömbösítve. Az  $\alpha$ -helixbe rendeződött szakaszcól feltételezik, hogy ez létesítene kapcsolatot más hiszton-molekulákkal és a kromatin egyéb szerkezeti elemeivel.

Mágneses magrezonancia méréses adatai alapján BRADBURY a következőképpen képzei el a DNS és a hisztonok által képezett struktúrát a kromatinban: négy hiszton frakció (az  $F_{2a1}$ ,  $F_{2a2}$ ,  $F_{2b}$ , és  $F_3$ ) a DNS dupla helixet egy magasabbrendű helix-szé kapcsolja össze, melynek vastagsága kb. 100 Å, menetemelkedése pedig 120 Å. A struktúra képes úgy is átrendeződni, hogy a helix menetemelkedése 50 Å-re csökken. A magasabbrendű helix csavarulatait hisztonhidak kötnék össze. Azok a hisztonok (pl.  $F_{2b}$ ), amelyeknek mindkét vége bázikus egyenes láncú, önmaguk is képesek a DNS dupla helix két távolabbeső pontját összekapcsolni. Azok a hisztonok (pl.  $F_{2a1}$ ), melyeknek csak egy bázikus-egyenes láncvégük van, úgy tudnak részt venni a folyamatban, hogy két DNS-hez már lekötődött molekula  $\alpha$ -helix régiói kapcsolódnak össze egymással. Ezen magasabbrendű nukleohiszton helixek a natív kromatinban kimutathatók, ill. abból izolálhatók, de mesterségesen is előállíthatók, ha DNS-t és hisztonokat megfelelő körülmények között engedünk egymással kapcsolódnia. A fonalak vastagsága megfelel a natív kromatin „A” típusú fonalaainak (27).

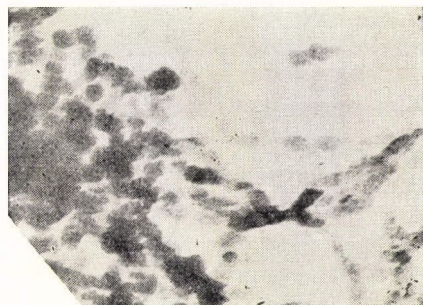
Biológiai szempontból valószínűleg alapvető fontosságú, hogy a fent vázolt struktúra igen mozgékony, változékony. A DNS-re jellemzőek a változó dipol tengelyek, melyek az ionos DNS-hiszton kötést természetsszerűleg befolyásolják. Másrészt a hisztonok konformációja igen érzékeny az ionerősség-változásokra. DNS-hiszton és hiszton-hiszton kötések felbomlása a magasabbrendű helix struktúra változásit, „letekeredését” eredményezhetik.

Érdekes, és a többiektől teljesen eltérő az  $F_1$  hiszton viselkedése a kromatin struktúrájában. FRISMAN és munkatársai (34) azt találták, hogy a kromatin sós disszociációja folyamán az  $F_1$  frakció az, amely a legkisebb (0,6 M) NaCl koncentrációval leválasztható a kromatinról. Ugyanakkor a kromatin szerkezete döntően megváltozik és a kromatinban a DNS többszöröse felspiralizálódott állapota csökken. Az  $F_1$  hiszton által megvalósuló regulációs mechaniz-



mus további láncszeme az a BARTLEY és CHALKLEY által leírt nukleáris proteáze (4), mely iránt az  $F_1$  hiszton a legérzékenyebb. Az enzim szubsztrát-specificitásának érdekessége, hogy a kromatinhoz kötött  $F_1$  hisztonnal szemben aktívabb, míg az izolált  $F_1$ -et nem emészti. A többi hisztonféleséggel szemben viszont pont fordítva viselkedik; ezek a nukleohisztonban rezisztensek vele szemben és izolált állapotban érzékenyek rá.

Az  $F_1$  kötődésére a kromatinon belül az adatok és vélemények eltérnek egymástól. Az adottnak vehető, hogy az  $F_1$  hiszton a már más hisztonfrakciók



1. ábra. Natív kromatinszálak elektronmikroszkópos képe emberi sejtéből DUPRAW után (27)

közreműködésével kialakult kromatid fonalakat (lásd fent) kapcsolja össze még komplexebb struktúrákká (11). Ezek morfológiai equivalense lehet a natív kromatin fonalak „gombos” (számos, szabálytalan periódusokban jelentkező megvastagodás) tagoltsága (27, 61) és a vastagabb (200–300 Å) „B” típusú kromatin fonalak (1. ábra). Ez azonban egyesek szerint az  $F_1$ -nek a DNS bizonyos pontjaival való közvetlen kapcsolódásán keresztül valósul meg (22), mások szerint viszont az  $F_1$  polipeptid láncai nem is érintkeznek a DNS-sel, csak a többi hisztonmolekulákkal (12).

#### *Nem-hiszton fehérjék a kromatinban*

A nem-hiszton fehérjék konkrét kapcsolódási módjáról a kromatinban igen keveset tudunk. A kromatinról való ledisszociálhatóság szempontjából két csoportjukat lehet elkülöníteni: A nagyobb frakciót azok a komponensek alkotják, amelyek viszonylag enyhe behatásokra (0,6–1 M nátriumkloridos extrakció, vagy a kromatin Waring blenderben való homogenizálása) elválnak a kromatin egyéb alkotórészeitől. Ezek valószínűleg nem kötődnek közvetlenül a DNS-hez. Egy kisebb frakció viszont erősen kötődik (55, 77), mely magasabb, 2 M sókoncentrációval, vagy 2 M nátriumklorid és 5 M karbamid jelenlétében sem válik le a DNS-ről.

### Az eukaryoták kromoszómái és a sejtciklus

Az ezen fejezetbe tartozó problémák részletes taglalása túlterjedne a tanulmány alapcélkitűzésének keretein, a kromoszómák struktúrájának csak egy aspektusa kerül kifejtésre, nevezetesen a kromoszómák lokalizációjának determinált volta a nyugvó sejtmagban és a sejt osztódása folyamán.

#### *Interfázis kromoszómák viszonya a maghártyához*

Az első fejezetben már tárgyalásra került az eukaryoták egy-egy sejt-magjában található DNS hatalmas tömege. Ez a nagymennyiségű DNS egy igen kis térfogatba úgy van „bepakolva”, hogy az a DNS felszínén lejátszódó szintetikus és szabályozási folyamatokat mindenkor lehetővé teszi. Ez első megközelítésben problematikusnak tűnhet. Az egyes gének vonatkozásában megvalósuló regulációs folyamatokon túlmenően olyan komplexebb események is szigorúan rendezett módon játszódnak le, mint a DNS megduplázódása, a kromoszómák kialakulása oszlásról oszlásra, valamint az átörökítő anyag rekombinációja nemzedékről nemzedékre.

Azok az adatok, amik a DNS-nek a sejt-magon belüli elrendeződésére vonatkozóan rendelkezésre állnak, némileg közelebb visznek a fenti problémák megértéséhez.

A 230 Å vastag „B” típusú kromatin fonalban a DNS felcsavarodási aránya 56 : 1, azaz a kromatin fonal ilyen mértékben rövidebb a benne található Watson—Crick helixnél. A metafázis kromoszómákban a megrövidülés aránya még tovább nő 140 : 1 értékig (28).

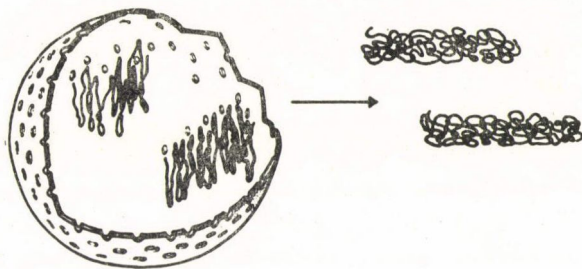
A kromatinszálak alapvető sajátága az interfázisban, hogy azok a maghártya belső oldalához több helyen letapadnak. A letapadási pontok a maghártya nyílásai körül vannak, ahová a kromatid-szálak jellegzetes csillagalakban futnak össze (2 ábra, 18). A letapadási pontok között a kromatinszálak hurkok formájában nyúlnak be a karioplazmába. Ennek megfelelően az interfázis kromoszómákat a 3. ábrán látható (18) alakban kell elképzeljük a sejt-mag belsejében. COMINGS és OKADA a kromatinszálak csillagalakú találkozási pontjait a metafázis-kromoszómákban is leírták, eszerint a kromoszómák ezen strukturális elrendeződése folyamatosan menne át a szülő-sejtekből az apród-sejtekbe.

#### *A metafázis-kromoszómák térbeli elhelyezkedésének szabályszerűségei*

A DNS lokalizációja az egyes kromoszómákban máig sem megoldott. Azt, hogy a metafázis-kromoszómák valamely, az interfázisban sokkal hosszabb nukleoproteid fonal további felcsavarodása és ezáltal sokszoros megrövidülése útján keletkeznek, a szerzők nem vitatják. Ezen belül azonban több, egymásnak eléggé ellentmondó kromoszóma-modell hipotézist ismerünk, melyeknek egymással szembeni kizárását a jelenlegi adatok még nem teszik lehetővé.



2. ábra. Kromatinszálak csillag alakban történtő összefutása a maghártya pórusa alatt (utóbbi eltávolítva). Fürj hereszövet, COMINGS és OKADA után (18)



3. ábra. Interfázis kromoszóma viszonya a maghártyához vázlatosan (18)

DUPRAW feltételezi (26), hogy egy-egy anafázis kromoszómában egyetlen DNS molekula fut végig, ennek felcsavarodásából ered az egységkromatid szál, ill. a magasabbrendű csavarulatok, melyekből végül a fénymikroszkópos nagyságrendű kromoszómák összetevődnek. DUPRAW a kromoszómák közötti DNS tartalmú összekötő fonalak jelenléte alapján még azt is feltételezi, hogy egy-egy teljes haploid kromoszóma-szortimentum egyetlen DNS molekulából áll, mely a baktériumok analógiájára zárt gyűrűt alkothat. Ez az elképzelés főleg az S fázisban mérhető nagyszámú replikációs pont jelentkezésével látszik nehezen összeegyeztethetőnek (sejtmagonként néhány 1000).

HILGARTNER (46) szerint a kromatid-szálak több, fonalas (nem gyűrűs) DNS molekulából állnak, melyeket fehérje „linkerek” kapcsolnának vég-a-véghez egymáshoz.

STUBBLEFIELD és munkatársai (73) ezzel szemben úgy találták, hogy az anafázis kromoszómák tengelyében két-két szalagszerű tengelyelem fut végig. Ezek DNS-t nem is tartalmaznak, a kromatid-szálak hurkok alakjában erednek, ill. tapadnak ezen szalagok felszínén.

Ezen a téren tehát további kiterjedt kutatások kell, hogy eldöntsék, hogy a megfigyelések különbségei mennyiben vezethetők vissza módszertani, esetleg faji eltérésekre.

HOSKINS és DUPRAW (47, 29) vizsgálatai egyértelműen mutatják, hogy a mitózis folyamán kialakuló metafázis kromoszómák egymáshoz viszonyított térbeli helyzete determinált. A kromoszómák korántsem szabadon helyezkednek el a citoplazmában a maghártya feldarabolódása után, hanem finom — DNS tartalmú — szálakkal össze vannak egymással kötve (4. ábra). HOSKINSnak (47) sikerült mikromanipulációs technikával élő metafázis sejtekből a kromoszómákat gyöngyfüzösszerűen összekapcsolt láncként izolálni. A monaster stádium kialakulása után is kimutatható, hogy a kromoszómák meghatározott sorrendben foglalnak helyet a metafázis-lemezben.

A maghártyák újra kialakulása folyamán ugyanakkor a kromatinfonalak letapadása az új sejtmag hártájához nem másodlagos, hanem pont fordítva, a kromoszómák determinálják az új maghártya kialakulását (41). Az anafázis kromoszómák felszínéhez tapadva a sima endoplazmatikus retikulumnak megfelelő kis hólyagok találhatók. A korai telofázisban ezek összefolynak, és ekkor a kromoszómákat külön-külön maghártya boríték veszi körül, amelyen már a maghártya-pórusok is láthatók. A kromoszómáknak ezek a borítékai nyilvánvalóan bocsátanak egymás felé és később folynak össze egységes maghártyává.

Ezek a megfigyelések azt mutatják, hogy a sejtmagban mind az egyes kromoszómák helye, mind egymáshoz viszonyított térbeli viszonya meghatározott. Ez a determináltság a sejtek osztódása folyamán is fennmarad és az utódsejteknek nyilvánvalóan továbbadódik. A rendezettség világosabbá teszi azokat a bonyolult funkcionális és morfológiai jelenségeket, melyek az eukaryoták sejtmagjában megfigyelhetők. A kromatinszálak membránhoz kötött volta magyarázza például a homológ kromoszómák találkozását a meiosis folyamán (5).

### **A kromatinstruktúra változásai mint a génaktivitás szabályozásának alapelemei**

A gén „aktív” állapotán molekuláris szinten azt értjük, hogy egy adott cisztron az RNS polimeráze számára, mint templát hozzáférhető. A legkülön-



4. ábra. Metafázis kromoszómák közötti szálal összeköttetések. Humán anyag, DUPRAW után (28)

bőzőbb fajokból izolált kromatin preparátumok templát-aktivitása a tisztított homológ DNS aktivitásának csak 10—15%-a (9). Honnan származik a templát-aktivitás ezen nagyfokú gátlása a kromatinban?

#### *Hisztonok szerepe a génműködés szabályozásában*

Ha a hisztonokat tisztított DNS-t és RNS polimerázét tartalmazó rendszerhez adják, akkor azok az RNS szintézist nagymértékben gátolják (71). A DNS-ből és hisztonokból mesterségesen reasszociált DNH templát-aktivitása még alacsonyabb, mint a kromatiné (60, 37). Ezekben a mesterséges DNH-kban a hisztonok mennyisége nem magasabb, mint a kromatinban és azok további adagolásával a gátlás már nem fokozható. Ennek alapján a magasabbrendűek génregulációs sémáját úgy kell elképzeljük, hogy abban a cisztronok alap-

állapota a hisztonok által inaktivált forma, és a szabályozott RNS szintézis a hiszton-gátlás különböző derepresszióin keresztül valósul meg. A hisztonok viszonylatában ismerünk három olyan folyamatot, amelyek azok RNS szintézist gátló hatását csökkentik, ill. felfüggesztik. Ezek a hisztonok foszforilálódása, acetilálódása és metilálódása.

### *Foszforiláció*

A foszforiláció a hisztonok enzimatis hatásra bekövetkező modifikációját jelenti. Hisztonfrakcióként specifikus kinázék ATP felhasználásával észterifikálni tudják a hisztonok polipeptid láncában található egyes szerin vagy treonin csoportokat. A foszforiláció helye specifikus (48). Az  $F_1$  hiszton a foszforiláció szempontjából is kiemelt jelentőségű, és másképpen viselkedik, mint a többi hisztonok. CROSS és ORD (21) limfocita kultúrák fitohemagglutinin és dibutilil ciklikus AMP transzformációja folyamán kimutatták, hogy az  $F_1$  hiszton foszforilációja a transzformáló ágensek beadása után hamarabb következik be és hamarabb be is fejeződik, mint a többi hisztonoké. A máj-regeneráció korai fázisában (43) a hisztonok kifejezett foszforilációja figyelhető meg, érdekes módon egy hiszton-féleség, az  $F_3$  kivételével. Ez utóbbi foszforilációjának intenzitása a műtét utáni 36 órán keresztül teljesen változatlanak adódott. A foszforiláció fokozódása kb. 4 órával megelőzi a DNS replikáció megindulását.

A foszforilált hisztonoknak a DNS-hez való kötődési készsége csökken (74). Így a foszforiláció mind a már kiemelve említett  $F_1$ , mind a többi hisztonoknak az RNS szintézist gátló hatását csökkentheti, módosíthatja. A hisztonok foszforilációjának mint a génműködést befolyásoló folyamatnak különös jelentőséget ad az a tény, hogy a hisztonok foszforilációját katalizáló kinázékról is kimutatták, hogy azok ciklikus AMP dependensek (65). A hisztonok foszforilációja tehát az egyik támadáspontja a ciklikus AMP-nek a magasabbrendűek génregulációs folyamatainak viszonylatában.

A foszforiláció eredményeként a hisztonok polipeptid láncába erősen poláros, negatív töltésű csoportok kerülnek. Ezek a hiszton molekuláknak a DNS iránti affinitását csökkentik.

### *Acetiláció*

Az acetiláció folyamata több tekintetben analóg a foszforilációéval. Itt is a már megszintetizálódott hiszton molekulák polipeptid láncába utólag szubsztituálódnak kisebb gyökök, amelyek a molekula egészének fizikokémiai viselkedését megváltoztatják. A folyamat itt is specifikus enzimek hatására megy végbe. Bár az acetyl csoport önmaga sokkal kevésbé poláros, mint a foszfátcsoporthoz, a hiszton molekula viselkedésének megváltoztatásában

itt az látszik döntő tényezőnek, hogy az acetyl csoport a polipeptid lánc lizin oldalláncaira szubsztituálódik, amelyek a láncnak egyébként a bázikus karaktert kölcsönzik. Az is valószínűleg jelentőséggel bír, hogy pl. az  $F_{2a_1}$  hiszton esetén a szubsztitúció a molekulának a már előbb említett N-terminális, kinyújtott, bázikus felében következik be (2, 24). Borjú csecsemőmirigy kromatinban az  $F_{2a_1}$  hiszton polipeptid láncának 16. helyén levő lizin, míg borsóban a 16. lizinen kívül a 8. lizin is acetylálódik. A másik hisztonfrakció, amelynek *in vivo* kiterjedt acetylációja figyelhető meg, a másik arginin gazdag hiszton-féleség, az  $F_3$ . A hisztonok acetylációja reverzibilis folyamat, a dezacetyláció ugyancsak enzimek hatására következik be. Az acetyláció jelentőségét is meggyőző kísérletek bizonyítják a génregulációs folyamatokban. Az acetylált hisztonok, ill. poli-L-lizin jelenlétében az illető DNS komplex hődenaturációja alacsonyabb hőmérsékleten következik be (25).

Kimutatták (2), hogy *in vitro* rendszerben az arginin-gazdag hisztonok az RNS szintézist nagymértékben gátolják és a gátlás mértéke fordítottan volt arányos a hiszton acetylációjának mértékével. A génreguláció tanulmányozására szolgáló ismert rendszerekben (fitohemagglutinin transzformáció, regenerálódó májzsövet) az arginin-gazdag hisztonféleségek acetylációja mindig megelőzi az RNS szintézis fokozódását (2). Azt is kimutatták, hogy az indukciós ágens (fitohemagglutinin) eltávolítása a rendszerből a hisztonok gyors dezacetylációját vonta maga után.

### Metiláció

Ismeretes két olyan enzim, amelyek a hisztonokba az apoláris metilcsoportot képesek szubsztituálni (62). A metiláze I enzim a metil csoportot az arginin bázikus guanidino csoportjaira, míg a metiláze II karboxil csoportokra képes csatolni. A metilációnak szintén jelentősége lehet a hisztonok reakciós készségének megváltoztatásában, amelynek részletei azonban még kevésbé ismertek.

A fenti adatok alapján valószínű, hogy a hisztonok a DNS felszínén folyó RNS szintézis regulációjának kulcsfontosságú láncszemei. A hisztonok által megvalósuló reguláció mechanizmusával kapcsolatban vissza kell pillantsunk a kromatin-struktúrában betöltött szerepükre. Az  $F_1$  hisztonnal a többiekétől eltérő jellegzetes viselkedése (a molekulák rövidebb élettartama, proteáze érzékenysége, könnyebb disszociálhatósága, foszforilációjának sajátosságai) valószínűsíti, hogy az  $F_1$  által az „A” típusú kromatinfonalakból kialakított kondenzált struktúrák felbomlása előfeltétele az illető DNS területek aktiválódásának. A többi hisztonok DNS-sel létrejött kötéseinek meglazulása (modifikáció, vagy nem-hiszton fehérjék hatásának eredményeként) teszi aztán lehetővé az RNS polimeráze felkötődését, ill. tovahaladását.

Hogy miképpen következik be a kromatinban egy-egy struktúrgén specifikus aktiválódása, arra vonatkozóan a hisztonok viselkedése alapján nem kapunk kielégítő választ. Az első probléma a hiszton-féleségek kis száma, valamint az a tény, hogy ezek a hiszton-féleségek nem mutatnak fajspecifitást. A magasabbrendűek vonatkozásában az egymástól legtávolabb eső fajok (pl. emlősök és magasabbrendű növények) hiszton-frakcióit azonosnak, vagy közel azonosnak találjuk (9). Nemesak azok molsúlya és aminosav összetétele, hanem még aminosav szekvenciájuk is nagymértékben egyezik. Nem tudunk érdemleges különbséget kimutatni ugyanazon faj különböző szövetei között, valamint a genetikailag aktív és inaktív kromatin szakaszok hisztonösszetételében sem. Nem sikerült kimutatni, hogy a hisztonok DNS-hez való kötődésükben affinitást mutatnának valamilyen szekvencia-féleséghez. Hatásuk esetleg olyan alapon képzelhető el, hogy a hisztonok a nukleinsavbázisok példájára valamilyen kódszótár betűit alkotnák. A hisztonok valószínűleg a regulációnak egy elsődleges, alapszintjét képviselik. A hisztonok változásaival potenciálisan aktiválódó DNS szakaszok valószínűleg „nyersanyagot” képviselnek a finomabb génregulációs mechanizmusok számára.

#### *Nem-hisztonszerű fehérjék szerepe a génműködés szabályozásában*

A nem-hisztonszerű fehérjék frakciójának a lókuszs-specifikus génreguláció megvalósulásában valószínűleg sokkal fontosabb szerepe van, mint a hisztonoknak. Erre vonatkozólag számos adattal, ill. bizonyítékkal rendelkezünk.

a) A nem-hisztonszerű fehérjének van olyan frakciója, amely képes a kromatin templát-aktivitását fokozni, míg ugyanazon kromatin tisztított DNS-ére nincs hatással. Ki lehet mutatni, hogy ezen nem-hisztonszerű fehérje frakció hatására olyan RNS frakció szintézise indul meg, amely *in vitro* fehérjeszintetizáló rendszerben polipeptid szintézis kódjaként szolgálhat (51).

b) A nem-hisztonszerű fehérjék megszabják valamely szövetféleség által termelt RNS populáció minőségét. A nem-hisztonszerű fehérjéknek az RNS szintézis specifikitására gyakorolt hatását elsősorban GILMOUR és PAUL, valamint SPELSBERG és HNILICA (38, 72) munkáiból ismerjük. Kísérleteik módszere a következő: kromatin preparátumokat állítanak elő ugyanazon faj különböző szövetféleségeiből. Utána ezeket a kromatin preparátumokat disszociálják, és izolálják belőlük a nem-hisztonszerű fehérjék frakcióját. Utána az egyik szövetféleségből származó nem-hisztonszerű fehérje frakciót hozzáadják a másik szövetből származó frakcióhoz, és ez utóbbi rendszert megfelelő körülmények között reasszociálva olyan hibrid kromatin-preparátumot állítanak elő, melynek DNS-e és hisztonjai az egyik, míg a nem-hisztonszerű fehérjéi a



másik szövetből származnak. Utána *in vitro* RNS-t szintetizálnak mind az eredeti (kontroll), mind a hibrid kromatin preparátumok felszínén. DNS-RNS hibridizációs-kompetíciós kísérletben összehasonlítják a keletkezett RNS-ek minőségét. Jóllehet, magasabbrendűekben a DNS-RNS hibridizációs technika gyakorlatilag csak az illető RNS preparátumban jelenlevő ismétlődő szekvenciák minőségére vonatkozóan ad felvilágosítást, a génreguláció fentebb ismertetett mechanizmusa alapján az RNS preparátumról kapott ilyen irányú információ is nagyon értékes. A kísérletekből a következő eredmények adódtak:

1. Ha a nem-hisztonszerű fehérjék frakcióját ugyanazon szövet nukleohisztónjával reasszociálják, akkor a kromatin anyag natív struktúrája valószínűleg helyreáll, legalábbis a rajta, mint templáton szintetizált RNS összetétele azonos lesz a natív kromatin-preparátumon szintetizált RNS-sel.

2. A különböző kromatin-preparátumok felszínén szintetizált RNS frakció összetétele szövetről szövetre eltérő, tehát az izolált kromatin anyag felszínén szintetizálódott RNS szövet-specifitást mutat.

3. A rekonstituált kromatin preparátumokon szintetizált RNS összetétele mindig arra a szövetre volt jellemző, amelyikből a kromatin preparátum nem-hisztonszerű fehérjéi származtak.

A nem-hisztón fehérjék családjába tartozó savanyú foszfoproteidek fontos szerepére a génregulációban szintén több adat utal:

a) A limfocita tenyészetek fitohemagglutinin indukciója alkalmával ezen proteinek foszforilációja is megelőzi időben az RNS szintézis fokozódását (2).

b) Ezek a foszfoproteidek is képesek kötődni fajazonos DNS-ükhöz, míg heterogén DNS-hez nem (78).

c) A savanyú foszfoproteidek hisztionokkal komplexet képeznek, és a hisztionok a foszfoproteidek jelenlétében csökkent gátló hatást fejtenek ki *in vitro* RNS szintetizáló rendszerben a szabad hisztionokkal összehasonlítva.

Ezeknek az adatoknak az alapján valószínűsíthető a nem-hisztonszerű fehérjéknek a kromatinon folyó RNS szintézis lókuszs-specifitásának meghatározásában játszott kulcsfontosságú szerepe. A problémát az jelenti, hogy semmiféle molekuláris modellel nem rendelkezünk a nem-hisztonszerű fehérjék elhelyezkedésére vonatkozóan. Nem tudjuk, hogy a nem-hisztonszerű fehérjék molekulái hogyan kapcsolódnak a kromatinban a DNS-hez, hisztionokhoz és esetleg a többi nem-hisztonszerű fehérjéhez. Ennek megfelelően azt sem tudjuk pontosan, hogy miképpen tudják a kromatinban az RNS szintézist indukálni. Csak valószínűsíteni lehet, hogy a DNS-hez erősen kötődő nem-hisztón fehérjék hatásukat közvetlenül a DNS felszínén fejtik ki, míg a kromatinhoz lazábban kötött fehérjék kompetitíve gátolják a DNS-nek a hisztionokkal való összekapcsolódását (2).

### Citoplazmatikus faktorok szerepe a génregulációban

A DNS felszínén folyó génregulációs folyamatok végső megértésénél döntő jelentőségű a sejtmagon kívüli tényezők szerepének a figyelembevétele. Az ugyanis elméleti megfontolások alapján is világos, hogy a gének aktiválódását létrehozó behatások az esetek döntő többségében nem a sejtmagon belülről, hanem a citoplazmából, ill. ennek közvetítésével a külvilágból származnak. Jellegetes példaként szolgálhatnak itt az ösztrogén hormonok, amelyek, mint a sejtbe kívülről bekerült indukáló ágensek egy, a citoplazmában található specifikus receptor fehérjéhez kötődnek, majd ez az ösztrogén-fehérje komplex jut be a sejtmagba és fejt ki hatását a kromatinra (39). Helytelen ezért úgy próbálkozni a magasabbrendűek génregulációs folyamatainak megértésével, hogy csak azokat a komponenseket vesszük figyelembe, amelyeket mint a sejtmag, ill. a kromatin állandó szerkezeti alkotórészeit ismerünk.

A citoplazma alapvető jelentőségére utalnak a génregulációban GURDON kísérletei (42). Ő magátültetést hajtott végre az egyedfejlődés különböző stádiumait képviselő kétélűtűkből származó sejtek között. Technikáját olyan mértékben fejlesztette, amellyel lehetővé vált teljesen kifejlődött egyed bélhámsejtjéből származó magnak egy pete citoplazmájába történő átültetése után a hibrid sejtből a normális, ivarérett új egyed felnevezése. A citoplazmának a génregulációban betöltött szerepével kapcsolatban a következő eredményei alapvetőek:

a) A magátültetések eredményeként kapott hibrid sejtek differenciálódási történéseit mindig a citoplazma determinálja. Ha a hibridsejt magja a fejlődés későbbi stádiumából származik mint a citoplazma, akkor a mag dedifferenciálódása figyelhető meg a citoplazmáéénak megfelelő stádiumba. A dedifferenciálódás befejeződése után az egyedfejlődés további menete zavartalan, végbemegy az egyed teljes kifejlődése. Ha az egyedfejlődés egy későbbi szakaszából izolált egy sejtet és ennek citoplazmájába egy korábbi stádiumból származó magot ültetett, akkor a mag sohasem volt képes a citoplazmát „megfiatalítani”, hanem a mag „öregedése” volt megfigyelhető a citoplazmának megfelelő stádiumba. Ilyen hibrid-sejtekből kifejlett egyedek sohasem alakultak ki. Az egyedfejlődés szempontjából alapvető időbeli történéseket tehát sohasem a mag, hanem a citoplazma determinálja. A kifejlődő egyed sajátosságait természetesen a mag határozza meg. Ha a sejtmag egy mutáns fenotípusú egyedből származott, akkor a hibrid-sejtből kifejlődött új egyed is mutáns fenotípusú lett.

b) Izotópjelzett sejtek citoplazmáját, ill. magját egyesítve megállapítható volt, hogy a citoplazmából mindig nagy tömegben végbemegy a fehérjéknek sejtmagba történő bevándorlása. A bejutó fehérjeféleségek száma olyan nagy, hogy ez a jelenség részletesebb analizését nehezen megközelíthetővé teszi.

Úgy tűnik, hogy a protoplazma fehérjék nagyobb része képes a sejtmagba bejutni, inkább az tekinthető különlegességnek, ha valamely fehérje nem tud bemenni a sejtmagba. A sejtmag fehérjei ugyanakkor nem áramlanak ki a citoplazmába, a folyamat egyoldalú.

Ezek az eredmények világosan mutatják, hogy a magasabbrendűekben a gének induktorai citoplazmatikus eredetűek, a kérdés csupán az, hogy ezek az ágensek közvetlenül rendelkeznek-e szekvenciafelismerő képességgel, vagy valamely magfehérje mediálja az indukciós szignált a DNS receptor szekvenciáihoz.

### Az RNS szintézise és lebomlása a sejtmagban

Az eukaryotákban az RNS szintézis általános jellegzetességeit illetően is találunk vonásokat, melyek minőségi különbséget jelentenek az alacsonyabbrendűekkel szemben. Az rRNS szintézise és a riboszómák morfogenezise külön sejtalkatrészben, a magvaeskában megy végbe, elválasztva az egyéb kromoszómaterületeken folyó RNS szintézistől. Ez utóbbi folyamat terméke a dRNS (DNA-like) vagy HnRNS (*heterogen nuclear*). Mindkét folyamat jellemző vonása, hogy az átíródás elsődleges termékei olyan óriás RNS molekulák, melyeknek a végleges termék, az rRNS és mRNS csak egy része. A primer RNS nagyobb hányada lebomlik a sejtmagon belül. Az RNS termelés tehát állandó fölösleggel folyik, a termék egy része sem a riboszómák, sem a fehérjék képzéséhez nem használdik fel (44).

### RNS polimeráze

Az eucelluláris RNS polimeráze enzim előállítása meglehetősen nehéz, ezért ennek finomabb szerkezetéről és a regulációban betöltött szerepéről ma még keveset tudunk. Annyi kétségtelen, hogy az eucellulákban többféle polimeráze enzim van jelen, melyek közül az egyik a magvaeskában a riboszómális RNS génjeinek leolvasását végzi, míg a másik polimeráze az interfázis-kromoszómák felszínén működik (17). Van az emlős polimerázénak olyan formája is, ami a citoplazmából izolálható (7) és amint a bakteriális transzkripció ismeretében várható volt, az emlős polimerázéknak is találtak olyan makromolekuláris járulékos faktorát, amely az átíródást végző enzim működését módosítja (50). Módszertani szempontból is szükséges hangsúlyozni az emlős sejtek és a baktériumok RNS polimerázéja közti különbséget. A KOZLOV által elvégzett direkt összehasonlítás emlős DNS templáton három fontos tényezőre is rávilágít (54):

1. Míg a coli polimeráze csak GTP-vel kezdődő láncokat tud iniciálni, addig a borjú csecsemőmirigy „B” típusú polimerázéja azonos gyakorisággal iniciál GTP-vel és ATP-vel kezdődő láncokat.

2. A repetitív szekvenciákon azonos sebességgel szintetizál a két enzim, a lassabban renaturálódó szekvenciákat azonban a coli enzim egyáltalán nem írja át, az emlős enzim viszont átírja.

3. Ha az emlős templátot a coli enzimmel előzetesen telítjük, az az emlős enzim felkötődését és szintetikus aktivitását nem csökkenti.

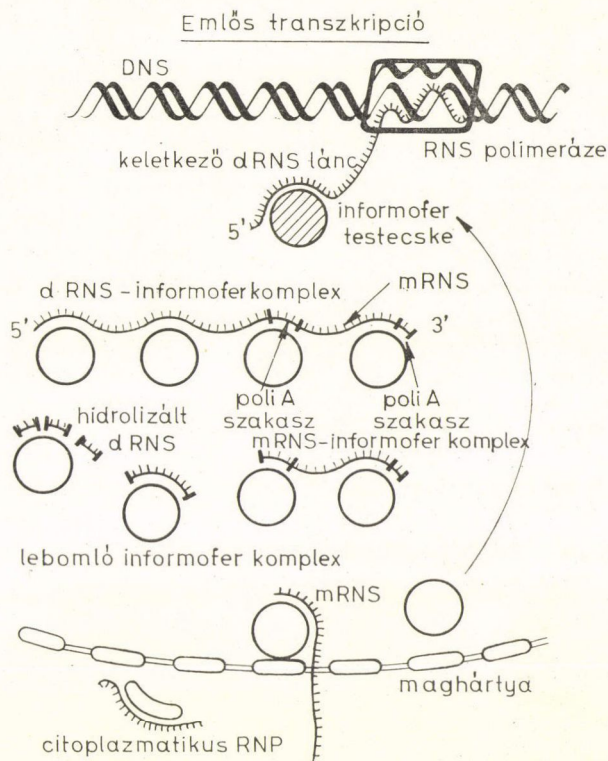
Ismeretes, hogy a múltban az eukaryotákból származó különböző templátok aktivitását gyakran mérték coli és más bakteriális polimerázék felhasználásával. A fentiek ismeretében, nevezetesen, hogy a két enzim más-más szekvenciákat más-más iniciációs pontból kiindulva olvas le, fenntartással kell fogadjunk sok korábban kapott eredményt, ill. azok interpretációját.

### *dRNS és hírvivő RNS (35)*

Az interfázis-kromoszómák felszínén folyó RNS szintézis eredménye egy igen hosszú, 2—10 millió Dalton molsúlyú, 45—60 S szedimentációs konstansú RNS lánc. GEORGIEV és munkatársainak munkáiból ismert, hogy a megszintetizálódott RNS-nek az 5' végén az eucellulákban is kimutatható az RNS szintézis iniciális pontját jelző trifoszfát csoport (66), melynek alapján meghatározható, hogy egy adott dRNS molekula 5' vége azonos-e a transzkripció folyamat kezdő pontjával, vagy az utólag valamely hidrolitikus folyamat eredményeként alakult ki (5. ábra).

Az információ átíródásának primer termékét jelentő dRNS a sejtmagon belül nagymértékű átalakuláson megy keresztül, amely különleges, ún. informofer testecskék felszínén zajlik le (67). Ezek a testecskék viszonylag kis molsúlyú (40000 Dalton) alegységekből felépülő, tekintélyes méretű (180—200 Å) szferoid képletek. Ezek hozzákötődnek a keletkező RNS lánchoz ennek teljes megszintetizálódása előtt. Egy RNS lánchoz nagyszámú informofer testecske kötődhetik a dRNS láncának hosszától függően. A folyamat végén egy poliszóma-szerű képlet alakul ki a sejtmagon belül. Az informofer testecskék felszínén a dRNS molekulák 5' vég felőli nagy része degradálódik és csak kisebb hányada (1/5—1/10-e) jelenik meg a protoplazmában, mint polipeptid szintézist irányítani képes hírvivő RNS. A citoplazmába kikerülő vezérlő RNS molekula az eredeti dRNS molekulának a 3' felőli végén található. Az mRNS a citoplazmába való kijutás közben az informofer testecskék felszínéről valószínűleg ledisszociál és a citoplazmában a poliszómákhoz, vagy más, az informofertől különböző fehérjéhez kapcsolódik. A szabaddá váló informofer testecskék valószínűleg újabb és újabb dRNS molekulák megkötésében, ill. feldolgozásában vesznek részt.

A dRNS szerkezeti sajátosságairól már elég részletes ismeretekkel rendelkezünk. A molekula 5' vége olyan DNS szakaszokról íródik át, amelyek a genom közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciáit képviselik. Egy molekulán belül az 5' véghez közelebb eső szakaszon találjuk a viszonylag nagyobb



5. ábra. A genetikai átíródás és a hírvivő RNS magon belüli érési folyamatának vázlata

gyakorisággal ismétlődő szekvenciákat, míg a 3' vég felé haladva mind kevesebb-kevesebb példányban előforduló szekvenciákat találunk. A 3' végen egy poliadenilát szakasszal kezdődik a hírvivő RNS.

DARNELL és munkacsoportja írták le (1), hogy a dRNS megszintetizálódása után néhány perccel a molekula 3' végéhez egy meglehetősen hosszú, 150—200 nukleotidnyi poliadenilát szekvencia épül hozzá. Ennek a poliadenilát régióknak a hírvivő RNS sejtmagon belüli biogenezésében szintén jelentős szerepe van. Ha a poli-A szakasz szintézisét cordicepinnel (3'-dezoxiadenozin) meggátolják, akkor nagymértékben csökken a citoplazmába kiáramló működőképes hírvivő RNS molekuláknak a száma. Ez nyilván összefüggésben van azon észlelettel, hogy a cordicepin jelenlétében részlegesen károsodott, a normálisnál rövidebb poli-A szakasszal rendelkező mRNS molekulák ribonukleáze érzékenysége fokozott.

#### Átíródási egységek az eukaryota DNS-ben

A fenti átíródási mechanizmus ismeretében GEORGIEV az mRNS szintézisének szabályozását a következőképpen magyarázza: a magasabbrendű DNS-eknek azon szakaszai, amelyekről a dRNS molekulák átíródnak, szabá-

lyozási egységet képviselnek. Ezekhez az átíródási egységekhez az RNS polimeráze a dRNS molekula 5' végének megfelelő pontokon tud hozzákötődni. A polimeráze felkötődési helye és a vezérlő RNS kezdete között helyetfoglaló közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciák különböző reguláló ágensek hatása alatt állnak. Ezek az ágensek az illető szabályozási egység mentén a polimeráze tovahaladását gátolhatják, vagy serkenthetik. A polimeráze csak akkor tudja leolvasni az mRNS-nek megfelelő szekvenciát, ha ezen az mRNS-től egyébként többszörösen hosszabb szakaszon már végighaladt. Ez az elmélet összhangban van több fontos kísérleti megfigyeléssel:

a) Míg az apród DNS *in vivo* valószínűleg sohasem kerül RNS-be történő átíródási (31), addig a közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciák (és a nem-ismétlődő szekvenciáknak legalább egy része) rendelkeznek templát funkcióval az RNS szintézisben.

b) Miután egy-egy adott, közepes gyakorisággal ismétlődő szekvencia nagy számban fordul elő ugyanezen sejtmag DNS állományában, ez lehetőséget ad arra, hogy ugyanazon reguláló ágens a genom sok különböző pontján egyidejűleg kifejthesse hatását. A közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciák mint fent láttuk, a kromoszómák mentén szétszórva találhatóak, tehát különböző lókusok szabályozási egységeiben vannak jelen, így lehetővé válik azok egyidejű szabályozása.

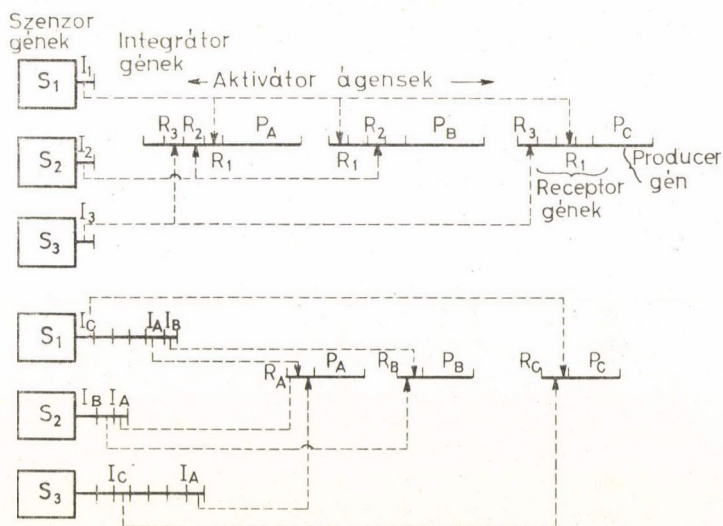
c) Az elmélet jól magyarázza, hogy a sejtmagban állandóan gyors ütemben és főlegesen szintetizálódik az RNS. Ennek nagy része gyorsan le is bomlik, és soha nem kerül ki a citoplazmába (44).

d) A dRNS frakció szövetspecifitást mutat. DNS-RNS molekuláris hibridizációs kísérletben ki lehet mutatni, hogy egy adott szövet dRNS félésegeinek egy része más szövetek dRNS frakciójából hiányzik (69).

### Az ismétlődő szekvenciák jelenléte alapján a magasabbrendűek génregulációs rendszerére kialakított elméleti elképzelések

A magasabbrendű élőlényekben lejátszódó génregulációs folyamatok mechanizmusára vonatkozóan BRITTEN és DAVIDSON (15) dolgozott ki egy olyan sémát (6. ábra), amely a génaktivitást befolyásoló sejttagon kívüli hatásokkal is számol. Elképzelésük szerint a citoplazma, ill. ennek közvetítésével a külvilágból jövő és a gén-aktivitást befolyásolni képes ágensek az ún. szenzor génekhez kapcsolódnak. A külső ágensnek a szenzor génhez való lekötődése aktiválja az ún. integrátor géneket, amelyek az illető szenzor génre specifikus produktumok termelődését irányítanak. BRITTEN és DAVIDSON is alapvető jelentőséget tulajdonít az ismétlődő szekvenciák jelenlétének a magasabbrendűekben. Ők azt feltételezik, hogy közvetlenül az integrátor génen termelődött RNS lenne az, amely komplementáris párját, vagyis az integrátor gén egy adott szakaszával azonos bázis-szekvenciát a kromoszómák

egy más helyén felismerni és ezen keresztül szabályozni képes. Ez az „aktívátor RNS” DNS-RNS hibridet alkotna a receptor gének között helyet foglaló megfelelő szekvenciával és így továbbítaná a genetikai ingert. A kromatin preparátumok alacsony DNS-RNS hibrid tartalma (76) valószínűtlenné teszi, hogy az integrátor és receptor gének között az RNS létesítene kapcsolatot, de ez BRITTEN és DAVIDSON sémájának érvényességét önmagában még nem rontja. Elképzelhető ugyanis, hogy az integrátor gének regulátor saját-



6. ábra. Génregulációs sémák BRITTEN és DAVIDSON (15) után

S: szenzor gének, I: integrátor gének, R: receptor gének, P: producer (struktúr) gének

sággal bír — feltehetően nem-hisztonszerű — fehérjék termelését irányítják, amelyek aztán az általános sémában feltüntetett módon vehetnek részt az átíródás folyamatának szabályozásában. Mint ahogy az az ábrából is látható, az integrátor gén irányítása alatt termelődő aktivátor ágensek a genomban számos különböző helyen előforduló receptor géneket képesek felismerni. A receptor gének végében találjuk az ún. producer géneket. Ezek tartalmazzák tulajdonképpen a polipeptid kódokat. Az alapelv, amely szerint — a sejtmag szempontjából — a külvilágból érkező szignálok bizonyos aktivátor hatású termékek termelését indítják el, amelyek azután többszörös, térbelileg egymáshoz nem kapcsolt géneken váltanak ki indukciót, részleteiben többféle séma szerint valósulhat meg. A 6. ábrán látható felső séma azt az esetet mutatja amikor egy szenzor génhez egy integrátor gén kapcsolódik, amely egyféle aktivátor ágens szintézisét irányítja. Ebben az esetben a hatékony regulációt az biztosíthatja, ha a producer génekhez a receptor géneknek hosszabb vonalmenti sora kapcsolódik. Egy másik lehetőség, amely az ábra alsó részében van

feltüntetve, abban áll, hogy egy szenzor génhez az integrátor gének egész sora kapcsolódik, így egy szenzor gén többféle aktivátor ágens termelődését indítaná meg. Ilyen elrendezés mellett elképzelhető, hogy a producer gének működése egyetlen receptor génen keresztül is regulálható. BRITTEN és DAVIDSON feltételezik azonban az előző két eshetőséget magában foglaló kombinált regulációs mechanizmus létezését is, amelyben az integrátor gének és a receptor gének egyaránt sokszorozottak.

Ha összevetjük a GEORGIEV elképzeléseit a BRITTEN és DAVIDSON által kidolgozott modellel, akkor láthatjuk, hogy azok egy alapvető vonásban megegyeznek. Nevezetesen, hogy a magasabbrendűekben a szabályozási egységeket a DNS-nek olyan szakaszai képviselik, amelyekben egy hosszabb, ismétlődő szekvenciákat tartalmazó DNS lánc végén találjuk a viszonylag rövidebb, polipeptid kódokat tartalmazó struktúrgént. Az RNS polimeráze az információ átírását a szabályozási egységnek az mRNS génjével ellentétes végén kezdi. Az átíródás szabályozása azáltal valósul meg, hogy a polimeráze felkötődési helye és a struktúrgének között elhelyezkedő ismétlődő szekvenciák képezik a különböző reguláló ágensek támadáspontját. BRITTEN és DAVIDSON sémája ezenkívül feltételezi a fenti szabályozási egységektől térbelileg különálló szenzor, ill. integrátor géneknek a létezését.

A magasabbrendűekben a gének regulációjának egy másfelé lehetőségére hívja fel a figyelmet TOMKINS és csoportjának munkássága (79). Észlelésük szerint emlős sejt kultúrákban az aminoszintézisének az aminotranszferáze enzim kortizol adagolásával indukálható. Az induktor és az enzimaktivitás emelkedése közötti periódusban adagolt aktinomicin-D fokozza az indukció mértékét és az enzimszint csökkenése elhúzódó. Korábban SUSSMAN és SUSSMANN (75) nyálkagombákban tett hasonló megfigyeléseiket úgy magyarázták, hogy az aktinomicin-D valamely, az indukált enzim lebontásához szükséges proteáze képződését akadályozná meg. TOMKINSék kísérleteikben kimutatták, hogy a jelenség nem a megtermelt enzimmolekulák hosszabb élettartamának, hanem fokozott termelésének az eredménye. Az aktinomicin tehát valamely, az átíródás és a fehérjeszintézis között végbemenő folyamatot befolyásol. Feltételezik egy olyan állandóan termelődő, labilis represszor jelenlétét, amely az mRNS-t közömbösíti. Az aktuális enzimszint az mRNS és a represszor egyensúlyától függ. A jelenség tehát egy olyan szabályozó mechanizmus létét valószínűsíti, amely nem a szokásos helyeken (az átíródás folyamata, a fehérjeszintézis, vagy az enzim-molekulák működése) hat, hanem az mRNS fent már leírt komplex érési folyamata során érvényesül.

#### Általános következtetések

A magasabbrendű élőlények sejtjeiben a prokaryotákhoz képest a DNS-t hatalmas fölöslegben találjuk. A különbség azonban a DNS-t illetően nemcsak mennyiségi. A magasabbrendűek DNS-ében bizonyos, pár száz nukleotida



hosszúságú szekvenciák több 10000, sőt néha egy millió példányban is előfordulnak. Ezeknek az ismétlődő szekvenciáknak legnagyobb része nem tartalmaz fehérje kódokat és jelentőségük valószínűleg az eukaryoták összetett génregulációs folyamataiban keresendő.

A fajoként, sőt kromoszómánként specifikus, RNS-be egyáltalán át nem íródó apród DNS szekvenciák valószínűleg a kromoszómák szerkezetének kialakulásában játszanak szerepet.

A közepes gyakorisággal ismétlődő szekvenciák, melyek a kromoszómák mentén szétszórva találhatóak és kiterjedten átíródnak RNS-be, ideális komponensei lehetnek valamely transzkripciót szabályozó rendszernek.

Az eukaryoták DNS-e mindig egy bonyolult, eléggé állandó kémiai összetételű, fonalas, negyedleges struktúrába, a kromatinba ágyazva található. A kromatinfonalak elrendeződése az egész sejtciklus folyamán nagyfokban determinált. Az interfázisban a maghártyához való letapadás biztosítja lokalizációjukat. Az osztódás kezdetekor fajoként szigorúan állandó szerkezetű képletekbe, a metafázis kromoszómákba rendeződnek, melyek megint csak szabott lokalizációs elv szerint kerülnek át az utódsejtek magjába. Ez az állandóan érvényesülő térbeli meghatározottság teszi érthetővé a sejtmag magasabb genetikai egységeinek vonatkozásában jelentkező folyamatok szabályozását (mint amilyen a replikáció, a genetikai anyag ekvális elosztása az utódsejtek között, valamint a magasabbrendűek rekombinációja a meiozisban).

Az egyes gének, vagy kisebb géncsoportok aktivitásának szabályozása a kromatin negyedleges struktúrájának komponensein keresztül valósul meg. A kromatinnak gyakorlatilag minden alkatrészéről kísérletesen bizonyítva van, hogy azok az RNS szintézist valamilyen formában befolyásolni képesek. A hisztonok az RNS szintézis erős represszorai. A hisztonok jelenléte alapján feltételezhető, hogy az átíróási egységek regulátor lókuszaik alapállapota a gátlás, és a regulátor lókusztokat specifikus módon szabályozó ágenseknek a gátlás feloldása a funkciója. Kísérletesen bizonyított, hogy a gátlás megszűnhet a hisztonok kémiai modifikációja (foszforiláció, acetiláció, metiláció) révén, vagy úgy, hogy a hisztonokhoz olyan komponens kapcsolódik, amely azok gátló hatását közömbösíti.

A nem-hiszton fehérjék egyes képviselői, elsősorban különböző foszforproteidek, mint láttuk, rendelkeznek ezzel a képességgel. A hisztongátlás valószínűleg két lépcsőben valósul meg. Az aktiválandó lókuszt tartalmazó kromatin-szakasz felszínéről először az  $F_1$  hisztonnak kell valamilyen mechanizmus szerint (foszforiláció, proteolízis) ledisszociálnia, majd a derepresszáló hatás a többi hisztonok kapcsolatát módosítja a DNS-sel. A hisztonok teljes ledisszociálódása a DNS felszínéről az RNS szintézis bekövetkeztéhez nem elengedhetetlen.

A kromatinban az RNS szintézis lókuszs-specifikus szabályozásában valószínűleg a nem-hisztonszerű fehérjéknek van alapvető jelentősége. Egrýrészt

ismeretes, hogy a nem-hisztonszerű fehérjék a nukleohisztionokat derepresszálni képesek, másrészt bizonyított, hogy a nem-hisztonszerű fehérjék megszabják valamely szövetre jellemző RNS populáció szintézisét a kromatin templáton. A nem-hisztonszerű fehérjék hatásának vizsgálata az RNS szintézis szabályozásában a génreguláció kutatása egyik perspektivikus területének látszik.

Az RNS szintézis lókuszs-specifikus indukciója összefüggéseiben csak akkor érthető meg, ha figyelembe vesszük, hogy az indukciós hatások a sejt élete folyamán mindig a külvilágból, ill. a citoplazmából indulnak ki, és fejtik ki hatásukat a DNS templát felszínén. A sejtanyagforgalomnak egyik sajátossága a citoplazmafehérjék állandó, nagymértékű beáramlása a sejtmagba. A jövő feladata annak felderítése, hogy az ezek által képviselt indukciós szignálok pontosan milyen molekuláris mechanizmus szerint vezetnek a sejtanyagcsere számára aktuálisan szükséges struktúrgének hírvivő RNS-be történő átíródásához.

Feltételezik az ún. szenzor gének létezését, amelyek a sejttagon kívülről jövő indukciós szignálok kontrollja alatt állnak. Indukciójuk esetén az ún. integrátorgének aktiválódnak, ezeknek produktumai szabályoznák a hírvivő RNS-t tartalmazó átíródási egységekben található regulátor lókuszeket. Hogy miképpen valósul meg egy-egy, a sejtanyagcsere szempontjából éppen szükséges struktúrgén indukciója, erre vonatkozóan csak hipotézisekkel rendelkezünk. Valószínűnek látszik, hogy a génaktivitást reguláló ágensek a DNS-ek azokon az ismétlődő szekvenciáin fejtik ki hatásukat, amelyeket a polimeráze felkötődési helye és a struktúrgének között találunk. Az RNS polimeráze a struktúrgéneket akkor tudja leolvasni, ha ezek a regulátor lókuszek (akceptor gének) derepresszált állapotba kerülnek. Az akceptor géneknek ezt a hírvivő RNS génjénél egyébként lényegesen hosszabb szakaszát a derepresszió bekövetkezése után a polimeráze szintén leolvassa, de az innen szintetizálódott RNS szekvenciák a sejttagon belül lebomlanak és sohasem jutnak ki a citoplazmába. Ezzel magyarázható az a jelenség, hogy az eukaryota sejtmagban állandóan, fölös mennyiségben szintetizálódik RNS.

A szabályozással foglalkozó eddigi elméletek hiányossága, hogy egy-egy szabályozási jelenség, vagy szerkezeti sajátosság alapján a gén szintjén történő szabályozásnak valamilyen általános sémáját igyekeznek kidolgozni. Ezzel szemben a különböző vizsgálati rendszerek analízise alapján az eukaryotákban a génreguláció több, egymástól különböző típusát ismerhetjük fel. Vannak pl. tartósan ható mechanizmusok, amelyek egyes szövetek génaktivitási mozaikját alakítják ki. Vannak gyorsabban lejárászó folyamatok, amilyenek az eukaryoták enzimindukciója. Ezek segítségével a mindenkori aktuális szükségletekhez alkalmazkodik a sejt, nagyrészt reverzibilis módon. Vannak viszont esetek, mikor a sejt valamely külső behatásra génaktivitási típusának nagyarányú és tartós átalakulásával válaszol. Ilyen reagálási típusnak tekinthetjük a nyugvó méhszövet átalakulását ösztrogén hormon

adagolása után, vagy a fehérjesejtek fitohemagglutinin transzformációját. Nyilvánvaló, hogy a felsorolt típusokban a gének aktivitását szabályozó folyamatok nem lehetnek egyformák. A szövetek specifikus anyagcsere-típusának kialakulásakor egyes lókuszek a sejt egész élettartamára záródnak le az RNS szintézis számára. Az enzimindukcióval kapcsolatos tapasztalatok alapján viszont az is elképzelhető, hogy egy érett szövetre jellemző összes mRNS termelődik, amire az egyáltalán képes, és a reguláció a kitermelt mRNS-ek között válogat és azok a szükségletnek megfelelően kerülnek ki a citoplazmába és kötődnek a poliszómákhoz.

Ezeknek a részleteknek a tisztázása még a jövő feladata.

## IRODALOM

1. ADESNIK, M., SALDITT, M., THOMAS, W. and DARNELL, J. E.: (J. Mol. Biol. **71**, 21–30 (1972).
2. ALLFREY, V. G.: Fed. Proc. **29**, 1447–1460 (1970).
3. ARTMAN, M. and ROTH, J. S.: J. Mol. Biol. **60**, 291–301 (1971).
4. BARTLEY, J. and CHALKLEY, R.: J. Biol. Chem. **245**, 4286–4292 (1970).
5. BECAK, M. L. and BECAK, W.: Experientia **28**, 1367–1369 (1972).
6. BEKHOR, I., KUNG, G. M. and BONNER, J.: J. Mol. Biol. **39**, 351–364 (1969).
7. BENECKE, B. J., JUHÁSZ, P. P. and SEIFART, H. H.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **353**, 691–693 (1972).
8. BIRNIE, G. D. Symposium on DNA Structure and Function, Liblice, Csehszlovákia (1973).
9. BONNER, J., DAHMUS, M. E., FAMBROUGH, D., HUANG, R. C., MARUSHIGE, K. and TUAN, D. Y. H.: Science **159**, 47–56 (1968).
10. BRADBURY, E. M., CARY, P. D., CRANE-ROBINSON, C. and RICHES, P. L. Nature **233**, 265–267 (1971).
11. BRADBURY, E. M., MOLGAARD, H. V., STEPHENS, R. M., BOLUND, L. A. and JOHNS, E. W.: Eur. J. Biochem. **31**, 474–482 (1972).
12. BRADBURY, E. M.: Symposium on DNA Structure and Function. Liblice, Csehszlovákia (1973).
13. BRITEN, R. J. and KOHNE, D. E.: Science **161**, 529–540 (1968).
14. BRITEN, R. J.: Yearbook of Carnegie Institution 1968 (1969).
15. BRITEN, R. J. and DAVIDSON, E. H.: Science **165**, 349–357 (1969).
16. CALLAN, H. G. and LLOYD, L.: Phil. Trans. Roy. Soc. B. **243**, 135–219 (1960).
17. CHESTERTON, C. J. and BUTTERWORTH, P. H. W.: FEBS Lett. **12**, 301–308 (1971).
18. COMINGS, D. E. and OKADA, T. A.: Exp. Cell Res. **62**, 293–302 (1970).
19. CORNEO, G., GINELLI, E. and POLLI, E.: J. Mol. Biol. **48**, 319–327 (1970).
20. CORNEO, G., GINELLI, E. and POLLI, E.: Biochim. Biophys. Acta **247**, 528–534 (1971).
21. CROSS, M. E. and ORD, M. G.: Biochem. J. **124**, 241–248 (1971).
22. DAUNE, M. and WILHELM, F. X.: Symposium on DNA Structure and Function. Liblice, Csehszlovákia (1973).
23. DECROMBRUGGE, B., CHEN, B., ANDERSON, W., NISSLEY, P., GOTTESMAN, H., PASTAN, I. and PERLMAN, R. L.: Nature New Biol. **231** 139–142 (1971).
24. DELANGE, R. J., FAMBROUGH, D. M., SMITH, E. L. and BONNER, J.: J. Biol. Chem. **244**, 5669–5679 (1969).
25. DIMEO, A. and SAVINO, M.: Biochim. Biophys. Acta **240**, 326–329 (1971).
26. DUPRAW, E. J.: DNA and Chromosomes. Hlot, Rinehart and Winston, Inc., New York, 162. old. (1970).
27. — uo. 180. old.
28. — uo. 183. old.
29. — uo. 186. old.
30. ERON, L., ARDITTI, R., ZUBAY, G., CONNAWAY, S. and BECKWITH, J. R.: Proc. Nat. Acad. Sci. US. **68**, 215–218 (1971).

31. FLAMM, W. G., WALKER, P. M. B. and MCCALLUM, M.: *J. Mol. Biol.* **40**, 423–443 (1969).
32. FRENSTER, J. H., ALLFREY, V. G. and MIRSKY, A. E.: *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* **50**, 1026–1032 (1963).
33. FRENSTER, J. H.: *The Cell Nucleus—Metabolism and Radiosensitivity (Symp)*, Taylor and Francis Ltd., London, 27. old. (1966).
34. ФРИСМАН, Э. В., СИБИЛЕВА, М. А., ВОРОБЬЕВ, В. И., ГОРШЕНИНА, Е. С., ТУРОВАРОВА, Л. В. и БОРХСЕНИУС, С. Н.: *Молекулярная биология* **5**, 707–714 (1970).
35. GEORGIEV, G. P.: *J. Theor. Biol.* **25**, 473–490 (1969).
36. GILBERT, W. and MÜLLER-HILL, B.: *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* **56**, 1891–1898 (1966).
37. GILMOUR, R. S. and PAUL, J.: *J. Mol. Biol.* **40**, 137–139 (1969).
38. — *FEBS Lett.* **9**, 242–244. (1970)
39. GORSKI, J., SHYAMALA, G. and TOFT, D.: *Curr. Top. Develop. Biol.* **4**, 149–167 (1969).
40. GULYAS, B. J.: *J. Cell. Biol.* **55**, 533–541 (1972).
41. GRIERSON, D., ROGERS, M. E., SORTIRANA, M. L. and LOENING, U. E.: *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **35**, 589–598 (1970).
42. GURDON, J. B. *Előadás, Oslo, Norvégia* (1972).
43. GUTIERREZ-CERNOSEK, R. M. and HNILICA, L. S.: *Biochim. Biophys. Acta* **247**, 348–354 (1971).
44. HARRIS, H.: *Progr. Nucl. Ac. Res.* **2**, 19–59 (1963).
45. v. HEYDEN, H. N. and ZACHAU, H. G.: *Biochim. Biophys. Acta* **232**, 651–660 (1971).
46. HILGARTNER, C. A.: *Exp. Cell Res.* **49**, 520–532 (1968).
47. HOSKINS, G. C.: *Nature* **217**, 748–750 (1968).
48. JERGIĆ, B., SUNG, M. and DIXON, G. H.: *J. Biol. Chem.* **245**, 5867–5870 (1970).
49. JONES, K. W. and CORNEO, C.: *Nature* **233**, 271 (1971).
50. JUHÁSZ P.: *Az emlős kód átírás sajátosságainak vizsgálata sejtmentes rendszerekben. Kandidátusi Értekezés, Pécs* (1973).
51. KAMIYAMA, M. and WANG, T. Y.: *Biochim. Biophys. Acta* **228**, 563–576 (1971).
52. KEDES, L. H., BIRNSTIEL, M. I.: *Nature New Biol.* **230**, 165–169 (1971).
53. KLEINSMITH, L. J., HEIDEMA, J. and CARROL, A.: *Nature* **226**, 1025–1026 (1970).
54. КОЗЛОВ, Ю. В.: *Symposium on DNA Structure and Function, Liblice, Csehszlovákia* (1973).
55. КРИВЦОВ Г. Г. и БОГДАНОВ А. А.: *Молекулярная биология* **4**, 422–427 (1970).
56. MARUSHIGE, K. and BONNER, J.: *J. Mol. Biol.* **15**, 160–174 (1966).
57. MATTOCCIA, E. and COMINGS, D. E.: *Nature New Biol.* **229**, 175–176 (1971).
58. OHLENBUSCH, H. H.: *Symposium on DNA Structure and Function, Liblice, Csehszlovákia* (1973).
59. PACUOLATOS, G. N. and DARNELL, J. E.: *J. Mol. Biol.* **54**, 517–535 (1970).
60. PAUL, J. and GILMOUR, R. S.: *J. Mol. Biol.* **34**, 305–316 (1968).
61. PAUL, J. and MORE, I. R.: *Nature New Biol.* **239**, 134–135 (1972).
62. PAIK, W. K. and KIM, S.: *J. Biol. Chem.* **243**, 6010–6015 (1970).
63. RICHRADS, B. M. and PARDON, J. F.: *Exp. Cell Res.* **62**, 184–196 (1970).
64. RICHTER, K. H. and SEKERIS, C. E.: *Arch. Biochem. Biophys.* **143**, 44–53. (1972).
65. ROBBELL, M.: *Előadás, Oslo, Norvégia* (1971).
66. RYSKOV, A. P. and GEORGIEV, G. P.: *FEBS Lett.* **8**, 186–188 (1970).
67. SAMARINA, O. P., MOLNÁR, J., LUKANIDIN, E. M., BRUSKOV, V. I., KRICHEVSKAYA, A. A. and GEORGIEV, G. P.: *J. Mol. Biol.* **27**, 187–191 (1967).
68. SAUNDERS, G. F., HSU, T. C., GETZ, M. J., SIMES, E. L. and ARRIGHI, F. E.: *Nature New Biol.* **236**, 244–246 (1972).
69. SMITH, K. D., CHURCH, R. B. and MCCARTHY, B. J.: *Biochemistry* **8**, 4271–4277 (1969).
70. SMITH, M.: *J. Mol. Biol.* **9**, 17–23 (1964).
71. SPELSBERG, T. C., TANKERSLEY, S. and HNILICA, L. S.: *Experientia* **25**, 129–130 (1969).
72. SPELSBERG, T. C. HNILICA, L. S. and ANSEVIN, A. T.: *Biochim. Biophys. Acta* **228**, 550–562 (1971).
73. STUBBLEFIELD, E. and WRAY, W.: *Chromosoma* **32**, 262–294 (1971).
74. SUNG, M. T. and DIXON, G. H.: *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* **67**, 1616–1623 (1970).
75. SUSSAMAN, M. and SUSSMAN, R. R.: *Biochim. Biophys. Acta* **108**, 463–473 (1965).
76. SZESZÁK, F. and PHIL, A.: *Biochim., Biophys. Acta* **247**, 363–367 (1971).
77. — *FEBS Lett.* **20**, 177–180 (1972).
78. TENG, C. T., TENG, C. S. and ALLFREY, V. G.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **41**, 690–696 (1970).
79. TOMKINS, G. M., GELEHRTER, T. D., GRANNER, D., MARTIN, D. JR., SAMUELS, H. H. and THOMPSON, E. B.: *Science* **166**, 1474–1480 (1969).

80. TRAVERS, A. A. and BURGESS, R. R.: *Nature* **222**, 537—540 (1969).
81. WALKER, P. M. B.: Symposium on DNA Structure and Function, Liblice, Csehszlovákia (1973).
82. WILHELM, J. A., SPELSBERG, T. C. and HNILICA, L. S.: *Sub-Cell. Biochem.* **1**, 39—65. (1971).
83. YASMINEH, W. G. and YUNIS, J. J.: *Exp. Cell Res.* **59**, 69—75 (1969).
84. — *Exp. Cell Res.* **64**, 41—48 (1971).
85. YEOMAN, L. C., OLSON, M. O. J., SUGANO, N. and BUSCH, H.: *J. Biol. Chem.* **247**, 6018—6023 (1972).
86. YUNIS, J. J., ROLDAN, L., YASMINEH, W. G. and LEE, J. C.: *Nature*, **231**, 532—533 (1971).
87. ZUBAY, G., MORSE, D. E., SCHRENK, W. J. and MILLER, J. H. M.: *Proc. Nat. Acad. Sci. US.* **69**, 1100—1103 (1972).