इंदिरा गांधी राष्ट्रीय मुक्त विश्वविद्यालय
विज्ञान विद्यापीठ

बीबीसीसीटी-119
हार्मोनः जैव रसायन और कार्य

खंड

4

हार्मोन क्रिया का तंत्र

इकाई 10
हार्मोन मध्यस्थ संकेतन - I 213

इकाई 11
हार्मोन मध्यस्थ संकेतन - II 232

इकाई 12
हार्मोन आमापन के तरीके 257

ignou THE PEOPLE'S UNIVERSITY

खंड 4: हार्मोन क्रिया का तंत्र

खंड 4 में तीन इकाइयाँ हैं (10–12)

इकाई 10 चर्चा करती है कि अंतःस्रावी तंत्र किस प्रकार अनेक कोशिकाओं और अंगों के बीच संचार को संभव बनाता है। हार्मोन ग्राहियों, वाहक अणुओं, और दूसरे संदेशवाहक और प्रभावकारी प्रोटीन के माध्यम से संकेत देने वाले संकेतन मार्गों की समन्वित गतिविधियाँ हार्मोन के प्रभाव में कैसे परिवर्तित होती हैं, इसका वर्णन किया जाएगा

इकाई 11 विशिष्ट अमीनो अम्लों के प्रोटीन किनेसेस मध्यस्थता वाले फास्फारिलीकरण द्वारा प्रोटीन की जैविक गतिविधि के नियमन के बारे में बताता है। कई पॉलीपेप्टाइड वृद्धि कारकों, साइटोकाइन, और हार्मोन और उनके संबंधित सिग्नलिंग मार्ग के लिए अन्य उच्च–बंधुता वाले कोशिका सतह ग्राहियों पर भी चर्चा की जाएगी।

इकाई 12 सामान्य और रोगग्रस्त परिस्थितियों में उपापचय और शारीरिक गतिविधियों के विश्लेषण में हार्मोन आमापन के महत्व की व्याख्या करती है। ये आमापन कैसे होते हैं, यह भी बताया जाएगा।

अपेक्षित सीखने के परिणाम :

इस खंड का अध्ययन करने के बाद, आप सक्षम होंगे:

- कोशिका सतह रिसेप्टर्स के लिए हार्मोन के बंधन की व्याख्या करें;
- प्रोटीन किनेसेस मध्यस्थ संकेतन पथों की व्याख्या कर सकेंगे;
- हार्मोन संकेतन पथों का वर्णन कर सकेंगे;
- विविध हार्मोन–विनियमित शारीरिक प्रक्रियाओं में उत्तेजना, हार्मोन मोचन, संकेत उत्पादन, और प्रभावकारी प्रतिक्रिया की भूमिकाओं को समझें;
- हार्मोन परख की व्याख्या करें; और
- हॉर्मोन विश्लेषण के लिए प्रयुक्त विभिन्न तकनीकों के बारे में लिखिए।

इकाई 10

हार्मोन मध्यस्थ संकेतन–I

इकाई की रूपरेखा

10.1 प्रस्तावना

अपेक्षित अध्ययन परिणाम

10.2 हार्मोन ग्राही

बह्मकोशिकी ग्राही

अंतः कोशिकी ग्राही

10.3 ग्राही–हार्मोन आबंधन और स्कैचर्ड विश्लेषण

10.4 जी–प्रोटीन युग्मित ग्राही

जी–प्रोटीन

द्वितीय संदेशवाहक (दूत)

कार्यकर तंत्र प्रणाली

10.5 सारांश

10.6 पाठांत प्रश्न

10.7 उत्तर

10.1 प्रस्तावना

पिछले तीन खंडों में आपने अंतःस्त्रावी तंत्र के मूलभूत तत्त्वों और मुख्य हार्मोनों की संरचना, कार्यों और कार्य प्रणाली के बारे में जाना। आपने समझा कि अंतःस्त्रावी तंत्र एक जटिल संकेतन (सिग्रलिंग) नेटवर्क को शामिल करता है जो विकास, प्रजनन और समस्थापन में शामिल आवश्यक कार्यों को नियंत्रित करता है। इस प्रणाली की एक विशिष्ट विशेषता यह है कि हार्मोन आमतौर पर परिसचरण तंत्र प्रणाली के माध्यम से लक्ष्य स्थलों तक पहुंचने और कार्य करने के लिए भ्रमण करते हैं। लक्ष्य स्थल स्त्रावी कोशिका/ग्रंथि से भौतिक रूप से अलग होते हैं। इसके अलावा, अंतःस्त्रावी तंत्र कई कोशिकाओं के बीच संचार की अनुमति देता है और इसमें हार्मोन, हार्मोन ग्राही (ग्राहियों), वाहक अणुओं और संकेतन मार्ग का एक जटिल नेटवर्क शामिल होता है। इस इकाई में आप अध्ययन करेंगे कि कैसे अंतःस्त्रावी तंत्र कई कोशिकाओं और अंगों के बीच संचार की अनुमति देता है।

किस तरह हार्मोन ग्राहियों, वाहक अणुओं और संकेतन मार्गों के जटिल नेटवर्क को हार्मोन को लक्षित ऊतकों तक पहुंचने की अनुमति देने के लिए व्यवस्थित किया जाता है? इन में से कई विषयों पर पिछली इकाईयों में पहले भी चर्चा की गई है। इकाई 10 में हार्मोन संकेतन मार्गों और उनके एकीकरण की और अधिक व्याख्या की जाएगी।

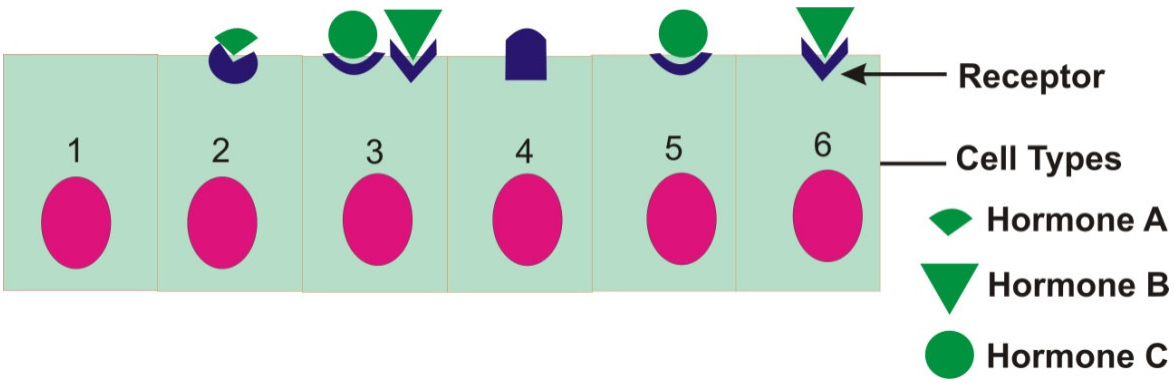
अपेक्षित अध्ययन परिणाम

इस इकाई का अध्ययन करने के बाद, आप इस योग्य हो जाएंगे कि :

- ❖ हार्मोन ग्राही (ग्राही) को परिभाषित करें;
- ❖ बाह्यकोशिकीय और अंतःकोशिकीय हार्मोन ग्राहियों के बीच अंतर स्पष्ट करें;
- ❖ हार्मोन–ग्राही बंधन को परिभाषित करें;
- ❖ कोशिका सतह पर ग्राहियों से हार्मोन की बंधुता की व्याख्या करें;
- ❖ हार्मोन संकेतन (सिग्रलिंग) को परिभाषित करें;
- ❖ हार्मोन संकेतन पथों की व्याख्या करें; और
- ❖ विभिन्न प्रकार के हार्मोन–विनियमित शारीरिक प्रक्रियाओं में उद्दीपक, हार्मोन मोचन, संकेत प्रक्रम और प्रभावकारी प्रतिक्रिया की भूमिका की व्याख्या करें।

10.2 हार्मोन ग्राही

हम जानते हैं कि सभी हार्मोन रक्त में अपनी कोशिकाओं/मूल ग्रंथियों से अपने लक्षित स्थलों तक परिचालित होते हैं, और इस प्रकार अनिवार्य रूप से, सभी कोशिकाओं को सभी हार्मोनों के संपर्क में होना चाहिए। हालांकि, एक दिया गया हार्मोन आमतौर पर केवल सीमित संख्या में कोशिकाओं को प्रभावित करता है जिन्हें लक्ष्य कोशिकाएं कहा जाता है। फिर भी सामान्य परिस्थितियों में, लक्ष्य कोशिकाएं केवल अपने विशिष्ट हार्मोन के प्रति प्रतिक्रिया करती हैं। हार्मोन क्रिया की ऐसी विशिष्टता मुख्य रूप से लक्ष्य कोशिकाओं में उपस्थित ग्राही (receptors; रिसेप्टर्स) की केवल उन हार्मोन के संकेतों को पहचानने की क्षमता के कारण है (चित्र 10.1)। दूसरे शब्दों में, एक विशिष्ट कोशिका के हार्मोन के लिए एक लक्ष्य कोशिका होती है; यदि उसके पास उस हार्मोन के लिए कार्यात्मक ग्राही है, और जिन कोशिकाओं में ऐसा ग्राही नहीं होता है, वे प्रत्यक्ष रूप से उस हार्मोन से प्रभावित नहीं हो सकते हैं। अतः हार्मोन ग्राहियों को अन्य कोशिकाओं और बाहरी वातावरण से विशिष्ट जानकारी प्राप्त करने के लिए सभी कोशिकाओं द्वारा उपयोग किए जाने वाले अनेक अणुओं के सबसेट के रूप में परिभाषित किया जा सकता है।



चित्र 10.1 : हार्मोन ग्राहियों की विशिष्टता और चयनात्मकता ।

यद्यपि सभी कोशिकाएं हार्मोन का सामना करती हैं, केवल वे कोशिकाएं जिनमें हार्मोन ग्राही होते हैं, वे हार्मोन को प्रतिक्रिया दे सकती हैं। यह मूल आरेखण दर्शाता है कि एक कोशिका में हार्मोन के लिए कोई भी ग्राही (कोशिका प्रकार 1) न हो या एक हार्मोन के लिए एक ग्राही (कोशिका प्रकार 2, 5, 6) या एक से अधिक हार्मोन के लिए तदनुसार ग्राही हो सकते हैं, (कोशिका प्रकार 3), या कि एक ग्राही हो सकता है लेकिन आसपास के क्षेत्र में कोई हार्मोन (कोशिका प्रकार 4) उपलब्ध न हो।

हार्मोन ग्राहियों के अभिलक्षण

हार्मोन ग्राही प्रोटीन या ग्लाइकोप्रोटीन होते हैं जिनकी निम्नलिखित विशेषताएं होती हैं :

- हार्मोन अपने ग्राहियों के साथ उत्क्रमणीय तरीके से प्रतिक्रिया करते हैं, जिसे निम्नलिखित समीकरण द्वारा दर्शाया जा सकता है।

  $H + R \rightleftarrows HR$

  जहां साम्यावस्था कि स्थिति दाहिनी तरफ होती है, यानी हार्मोन की अपने ग्राहियों के लिए उच्च बंधुता होती हैं।

- ग्राही उच्च स्तर की हार्मोनी विशिष्टता प्रदर्शित करते हैं और उनके हार्मोन को अन्य अणुओं से अलग करते हैं जिनकी संरचना बहुत समान हो सकती है।
- ये हार्मोन (जिसे लिगैंड भी कहा जाता है) से तब भी बद्ध होते है जब उनकी सांद्रता असाधारण रूप से कम हो।
- हार्मोन ग्राहियों की स्थिति उपयुक्त रूप से ऊतक विशिष्ट है।
- हार्मोन से बद्ध होने पर ग्राही एक संरूपीय परिवर्तन से गुजरते हैं और संकेत परक्रमण (signal transduction; सिग्रल ट्रांसडक्शन) पथों की एक विस्तृत श्रृंखला को उत्प्रेरित करता है।

ग्राही गुणक्रिया (function; फ़ंक्शन) की उपर्युक्त विशेषताएं एकल अणु या विभिन्न ग्राही सम्मिश्र उपइकाइयों में मौजूद हो सकती हैं। हार्मोन की भूमिका केवल ग्राही से बंधकर उसे उद्धीपित करने की है, और उत्तेजित ग्राही सभी जैव रासायनिक परिवर्तनों को आरंभ करता है।

ग्राहियों के हार्मोन–बाध्यकारी स्थलों से बंधे अणुओं को संदर्भित करने के लिए महत्त्वपूर्ण शब्दों का उपयोग किया जाता है :

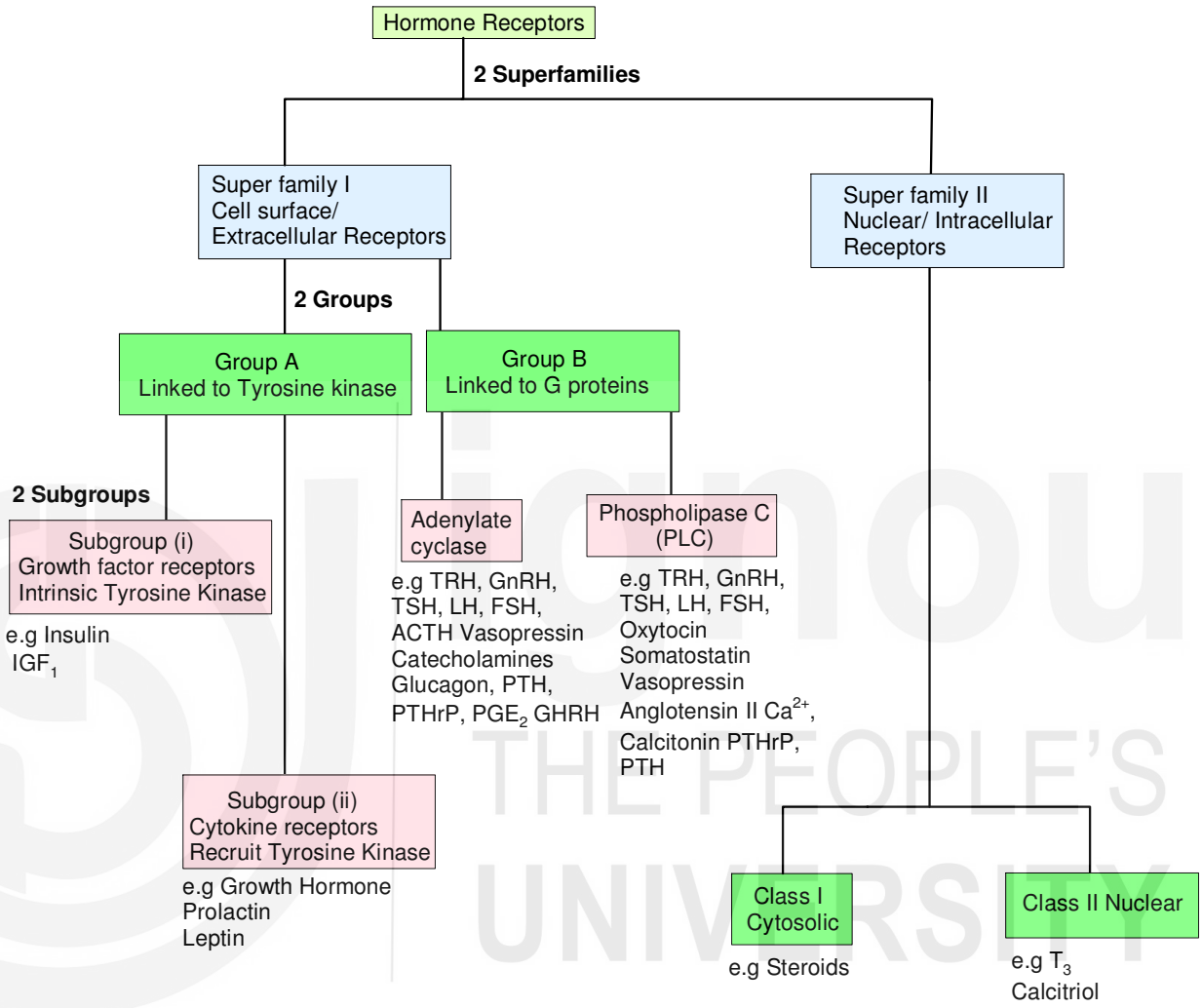
एगोनिस्ट : वे अणु होते हैं जो ग्राही से बद्ध होते हैं और सभी ग्राही–पश्च (पोस्ट–ग्राही) घटनाओं को प्रेरित करते हैं जो एक जैविक प्रभाव की ओर ले जाते हैं। प्राकृतिक हार्मोन एगोनिस्ट हैं।

एंटागोनिस्ट (प्रतिपक्षी) : वे अणु होते हैं जो ग्राही से बद्ध होत बांधत हैं और एगोनिस्ट के बंधन को अवरूद्ध करते हैं लेकिन अंतःकोशिकी संकेतन घटनाओं को शुरू करने में विफल होते हैं। हार्मोन प्रतिपक्षी व्यापक रूप से दवाओं के रूप से उपयोग किए जाते हैं।

हार्मोन ग्राहियों के प्रकार

प्रत्यक्षतः एक ग्राही अपने हार्मोन के लिए आसानी से सुलभ होना चाहिए और इस प्रकार, एक ग्राही की कोशिकीय स्थिति उससे संबंधित विशिष्ट हार्मोन की रासायनिक विशेषताओं को दर्शाती है। उदाहरण के लिए, पियूष ग्रंथि (पिटयूटरी) व्युत्पन्न प्रोटीन और ग्लाइकोप्रोटीन जैसे पानी में घुलनशील हार्मोन जलरागी (hydrophilic; हाइड्रोफिलिक) हैं और कोशिका द्रव्यी झिल्ली के लिपिड बाधा को पार नहीं कर सकते हैं। इसलिए, ये कोशिका की सतह पर स्थित ग्राहियों के साथ अन्योन्यक्रिया करते हैं। इसके विपरीत, लिपिड–घुलनशील हार्मोन जैसे स्टेरॉयड और थायराइड हार्मोन अंतःकोशिकी (intracellular; इंट्रासेल्युलर) ग्राहियों से बंधे होते हैं; जो या तो कोशिका विलेय में या केंद्रक में स्थित होते हैं।

नतीजतन, हार्मोन के लिए ग्राहियों उनकी संरचना और उपकोशिकीय स्थानीयकरण (चित्र 10.2) के संदर्भ में कई असतत समूहों में वर्गीकृत हैं। सामान्य तौर पर, हार्मोन ग्राही प्लाज्मा झिल्ली पर या नाभिक के भीतर या लक्ष्य कोशिकाओं के कोशिका द्रव्य में पाए जा सकते हैं। उनके स्थान के आधार पर हार्मोन ग्राहियों को मोटे तौर पर दो श्रेणियों में विभाजित किया जा सकता है : (i) झिल्ली या बाह्य कोशिकीय ग्राहियों और (ii) अंतःकोशिकी ग्राही।



चित्र 10.2 : हार्मोन ग्राहियों के विभिन्न वर्ग।

10.2.1 बह्यकोशिकी ग्राही

ग्राही वह प्रोटीन होते हैं जो विशिष्ट हार्मोन से बद्ध होते हैं और ग्राही–प्रभावक युग्मन (receptor-effector coupling; रिसेप्टर – इफ़ेक्टर कपलिंग) द्वारा एक अंतःकोशिकी संकेत उत्पन्न करते हैं।

ये हार्मोन ग्राही उस समूह से संबंधित हैं जो प्लाज्मा झिल्ली में मौजूद होते हैं । कोशिका बह्य/झिल्ली ग्राही कोशिका की पूरी सतह पर प्रसारित हो सकते हैं, या वे कुछ विशिष्ट क्षेत्र तक ही सीमित हो सकते हैं। झिल्ली ग्राही मुख्य रूप से पेप्टाइड हार्मोन और छोटे अणुओं से बद्ध होते हैं जो प्लाज्मा झिल्ली को पार नहीं कर सकते जैसे, कैटेकोलामाइन, डोपामाइन। कोशिका सतह/ झिल्ली/बाह्य कोशिका ग्राही अभिन्न झिल्ली प्रोटीन हैं और, जिनमें सभी में, ऐसे क्षेत्र हैं जो तीन बुनियादी कार्यक्षेत्र (डोमेन) में योगदान करते हैं :

i) कोशिका बह्य डोमेन/लिगैंड बंधन डोमेन ग्राही के हार्मोन को पहचानने वाले घटक हैं, जो हार्मोन के साथ क्रिया करने और उनसे जुड़ने के लिए बाहर की ओर प्रक्षेपित होते है।

ii) पारझिल्ली (ट्रांसमेम्ब्रेन) डोमेन अमीनो अम्लों के जलविरागी (hydrophobic; हाइड्रोफोबिक) अनुक्रम होते हैं जो झिल्ली में ग्राही को स्थापित करने का काम करते हैं।

iii) कोशिका द्रव्यी या अंतःकोशिकी प्रक्षेत्र (डोमेन) ग्राही की पूंछ या लूप होते हैं जो कोशिक द्रव्य के भीतर होते हैं और अन्य झिल्ली या कोशिका विलेयी प्रोटीन के साथ संचार करके हार्मोन बंधन पर प्रतिक्रिया करते हैं, जिससे द्वितीय संदेशवाहकों की उत्पत्ति होती है। झिल्ली ग्राही के कोशिका द्रव्यी डोमेन इस प्रकार अणु के प्रभावकारी क्षेत्र (effector region) हैं।

सभी ग्राहियों में कम से कम दो कार्यात्मक डोमेन होते हैं एक मान्यता (recognition) डोमेन जो हार्मोन लिगैंड से बद्ध होता है और एक युग्मन (coupling) डोमेन जो कि एक संकेत उत्पन्न करता है जो अंतःकोशिकीय कार्य के लिए हार्मोन की पहचान होती है।

10.2.2 अंतःकोशिकी ग्राही

अंतःकोशिकी ग्राही (इंट्रासेल्युलर ग्राहीं; intracellular receptors) लक्ष्य कोशिकाओं के अंदर मौजूद होते हैं और उन्हें केन्द्रक या कोशिका द्रव्य में पाया जा सकता है। अंतःकोशिकी ग्राही छोटे जलविरागी संकेतन अणुओं के प्रति अनुक्रिया करते हैं जो झिल्ली–पारगम्य होते हैं और इनमे स्टेरॉयड हार्मोन, वसारागी विटामिन और नाइट्रिक ऑक्साइड और हाइड्रोजन पेरोक्साइड जैसे छोटे अणुओं के लिए ग्राहियों शामिल होते हैं।

सामान्य तौर पर, अंतःकोशिकी ग्राही तीन अलग–अलग डोमेन वाले अनुलेखन (transcription; ट्रांसक्रिप्शन) कारकों के एक अधिकुल (सुपरफैमिली) के सदस्य होते हैं:

i) अनुलेखन–सक्रिय करने वाला कार्यक्षेत्र (डोमेन) (transcription activating domain) अमीनो–सिरा है और अनुलेखन मशीनरी के अन्य घटकों के साथ अन्योन्यक्रिया करके अनुलेखन को सक्रिय या उत्तेजित करने में शामिल है। विभिन्न ग्राहियों के बीच यह अनुक्रम अत्यधिक परिवर्तनशील है।

ii) DNA के विशिष्ट अनुक्रमों के लिए ग्राही के आबंधन के लिए **DNA–आबंधन डोमेन** जिम्मेदार है।

iii) लिगैंड–आबंधन डोमेन कार्बोक्सी–सिरा है और वह क्षेत्र है जो हार्मोन से बद्ध होता है।

हार्मोन ग्राहियों के दोनों वर्गों से विशिष्टता और उच्च बंधुता के साथ जुड़ते हैं। इन विशेषताओं को अक्सर स्कैचर्ड आलेखों द्वारा वर्णित किया जाता है, जो साम्य पृथक्करण स्थिरांक (K_d) और अधिकतम बंधन (B_{max}) के आकलन की अनुमति देते हैं।

बोध प्रश्न 1

क) सही कथन पर [√] का निशान लगाएं।

i) ग्राही उच्च स्तर की हार्मोनी विशिष्टता प्रदर्शित करते हैं और अपने हार्मोन को अन्य अणुओं से अलग करते हैं।

ii) अंतःकोशिकीय ग्राहियों को उन लिगैंड की आवश्यकता होती है जो झिल्ली पारगम्य होते हैं।

iii) ट्रांसमेम्ब्रेन डोमेन अमीनो एसिड के जलरागी (हाइड्रोफिलिक) खंड हैं।

iv) ग्राही वे प्रोटीन होते हैं जो विशिष्ट हार्मोन से बद्ध होते हैं।

ख) उचित शब्दों से रिक्त स्थानों की पूर्ति कीजिए :

i) कोशिका की सतह/झिल्ली/बाह्य कोशिकीय ग्राही ..... होते हैं।

ii) ..... DNA के विशिष्ट अनुक्रमों से ग्राही के बंधन के लिए जिम्मेदार है।

10.3 ग्राही हार्मोन आबंधन और स्कैचर्ड विश्लेषण

द्वितीयक संदेशवाहक छोटे अंतःकोशिकी (इंट्रासेल्युलर) अणु होते हैं जो प्रथम संदेशवाहकों यानी हार्मोन और न्यूरोट्रांसमीटर के प्रभावों की मध्यस्थता करते हैं।

रासायनिक संकेत के लिए कोशिकी प्रतिक्रिया शुरू करने के लिए हार्मोन ग्राहियों के साथ जुड़ते हैं। जब एक हार्मोन एक लक्ष्य कोशिका तक पहुंचता है, तो सबसे पहले एक विशिष्ट ग्राही के साथ अनुक्रिया करता है और द्वितीयक मैसेंजर सिस्टम (हार्मोन पहला संदेशवाहक है) और प्रत्यक्ष जीन सक्रियण के माध्यम से कोशिका के अंदर संकेत को जैव रासायनिक परिवर्तन में परिवर्तित करता है। द्वितीय संदेशवाहक तब आणविक अंतःक्रियाओं की एक श्रृंखला को ट्रिगर करते हैं जो कोशिका की कार्यिकी (फिजियोलॉजी) को बदल देते हैं।

सामान्य तौर पर, सभी ग्राहियों में दो महत्त्वपूर्ण घटक होते हैं :

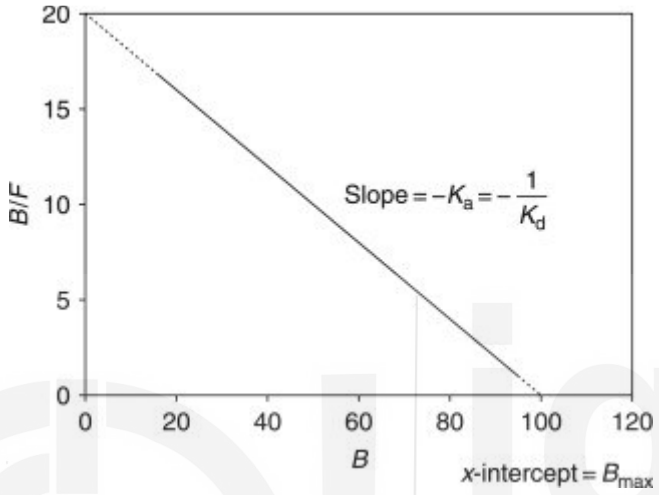
क) एक लिगैंड–आबंधन (binding; बाइन्डिंग) डोमेन जो उस ग्राही के लिए सही हार्मोन से बद्ध होता है और

ख) एक प्रभावी डोमेन जो लिगैंड डोमेन से बंधे हार्मोन की उपस्थिति के प्रति क्रिया करता है और जैविक प्रतिक्रियाओं की नई पीढ़ी कि शुरूवात करता है।

हालांकि, मुक्त हार्मोन, जो जैविक रूप से सक्रिय रूप हैं, आसानी से कोशिकाओं के वसारागी प्लाज्मा झिल्ली से गुजरते हैं और लक्ष्य कोशिकाओं के कोशिकाविलेय या नाभिक में ग्राहियों के साथ बंधते हैं। मुक्त हार्मोन के लिए, लिगैंड–ग्राही संकुल अंतः कोशिकी संदेशवाहक का कार्य करते हैं।

स्कैचर्ड विश्लेषण

स्कैचर्ड एनालिसिस (या स्कैचर्ड आलेख) ग्राहियों के लिए लिगैंड आबंधन गतिकी के विश्लेषण करने का एक आलेखी (graphical; ग्राफिकल) तरीका है। स्कैचर्ड प्लॉट, आम तौर पर, कुल ग्राही बाध्य लिगैंड (*B*) एवं उनकी मुक्त सांद्रता के अनुपात [*B]/[L]* का बाध्य लिगैंड की कुल मात्रा [*B*] के प्रति विश्लेषण करता है। एक विशिष्ट ग्राही के लिए, स्लोप –K के बराबर है, जो कि ग्राही से लिगैंड के बंधन के लिए एसोसिएशन स्थिरांक, और x–इंटरसेप्ट लिगैंड के लिए बाध्यकारी साइटों की संख्या B_{max} बताता है (चित्र 10. 3) ।



चित्र 10.3 : स्कैचर्ड विश्लेषण।

बोध प्रश्न 2

उचित शब्दों से रिक्त स्थानों की पूर्ति कीजिए :

क) हार्मोन ..... संदेशवाहक हैं जो लक्ष्य कोशिका पर अपने ..... से बद्ध हो कर अंतः कोशिकी परिवर्तन लाते हैं।

ख) मुक्त हार्मोन के लिए लिगैंड–ग्राही कॉम्प्लेक्स ..... है।

ग) हार्मोन .....कोशिकाओं पर विशिष्ट ग्राहियों के साथ बंधता है।

घ) स्कैचर्ड आलेख (प्लॉट) ग्राहियों के लिए लिगैंड बाइंडिंग गतिकी के विश्लेषण करने का एक ..... तरीका है।

10.4 जी–प्रोटीन युग्मित ग्राही

जी–प्रोटीन–युग्मित ग्राही (G-protein coupled receptors; GPCR) ससीमकेन्द्रकों में कोशिका सतह ग्राहियों के प्रमुख और अत्यंत विविधता युक्त परिवार हैं। जीपीसीआर का यह नाम इसलिए रखा गया है क्योंकि वे जी–प्रोटीन (ग्वानोसिन न्यूक्लियोटाइड – बाइंडिंग प्रोटीन) के साथ मिलकर अंतः कोशिकी प्रभावकारक अणुओं के साथ क्रिया करते हैं। GPCR परिवार के सहयोगियों में सात पारझिल्ली कुडंलिनी होते हैं, और इस प्रकार उन्हें सात–ट्रांसमेम्ब्रेन (7TM) ग्राहियों के रूप में भी जाना जाता है। ये कोशिका सतह ग्राही मानव शरीर के कार्यों की एक अविश्वसनीय व्यूह रचना में भूमिका निभाते

संकेत पारक्रमण (सिग्रल ट्रांसडक्शन) एक समग्र प्रक्रिया है जिसमें बाह्यकोशिकीय संदेशवाहक अणुओं द्वारा वहन की गई सूचना को कोशिका के भीतर होने वाले परिवर्तनों में अनुवादित किया जाता है।

ग्लाइकोसिलीकरण एक गैर–कार्बोहाइड्रेट संरचना (एग्लाइकोन), जो कि आमतौर पर एक प्रोटीन या लिपिड होता है, के लिए एक कार्बोहाइड्रेट, या ग्लाइकोन को जोड़ने की प्रक्रिया है।

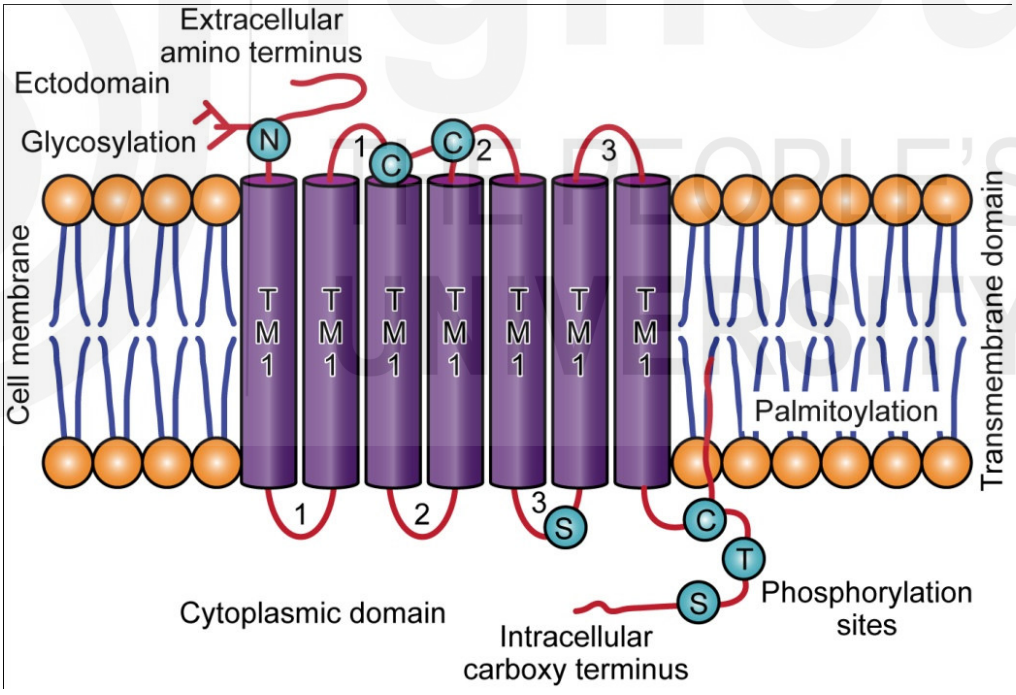
पामिटॉयलीकरण फैटी अम्ल का सहसंयोजक बंधन है, जैसे पामिटिक एसिड, सिस्टीन के लिए और कभी–कभी प्रोटीन के सेरीन और थ्रेओनीन अवशेषों के लिए।

हैं। वे बाहरी वातावरण जैसे प्रकाश, स्वाद और गंध के साथ–साथ हार्मोन द्वारा प्रेषित संकेतों को समझने के लिए महत्त्वपूर्ण हैं। GPCRs पेप्टाइड हार्मोन, न्यूरोट्रांसमीटर, अफीम व्युत्पन्न, कीमोअट्रेक्टेंट्स (उदाहरण के लिए, अणु जो प्रतिरक्षा की फेगोसाइटी कोशिकाओं को आकर्षित करते हैं), गंधक और स्वादिष्ट (घ्राण और स्वाद ग्राहियों द्वारा पता लगाया गया अणु) और फोटॉन सहित विभिन्न प्रकार के लिगेंड के संदेशों के लिए एक इनबॉक्स (inbox) की तरह काम करते हैं।

जी प्रोटीन युग्मित ग्राहियों की संरचना

GPCRs एक सामान्य संरचनात्मक संगठन को साझा करते हैं जिसमें सात जलविरागी ट्रांसमेम्ब्रेन (TM) खंडों के अलावा एक सहसंयोजक बाध्य कार्बोहाइड्रेट के साथ बाह्य अमीनों सिरा और कोशिकाद्रव्य के भीतर एक अंतःकोशिकी कार्बोक्सिल सिरा होता है।

सभी जीपीसीआर में प्रोटीन के एकल स्ट्रैंड होते हैं और इसमें लगभग 25 अमीनो एसिड के सात खंड होते है, प्रत्येक जलविरागी झिल्ली में विस्तारित α–कुंडलिनी (α-helices) बनाते हैं। ग्राही का गठन करने वाला एक लंबा पॉलीपेप्टाइड झिल्ली की पूरी चौड़ाई में फैला होता है और झिल्ली के माध्यम से सात बार इस तरह से घूमता है कि मध्यवर्ती भाग का लूप तीन बाह्य कोशिकी लूप (extracellular loop, ECL) और तीन अंतःकोशिकी लूप (intracellular loop; ICL) बनाता हैं। नतीजतन, इन ग्राहियों को सप्तकुंडलिनी ग्राही (heptahelical receptor; हेप्टाहेलिकल रिसेप्टर्स) भी कहा जाता है (चित्र 10.4)।



चित्र 10.4 : जीपीसीआर की योजनाबद्ध संरचना। एन–सिरे के एक्टोडोमैन का आकार आम तौर पर सजात लिगैंड के आकार के अनुपात में होता है और इसे बहुत अधिक ग्लाइकोसिलीकृत किया जाता सकता है। ट्रांसमेम्ब्रेन डोमेन में एक विशिष्ट कुंडलिनी संरचना होती है; जिसमें से अधिकांश प्लाज्मा झिल्ली में अंतर्निहित होती है और एक जलविरागी कोर प्रदान करती है। कोशिकाद्रव्यी डोमेन ग्राही को संकेत पारक्रमी जी–प्रोटीन से जोड़ता है। बाह्यकोशिकी ग्लाइकोसिलकरण और डाइसल्फ़ाइड बंध गठन के साथ–साथ अंतःकोशिका पामिटॉयलीकरण और फॉस्फोराइलीकरण के लिए स्थल इंगित किए गई हैं।

बाह्य और अंतःकोशिकीय लूप की लंबाई और कार्बोक्सि और अमीनो–सिरे पूंछ इन ग्राहियों के विभिन्न परिवारों और उप–परिवारों के बीच विशिष्ट तरीकों से भिन्न होती हैं। बाह्यकोशिकीय लूप और अन्य बहिर्मुखी घटक, जिनमें α–कुंडलिनी के भाग शामिल है, हार्मोन की पहचान और बाध्यकारी साइट में योगदान करते हैं। कोशिकाविलेयी अंतःकोशिकी लूप और कार्बोक्सिल पूंछ झिल्ली और साइटोसोल के अंतरापृष्ठ (इंटरफेस) के पास विशिष्ट जी–प्रोटीन से बंधते हैं।

विषमत्रीतयी वृहद्अणु (हेटरोट्रिमेरिक मैक्रोमोलेक्यूल्स) तीन उपइकाइयों से बने होते हैं। जिनमें से कम से कम एक अन्य दो से अलग होता है।

अधिकांश जीपीसीआर में उनके एन–सिरे वाले डोमेन में कम से कम एक ग्लाइकोसिलकरण स्थल होता है जो ग्राहियों की स्थिरता के लिए आवश्यक है यह लिगैंड बंधन को प्रभावित कर भी सकती है (उदाहरण के लिए, TRH ग्राहियों में) या नहीं भी (उदाहरण के लिए, GnRH ग्राहियों में) है। पामिटॉयलीकरण कई संकेतक (सिग्रलिंग) प्रोटीन की जलविरागिता को बढ़ाता है और कोशिका झिल्ली पर उनके स्थिरीकरण में योगदान देता है।

GPCRs पार झिल्ली अनुभागों में महत्त्वपूर्ण समरूपता साझा करते हैं। GPCRs के परिवार में सबसे परिवर्तनशील संरचनाएं सी–सिरे पर कोशिकाद्रव्यी डोमेन, TM5 और TM6 में फैली अंतर्कोशिकी लूप और एमिनो सिरा एक्टोडोमेन हैं।

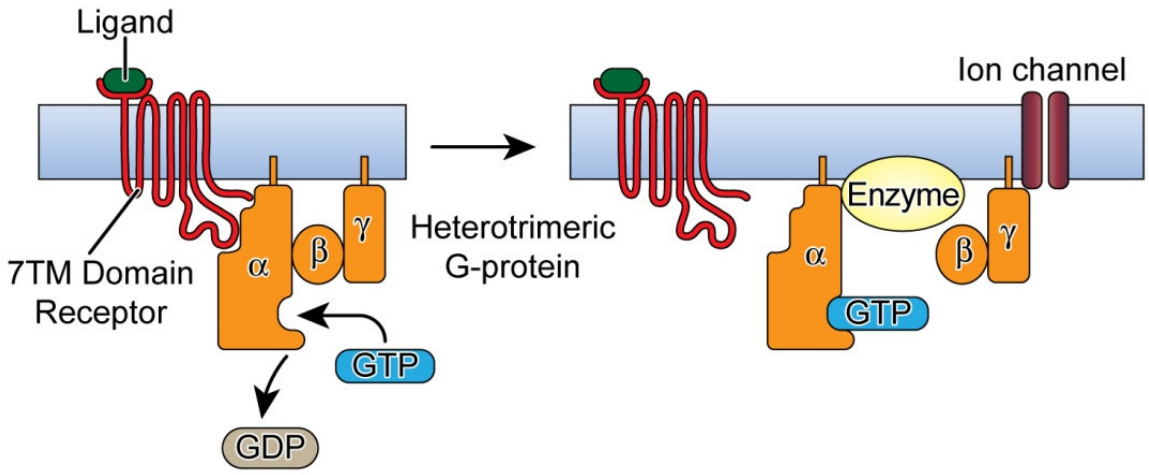
10.4.1 जी प्रोटीन

जी–प्रोटीन विषमत्रीतयी जटिल (हेटरोट्रिमेरिक कॉम्प्लेक्स) हैं जिनमें अल्फा (α), बीटा (β), और गामा (γ) उपइकाईयां शामिल हैं। जी–प्रोटीन, α और γ उपइकाइयों से सहसंयोजी रूप से जुड़े वसाकणों द्वारा झिल्ली की सतह से जुड़े होते हैं। इस वृहदअणु (मेक्रोमोलेक्यूल) का आणविक भार लगभग 90000 है, जिसमें α, β और γ उपइकाइयां क्रमशः लगभग 45000, 35000 और 5000 का योगदान करते हैं। अपनी निष्क्रिय अवस्था में, α– उपइकाई ग्वानोसिन डाईफॉस्फेट (GDP) को बांधता है, और अपनी सक्रिय अवस्था में, यह ग्वानोसिन ट्राइफॉस्फेट (GTP) को बांधता है। β– और γ– उपइकाईयां द्वितय (डाईमर) बनाने के लिए एक दूसरे से कसकर बंधे होते हैं।

जी–प्रोटीन के अल्फा (α) उप–इकाइयों को चार प्रमुख उप–परिवारों में वर्गीकृत किया जा सकता है जिनका बहुत कार्यात्मक महत्त्व है। ये उपइकाईयां Gsα और Giα हैं जो क्रमशः एडेनिल साइक्लेज को सक्रिय या बाधित करते हैं, Gqα जो आयन चैनलों को सक्रिय करता है।

जीपीसीआर एक संकेतक (सिग्रलिंग) अणु या लिगैंड से जुड़ने से पहले निष्क्रिय अवस्था में रहता है। संकेतक (सिग्रलिंग) अणु का बंधन जीपीसीआर को सक्रिय करता है और यह जी–प्रोटीन से जुड़ जाता है, जिससे ग्वानोसिन ट्राइफॉस्फेट (GTP) का जीडीपी में आदान–प्रदान होता है (चित्र 10.5)। α– उपइकाईयां वे एंजाइम (GTPases) होते हैं जो GTP को GDP में बदलने के लिए उत्प्रेरित करते हैं। निष्क्रिय या आराम की स्थिति में, α– उपइकाई में उत्प्रेरक स्थल जीडीपी से जुड़ी होती है।

जब ग्राही अपने हार्मोन से बंधता है, तो तीसरा अंतःकोशिकी लूप और ग्राही का सी–सिरा जी–प्रोटीन के साथ जुड़ जाता है। झिल्ली में सभी जगह यह संरूपीय संशोधन जीटीपी के एक अणु के बदले में जीडीपी को मोचित करता है। यह ग्वानिन न्यूक्लियोटाइड विनिमय (एक्सचेंज) बदले में विषमत्रितय से α–सबयूनिट के वियोजन का कारण बनता है जिससे $\beta\gamma$ कॉम्प्लेक्स मोचित होता है जो कि एक दूसरे से कसकर बंधे रहते हैं (चित्र 10.5)।



चित्र 10.5 : जी–प्रोटीन युग्मित ग्राही का सक्रियण। लिगैंड/हार्मोन आबंधन, ग्राही में एक संरूपीय परिवर्तन पैदा करता है जो α उपइकाई को जीटीपी के लिए जीडीपी का विनिमेय करने और β/γ– उपइकाई से अलग होने का कारण बनता है ।

जीटीपी सक्रिय जी–प्रोटीन का α– उपइकाई बाद में वसा द्वीपरत (लिपिड बाईलेयर) के साथ विसरित होता है जो कि या तो लक्षित प्रोटीन को ट्रिगर या कभी–कभी उसका संदमन करता है। लक्षित प्रोटीन अक्सर वे एंजाइम होते है जो द्वितीयक संदेशवाहक उत्पन्न करते हैं। इसी तरह, βγ संकुल कोशिका झिल्ली, कोशिकी प्रोटीन, एंजाइम, द्वितीय संदेशवाहक में आयन चैनलों को बांधने और उनकी गतिविधियों को प्रभावित करने में भी सक्षम है।

α–सबयूनिट की आंतरिक GTPase गतिविधि द्वारा जीटीपी का जीडीपी में जल अपघटन, α–सबयूनिट की विश्राम अवस्था को पुनर्स्थापित करता है, निष्क्रिय विषमत्रितय के पुननिर्माण के लिए βγ संकुल के साथ फिर से संबद्ध करने की अनुमति देता है जो फिर से एक ग्राही के साथ जुड़ सकता है।

संकेत पारक्रमण (सिग्रल ट्रांसडक्शन) : सिग्रल ट्रांसडक्शन (जिसे कोशिका संकेतन के रूप में भी जाना जाता है), कोशिका के ग्राही–लिगैंड परस्पर क्रिया के जवाब में व्यवहार को बदलने की क्षमता के रूप में परिभाषित किया गया है। लिगैंड प्राथमिक संदेशवाहक है। ग्राही से बद्ध होने के परिणामस्वरूप, लक्ष्य कोशिका के भीतर अन्य अणु या दूसरे संदेशवाहक उत्पन्न होते हैं। दूसरे संदेशवाहक संकेत को एक स्थान से दूसरे स्थान पर भेजते हैं।

10.4.2 द्वितीय संदेशवाहक (दूत)

हार्मोन स्त्रावित होते हैं, अपने लक्ष्य तक पहुँचते हैं, और एक ग्राही से जुड़ जाते हैं। इसके अलावा, हार्मोन और उसके ग्राही के बीच की क्रिया से प्रारंभिक संकेत उत्पन्न होते है, जिसके परिणामस्वरूप अनुक्रमिक चरणों के माध्यम से चरम हार्मोन क्रिया होती है। यहां आप पूछ सकते हैं कि एक हार्मोन का ग्राही से बंधना कैसे एक कोशिकी क्रिया को सुनिश्रित करता है?

उदाहरण के लिए, तनाव के दौरान, अधिवृक्क ग्रंथियां एपिनेफ्रीन का स्त्राव करती हैं जो कंकाल की मांसपेशी में मौजूद ग्राहियों से बद्ध होता है, जिससे ग्लाइकोजन का जलअपघटन और ग्लूकोज का स्त्राव होता है।

संकेत पारक्रमण (सिग्रल ट्रांसडक्शन) के अनुक्रमिक चरण एपिनेफ्रीन के ग्राही बंधन को ग्लाइकोजन के जलअपघटन से जोड़ते हैं।

संकेत पारक्रमण के दो प्रमुख क्रियाविधि हैं :

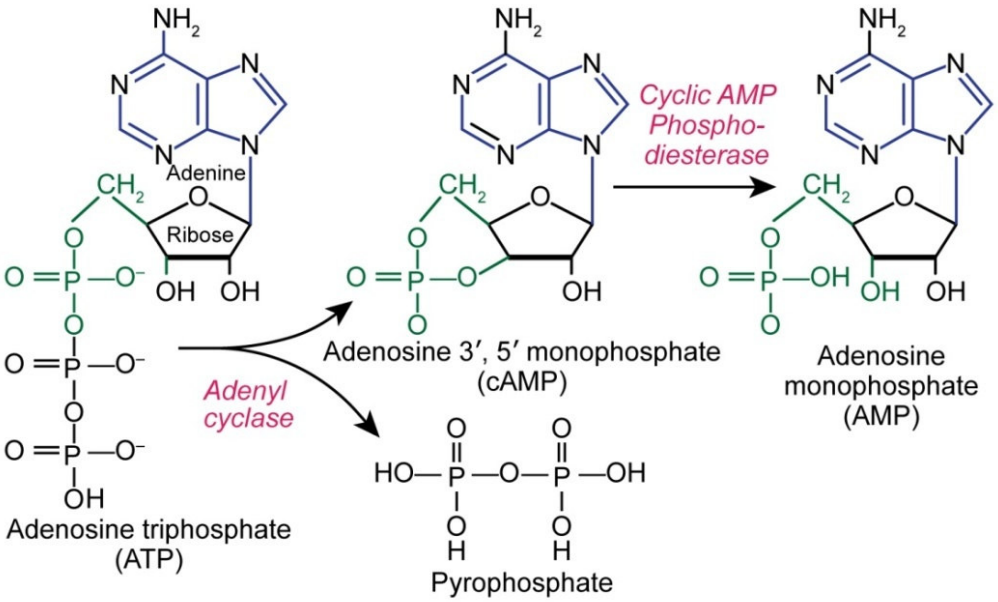
- कोशिकाओं के माध्यम से विसरित होने वाले छोटे अणुओं द्वारा संकेतों का संचरण, और
- प्रोटीन के फास्फारिलीकरण द्वारा संकेतों का संचरण।

संकेतन के लिए उपयोग किए जाने वाले छोटे विसरित अणु द्वितीय संदेशवाहक के रूप में जाने जाते हैं। इस प्रकार, द्वितीय संदेशवाहक को छोटे, तेजी से फैलने वाले अणुओं के रूप में परिभाषित किया जा सकता है जो कोशिका–सतह ग्राहियों द्वारा प्राप्त प्रभावकारी प्रोटीन के लिए प्रारंभिक संकेतों ("पहला संदेश") को प्रसारित करते हैं। द्वितीय संदेशवाहकों को चार प्रमुख वर्गों में वर्गीकृत किया गया है :

- **चक्रीय न्यूक्लियोटाइड** जो साइटोसोल के भीतर संकेतन करते हैं।
- **लिपिड संदेशवाहक** जो कोशिका झिल्लियों के भीतर संकेत करते हैं।
- **आयन** जो कोशिकीय कक्षों के भीतर और बीच में संकेत करते हैं।
- **गैसें और मुक्त मूलक (free radicals, फ्री रैडिकल्स)** जो पूरी कोशिकाओं में और यहां तक कि पड़ोसी कोशिकाओं को भी संकेत दे सकते हैं।

चक्रीय एडेनोसिन 3′, 5′ मोनोफॉस्फेट (cAMP; साइक्लिक एएमपी)

चक्रीय एडेनोसिन मोनोफॉस्फेट (cAMP) पहचाने जाने वाला पहला द्वितीयक संदेशवाहक था। यह एक सामान्य अंतःकोशिकीय द्वितीय संदेशवाहक है जो कई जैविक प्रतिक्रियाओं को सुगम बनाता है और कई हार्मोनों के स्त्राव की क्रियाविधि तंत्र में महत्त्वपूर्ण भूमिका निभाता है। *cAMP* को एंजाइम एडेनिलील साइक्लेज द्वारा संश्लेषित किया जाता है जो एडेनोसिन ट्राइफॉस्फेट (एटीपी) को प्रतिक्रियाशील चक्रीय एडेनोसिन मोनोफॉस्फेट (एएमपी) न्यूक्लियोटाइड में परिवर्तित करता है। एक सक्रिय एडेनिल साइक्लेज सीएएमपी के कई अणु उत्पन्न कर सकता है, जिसके परिणामस्वरूप संकेत परिवर्धित यानि बढ़ सकता है। यह चक्रीय न्यूक्लियोटाइड बदले में कई प्रभावों को नियंत्रित करता है लेकिन प्रमुख रूप से एक cAMP सीएएमपी–निर्भर प्रोटीन काईनेज ए (पीकेए) को सक्रिय करता है जो कि कोशिकीय कार्यों (सेल फ़ंशन) के कई पहलुओं को न्यूनाधिक (modulate) नियंत्रित करता है। पीकेए तब कई प्रभावकारी एंजाइमों को फॉस्फोरीकृत करता है और फॉस्फोडिएस्टरेज़ के द्वारा खुद को संदमित है, जो सीएमपी को वापस "सीधे" एएमपी में परिवर्तित करता है (चित्र 10.6)।



चित्र 10.6 : चक्रीय एडेनोसिन मोनाफॉस्फेट (cAMP) का निर्माण और विघटन।

गुआनोसिन 3′, 5′–चक्रीय मोनोफॉस्फेट या चक्रीय GMP (cGMP)

cGMP एक अन्य चक्रीय न्यूक्लियोटाइड है जो द्वितीयक संदेशवाहक के रूप में कार्य करता है, यह cAMP की क्रिया के समान है लेकिन आम तौर पर कोशिकी कार्य पर विपरीत प्रभाव पैदा करता है। cGMP का आणविक सूत्र $C_{10}H_{12}N_5O_7P$ और 345.2 g/mol के आणविक भार के साथ एंजाइम गुआनिल साइक्लेज (GNC) की उपस्थिति में ग्वानोसिन ट्राइफॉस्फेट (GTP) से प्राप्त होता है। गुआनिल साइक्लेज आमतौर पर कोशिका विलेयी, घुलनशील रूप (sGNC) और प्लाज्मा झिल्ली–बाध्य रूप (pGNC) में पाया जाता है और इस प्रकार cGMP को दो मार्गों से उत्पन्न किया जाता सकता है :

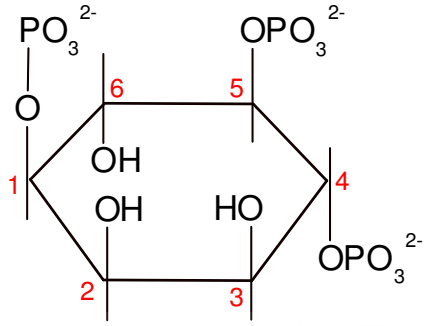
- घुलनशील मार्ग, जहां cGMP, sGNC द्वारा निर्मित होता है, जो कि नाइट्रिक ऑक्साइड द्वारा प्रेरित होता है।

- झिल्ली बाह्य मार्ग, जहां cGMP, pGNC द्वारा उत्पन्न होता है और पेप्टाइड जैवनियामक (bioregulator; बायोरेगुलेटर) के एक छोटे से परिवार द्वारा सक्रिय किया जाता है, जिसमें एट्रियल नैट्रियूरेटिक पेप्टाइड (atrial natriuretic peptide, एएनपी) शामिल है। इन पेप्टाइड के ट्रांसमेम्ब्रेन ग्राहियों लिए गुआनिल साइक्लेज, एक महत्त्वपूर्ण हिस्सा प्रतीत होता है और सीएएमपी के विपरीत यह जी–प्रोटीन के मध्यस्था के बिना सक्रिय होता है। तत्पश्चात् उपयुक्त लिगैंड के गुआनिल साइक्लेज से बंधन द्वारा जीटीपी से सीजीएमपी का उत्पादन होता है।

चक्रीय GMP अंतःकोशिकी [Ca^{2+}] का एक महत्त्वपूर्ण नियामक है और इस प्रकार, चिकनी पेशी, पिटयूटरी, रेटिना और अन्य कोशिकाओं में Ca^{2+} पर निर्भर जैविक कार्यों को नियंत्रित करता है। हालांकि, यह cAMP की तुलना में काफी कम बहुमुखी है, cGMP कई कोशिकाओं में समान भूमिका निभाता है।

इनोसिटोल ट्राइफॉस्फेट (Inositol triphosphate; IP3)

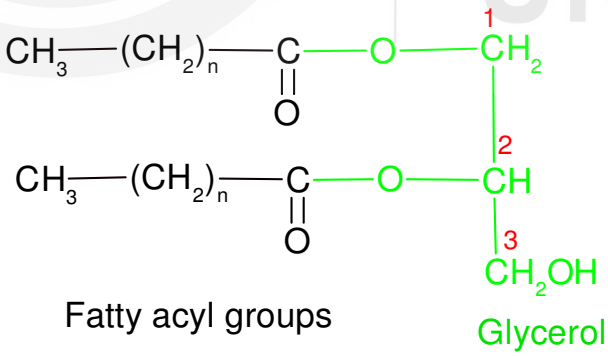
इनोसिटोल 1, 4, 5–ट्राइफॉस्फेट (आईपी 3) एक द्वितीयक संदेशवाहक है (चित्र 10.7)। जो एंजाइम फॉस्फोलिपेज़ द्वारा निर्मित होता हैं, यह एंजाइम एक झिल्ली प्रोटीन भी होता है। IP_3 एडोप्लाज्मिक रेटिकुलम और अन्य अंगकों (organelle; ऑर्गेनेल) पर IP_3 ग्राहियों से बंधता है, जिससे कोशिका विलेय में कैल्शियम मोचित होता है। IP_3 अंतःकोशिकी भंडारण से एक अन्य द्वितीयक संदेशवाहक Ca^{2+} के विमोचन का कारण बनता है।



चित्र 10.7 : इनोसिटोल 1, 4, 5–ट्राइफॉस्फेट (आईपी 3) की संरचना, जो एंडोप्लाज्मिक रेटिकुलम में Ca^{2+} चैनल खोलता है।

डाईएसाइलग्लिसरॉल (डीएजी)

डाईएसाइलग्लिसरॉल (1, 2-diacyl-sn ग्लिसरॉल, DAG) जिसकी संरचना चित्र 10.8 में दिखाई गई है; एक द्वितीयक संदेशवाहक है जो संभावित रूप से विभिन्न प्रकार के संकेतन सोपान में शामिल प्रोटीन को सक्रिय करता है। डीएजी प्रोटीन काईनेस सी की सक्रियता के लिए आवश्यक है। cAMP और IP_3 के विपरीत DAG लिपिड–घुलनशील है और इसलिए, कोशिका झिल्ली को पार करने और उस कोशिका को छोड़ने में सक्षम है जिसमें इसे बनाया गया था (चित्र 10.8)।



चित्र 10.8 : 1, 2–डाईएसाइलग्लिसरॉल (डीएजी) की संरचना, जो प्रोटीन काईनेस सी (पीकेसी) को सक्रिय करती है।

कैल्शियम आयन (Ca^{2+})

कैल्शियम आयन भी महत्त्वपूर्ण हैं और शायद कोशिकाओं की उद्दीपन अनुक्रिया अभिक्रियाओं में सबसे व्यापक रूप से इस्तेमाल किए जाने वाले द्वितीयक संदेशवाहक हैं। यह निम्न तरीकों द्वारा सामान्य संकेतक प्रणाली में अपनी भूमिका निभाते है :

- विश्राम के समय कोशिकाद्रव्यी Ca^{2+} सांद्रता को कम रखने एवं

- यह कई एंजाइमों और प्रोटीनों पर अपरस्थली (एलोस्टेरिक- उत्प्रेरक साइट से अलग साइट) नियामक प्रभाव डालने के लिए Ca^{2+} को गतिमान करके उद्दीपनों के प्रति प्रतिक्रिया करते है।

द्वितीयक संदेशवाहक के रूप में Ca^{2+} की भूमिका सबसे पहले कंकाल की मांसपेशी के उत्तेजना–संकुचन युग्मन में प्रकट हुई थी। द्वितीयक संदेशवाहक के रूप में Ca^{2+} की महत्त्वपूर्ण विशेषताओं में से क्रिया स्थल (one site) पर असीमित मात्रा में इसका पूर्व–उपस्थिति है, जबकि अन्य दूसरे संदेशवाहकों को कोशिका में उत्तेजना की शुरूआत के बाद एंजाइमी प्रतिक्रियाओं द्वारा उत्पन्न किया जाता है। इसलिए, Ca^{2+} को केवल कोशिकाद्रव्य और Ca^{2+} स्त्रोतों को अलग करने वाली झिल्ली में Ca^{2+} आयनों के चैनल को खोलकर तेजी से और अत्यधिक गतिशील किया जा सकता है।

नाइट्रिक ऑक्साइड (NO)

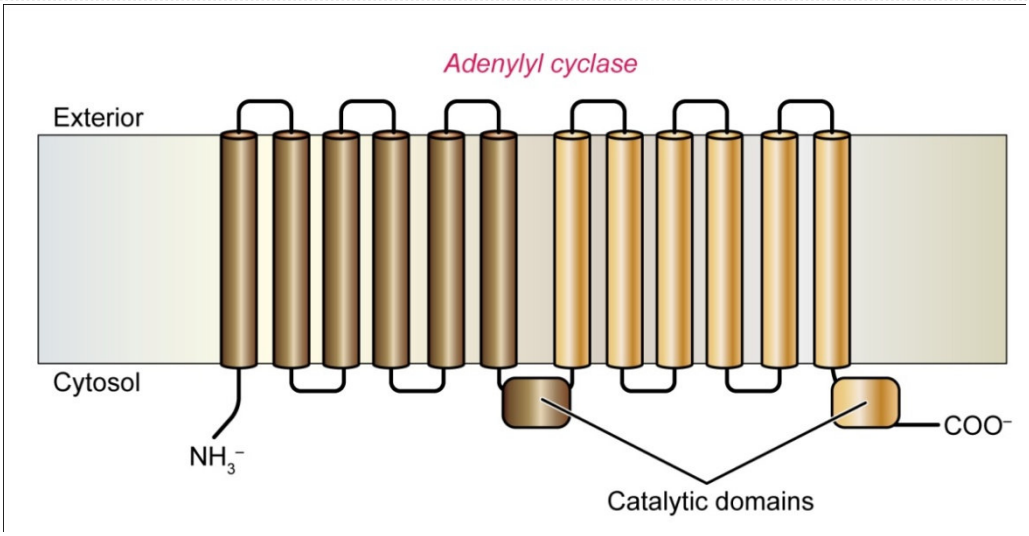
नाइट्रिक ऑक्साइड, हाल ही में अभिलक्षित (characterized) संकेतन अणुओं में से एक है, जो NO सिंथेज़ (NOS) की Ca^{2+} – निर्भर गतिविधि के माध्यम से इसके पूर्वरूप L–आर्जिनिन के ऑक्सीकरण द्वारा संश्लेषित होता है। NO एक गैस है, हालांकि यह एक जलीय विलयन में घुलती है और इसमें एक असहभाजित इलेक्ट्रॉन के साथ मुक्त मूलक होता है; जो प्रोटीन पर थायोल समूहों के साथ क्रिया करके नए जटिल यौगिको का निर्माण करता है। चूंकि NO एक अल्पकालिक अणु है, अतः यह संग्रहीत नहीं होता है और संशलेषित होते ही तुरंत विमोचित हो जाता है। इसके अलावा, अन्य द्वितीयक संदेश वाहकों के विपरीत, NO को कोशिका के अंदर और बाहर खुद को ले जाने के लिए ऊर्जा की आवश्यकता नहीं होती है लेकिन यह ज्यादा दूर नहीं जाता है क्योंकि यह एक अभीक्रियाशील मुक्त मूलक (reactive free redical) है। NO उन कोशिका के भीतर कार्य करता है जो इसे द्वितीयक संदेशवाहक के रूप में उत्पन्न करता है। NO का प्राथमिक संकेतन (सिग्रलिंग) क्रियाविधि चक्रीय ग्वानोसिन 5 मोनो–मोनोफॉस्फेट (cGMP) के माध्यम से होती है। NO विशेष रूप से cGMP के गठन को प्रोत्साहित करने के लिए घुलनशील गुआनीलेट साइक्लेज से बंद्ध होता है।

10.4.3 कार्यकर तंत्र प्रणाली

कार्यकर तंत्र (Effector Systems) प्रणाली, सामान्यत, विभिन्न प्रोटीनों से युक्त होती है; आमतौर पर एंजाइम जो सीधे संकेतो का प्रवर्धन कर सकते हैं, या यह सिग्रल पारक्रमण पथ शुरू करने के लिए द्वितीयक संदेशवाहक उत्पन्न कर सकता है। इस संदर्भ में कार्यकर एक अणु है जो संकेतन (सिग्रलिंग) पथ कैस्केड की सभी कोशिकीय अनुक्रियाओं का कार्यान्वित करता है।

एडेनिलिल साइक्लेस

एडेनिलिल साइक्लेज (एडेनिल साइक्लेज या एडिनाइलेट साइक्लेज) वह एंजाइम है जो ATP से cAMP को संश्लेषित करता है। स्तनधारियों में नौ झिल्ली जलविरागी एडिनाइलेट साइक्लेज समरूप (AC1-AC9) होते हैं, प्रत्येक में दो ट्रांसमेम्ब्रेन जलविरागी डोमेन और दो कोशिकाविलेयी डोमेन, C1 और C2 शामिल हैं, जो एंजाइम उत्प्रेरक कोर का प्रतिनिधित्व करते हैं और काफी सजात (homologous) हैं (चित्र 10.9)। हालांकि, एडेनिल साइक्लेज के सभी समरूप उद्दीपक G–प्रोटीन द्वारा सक्रिय होते हैं, AC5 और AC6 संदामक G–प्रोटीन द्वारा निषेधात्मक रूप से विनियमित होते हैं।



चित्र 10.9 : स्तनधारी एडेनिल साइक्लेज का योजनाबद्ध आरेख। झिल्ली से बद्ध एंजाइम में झिल्ली के कोशिका विलेयी मुख पर दो समान उत्प्रेरक डोमेन और दो अभिन्न झिल्ली डोमेन होते हैं, जिनमें से प्रत्येक में छह ट्रांसमेम्ब्रेन कुंडलिनी होते हैं।

गुआनिल साइक्लेज

एंजाइम गुआनिल साइक्लेज (guanyl cyclase) cGMP (सीजीएमपी) को GTP (जीटीपी) से परिवर्तित करता है और अद्वितीय शरीरक्रियात्मक गुणों के साथ घुलनशील और झिल्ली–बाध्य रूपों में मौजूद है।

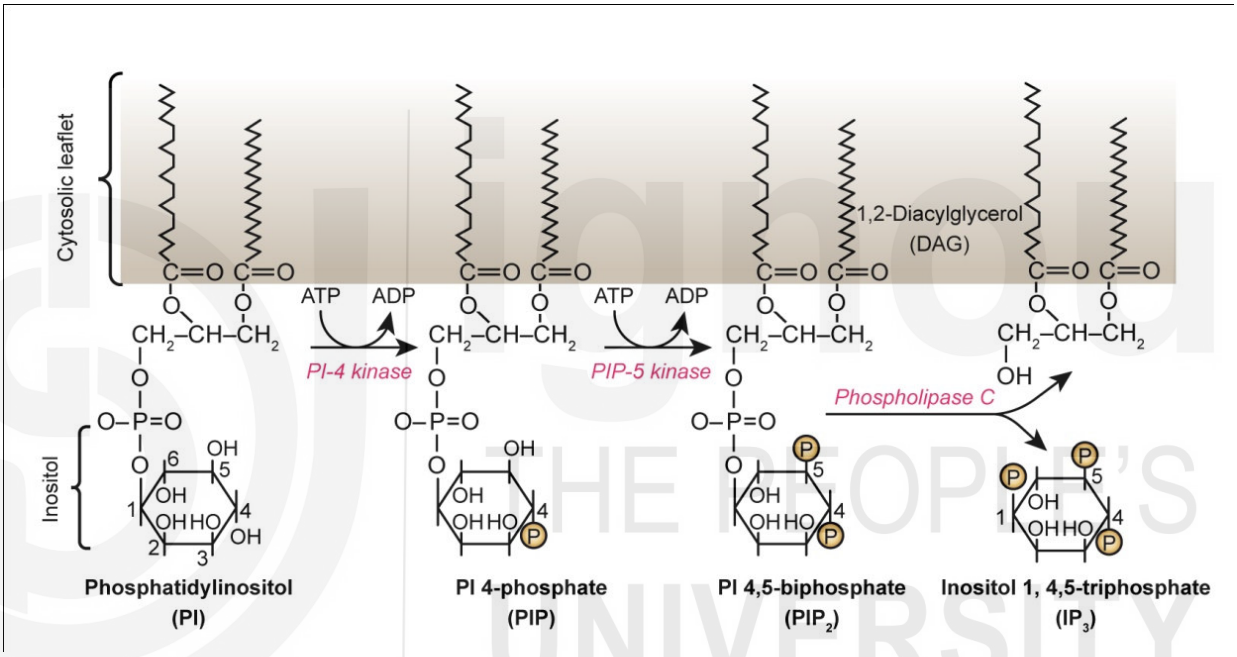
पेप्टाइड्स का एक परिवार, एट्रियोपेप्टिन, गुआनिल साइक्लेज के झिल्ली–बाध्य रूप से बंधता है और उसे सक्रिय करता है जिसके परिणामस्वरूप कुछ मामलों में cGMP में पचास गुना तक की वृद्धि हो जाती है। ऐसा माना जाता है कि वह हृद परिकोष्ठी उत्तकों (cardiac atrial tissues; कार्डियक एट्रियल टिश्यू) में प्रभावों की मध्यस्थता करता है, जिससे नैट्रियूरेसिस, डाईयूरिसिस, वासोडाइलेशन और एल्डोसटेरोन स्त्राव का संदमन होता है। हालांकि, नाइट्रोप्रोसाइड, नाइट्रोग्लिसरीन और नाइट्रिक ऑक्साइड जैसे यौगिकों की एक श्रृंखला cGMP (सीजीएमपी) को बढ़ाने के लिए गुआनिल साइक्लेज के घुलनशील रूप को ट्रिगर करती है, बाद में cGMP–निर्भर प्रोटीन किनेज जी (PKG) को सक्रिय करता है, जो बदले में कई चिकनी पेशी प्रोटीनों को फॉस्फोरीकृत करता है। जाहिर है, यह चिकनी मांसपेशियों के शिथिलीकरण और वासोडिलेशन शामिल होता है।

फॉक्फोडिएस्टरेज़ (पीडीई)

फॉस्फोडिएस्टरेज़ चक्रीय न्यूक्लियोटाइड cAMP (सीएएमपी) और cGMP (सीजीएमपी) को निष्क्रिय करने वाला एकमात्र ज्ञात एंजाइम है। ऐसा यह सीएएमपी और सीजीएमपी के क्रमशः एएमपी और जीएमपी में जल अपघटन के उत्प्रेरण द्वारा करता है। ये एंजाइम, एडेनिल और गुआनिल साइक्लेज के सहयोग से, सीएमपी और सीजीएमपी द्वारा उत्पन्न प्रतिक्रियाओं के आयाम और सीमा को नियंत्रित करते हैं। ऐसा करने में वे प्रकाश, हार्मोन, न्यूरोट्रांसमीटर और गंधकों द्वारा ट्रिगर होने वाली जैविक प्रतिक्रियाओं की एक विस्तृत श्रृंखला को नियंत्रित करते हैं। एंजाइमों के फॉस्फोडिएस्टरेज़ परिवार के कम से कम 11 ज्ञात कार्यात्मक सदस्य हैं जिनमें से (PDE4) पीडीई 4, PDE7 (पीडीई 7) और PDE8 (पीडीई 8), cAMP (सीएएमपी) के लिए विशिष्ट हैं, जबकि PDE5 (पीडीई 5), PDE6 (पीडीई 6) और PDE9 (पीडीई 9), cGMP के लिए विशिष्ट हैं और अन्य cAMP और cGMP दोनों को जल अपघटित करते हैं।

फॉस्फोलिपेज़ सी (पीएलसी)

पीएलसी ध्रुवीय शीर्ष समूह को ग्लिसरॉल आधार ढांचे (back bone) ये जोड़ने वाले ग्लिसरोफॉस्फेट आबंध के जलअपघटन के लिए जिम्मेदार है। यह कुछ जीपीसीआर–ट्रिगर संकेत परक्रमण पथों में, प्लाज्मा–झिल्ली से जुड़े एंजाइम पीएलसी फॉस्फेटिडिलइनोसिटोल 4, 5 – बिस्फॉस्फेट (पीआईपी 2) को जलअपघटित करता है; जिससे दो महत्त्वपूर्ण द्वितीयक संदेशवाहक उत्पन्न होते है : 1, 2– डायसिलग्लिसरॉल (DAG), एक वसारागी अणु जो झिल्ली से जुड़ा रहता है, और इनोसिटोल 1, 4, 5–ट्राइसफॉस्फेट (IP3), जो कोशिका विलेय में विसरित है (चित्र 10.10)। ये द्वितीयक संदेशवाहक, बदले में, प्रोटीन काईनेस सी और अंतःकोशिकी कैल्शियम भंडार के संचालन को विनियमित करते हैं और इस तरह संकेतक पथों की एक सरणी को नियंत्रित करते हैं (चित्र 10.10)।



चित्र 10.10 : प्लाज्मा झिल्ली बाध्य फॉस्फटीडिलइनोसिटोल से फॉस्फोलाइपेज उत्प्रेरित 1,2–डायसिलग्लिसरॉल (DAG) और इनोसिटोल 1,4,5–ट्राइसफॉस्फेट (IP3) का संश्लेषण। DAG, एक वसारागी अणु है जो झिल्ली से जुड़ा रहता है।

10.5 सारांश

अब तक हमने जो पढ़ा है आइए संक्षेप में जानते है :

- हार्मोन रासायनिक संदेशवाहक होते हैं जो शरीर के विभिन्न हिस्सों में कोशिकाओं के बीच परस्पर क्रिया को सुगमित करते हैं। अंतःस्त्रावी कोशिकाओं द्वारा स्त्रावित हार्मोन आमतौर पर परिसंचारी तंत्र के माध्यम से लक्ष्य स्थलों तक पहुंचने और कार्य करने के लिए यात्रा करते हैं; जो स्त्रावी कोशिका/ग्रंथि से शारीरिक रूप से अलग होते हैं। एक प्रोटीन ग्राही से बद्ध हार्मोन ग्राही में एक संरूपीय परिवर्तन को सक्रिय (ट्रिगर) करता है, जो एक ग्राही–लिगैंड परस्परक्रिया द्वारा उत्पन्न संकेत पारक्रमण के अनुक्रमिक कैस्केड से प्रतिक्रिया का संकेत देता है। लिगैंड प्राथमिक संदेशवाहक है।

- ग्राही बंधन के परिणामस्वरूप, लक्ष्य कोशिका के भीतर अन्य अणु या द्वितीयक संदेशवाहक उत्पन्न होते हैं, जो संकेत को एक स्थान से दूसरे स्थान पर रिले करते हैं।

- द्वितीयक संदेशवाहकों को छोटे, तेजी से फैलने वाले अणुओं के रूप में परिभाषित किया जा सकता है जो कोशिका–सतही ग्राहियों द्वारा प्रभावकारी प्रोटीन को प्राप्त प्रारंभिक संकेतों ("पहला संदेश") को प्रसारित करते हैं। इनके उदाहरण हैं : cAMP (सीएएमपी), cGMP (सीजीएमपी), नाइट्रिक ऑक्साइड, Ca^{2+} हैं। कार्यकर तंत्र प्रणाली, सामान्य रूप से, विभिन्न प्रोटीनों से युक्त होती है, आमतौर पर एंजाइम जो सीधे संकेतों का प्रवर्धन कर सकते हैं, या यह संकेतक पारक्रमण पथ शुरू करने के लिए दूसरा संदेशवाहक उत्पन्न कर सकता है। इस संदर्भ में एक प्रभावक वह अणु है जो संकेतक पथ सोपान (कैस्केड) के कोशिकी प्रतिक्रियाओं को करता है। प्रभावकारी एंजाइमों के उदाहरण एडेनिल साइक्लेज, गुआनिल साइक्लेज, फॉस्फालिपेज़ सी और फॉस्फोडिएसटरेज़ हैं।

- सामान्य तौर पर, एक हार्मोन केवल एक ग्राही को व्यक्त करने वाली कोशिकाओं को प्रभावित करता है जिससे वह बद्ध होता है। हालांकि, कुछ मामलों, विभिन्न प्रकार की कोशिकाओं में एक विशिष्ट हार्मोन के लिए अलग–अलग ग्राही पाए जाते हैं। इस प्रकार, एक हार्मोन अन्य कोशिकाओं में विभिन्न प्रतिक्रियाओं को ट्रिगर कर सकता है।

10.6 पाठांत प्रश्न

1. द्वितीय संदेशवाहक क्या होते हैं?
2. संकेतक पारक्रमण (सिग्रल ट्रांसडक्शन) को परिभाषित करें। सिग्रल ट्रांसडक्शन की दो मूलभूत क्रिया विधियां क्या हैं?
3. हार्मोन ग्राहियों की विशेषताओं की सूची बनाएं।
4. जी–प्रोटीन–युग्मित ग्राहियों की संरचना की व्याख्या करें।
5. हॉर्मोन संकेतन में गुआनाइल साइक्लेज की भूमिका की विवेचना कीजिए।

10.7 उत्तर

बोध प्रश्न

1. क) i) सही

   ii) सही

   iii) गलत

   iv) सही

2. ख) i) इंटीग्रल झिल्ली प्रोटीन

ii) डीएनए–बाध्यकारी डोमेन

3. क) प्राथमिक; ग्राही

ख) अंतःकोशिकी संदेशवाहक

ग) लक्ष्य

घ) आलेखीय।

पाठांत प्रश्न

1. कोशिका सतहों से बद्ध हार्मोन, द्वितीय संदेशवाहकों के माध्यम से अंतःकोशिकी उपापचय प्रक्रियाओं के साथ संचार करते हैं। ये संदेशवाहक मध्यस्थ अणु जो लिगैंड–ग्राही परस्पर क्रिया के परिणामस्वरूप उत्पन्न होते हैं। (हार्मोन को ही पहला संदेशवाहक माना जाता है)।

2. संकेत पारक्रमण (सिग्रल ट्रांसडक्शन), जिसे कोशिका संकेतन (सेल सिग्रलिंग) के रूप में भी जाना जाता है, एक ग्राही–लिगैंड की परस्पर क्रिया के जबाव में कोशिका के व्यवहार में बदलाव की क्षमता के रूप में परिभाषित किया गया है। लिगैंड को प्राथमिक संदेशवाहक के रूप में माना जाता है जो ग्राही से बंधे होने पर, लक्ष्य कोशिका के भीतर दूसरे संदेशवाहक उत्पन्न करता है। द्वितीय संदेशवाहक संकेत को एक लक्ष्य स्थल से दूसरे स्थान पर भेजते हैं। सिग्रल ट्रांसडक्शन की दो मूलभूत क्रिया विधिया हैं : छोटे अणुओं द्वारा संकेतों का संचरण जो कोशिकाओं के माध्यम से फैलते हैं और प्रोटीन के फॉस्फोरीलीकरण द्वारा संकेतों का संचरण।

3. हार्मोन ग्राहियों के लक्षण इस प्रकार हैं :

i) हार्मोन अपने ग्राहियों के साथ उत्क्रमणीय तरीके से क्रिया करते हैं, जिसे समीकरण $H + R \rightleftarrows HR$ द्वारा वर्णित किया जा सकता है जहां साम्यावस्था की स्थिति दाईं ओर अच्छी तरह से होती हैं, यानी हार्मोन में उनके ग्राहियों के लिए उच्च बंधुता होती हैं।

ii) ग्राही उच्च स्तर की हार्मोनी विशिष्टता प्रदर्शित करते हैं और अपने हार्मोन को अन्य अणुओं से अलग करते हैं, जिनमें बहुत समान संरचनाएं हो सकती हैं।

iii) हार्मोन (जिसे लिगैंड के रूप में भी जाना जाता है) ग्राही से तब भी बंध जाते है जब इसकी सांद्रता असाधारण रूप से कम हो।

iv) हार्मोन ग्राहियों का स्थान उपयुक्त ऊतक विशिष्ट होता है।

v) हार्मोन से बंधे होने पर ग्राही एक संरूपीय परिवर्तन से गुजरते हैं और संकेतन परक्रमण पथ की एक विस्तृत श्रृंखला को ट्रिगर करते हैं।

4. जीपीसीआर सात जलविरागी ट्रांसमेम्ब्रेन (टीएम) खंडों के एक सामान्य संरचनात्मक संगठन को साझा करते हैं, जिसमें सहसंयोजक बंध द्वारा बद्ध कार्बोहाइड्रेट के साथ एक बाह्य अमीनो सिरा होता है और एक अंतःकोशिकी कार्बोक्सिल सिरा कोशिका द्रव्य के भीतर होता है। सभी जीपीसीआर प्रोटीन के एकल स्ट्रैंड से बने होते हैं और इसमें लगभग 25 अमीनो अम्ली के सात खंड होते हैं, प्रत्येक जलविरागी झिल्ली में फैले हुए α–कुंडलिनी बनाते हैं। ग्राही का गठन करने वाला एकल लंबा पॉलीपेप्टाइड झिल्ली की पूरी चौड़ाई में फैला होता है और झिल्ली के माध्यम से सात बार इस तरह से घूमता है कि मध्यवर्ती भाग का लूप तीन बाह्य कोशिकी लूप (ईसीएल) और तीन अंतःकोशिकी लूप (आईसीएल) बनता हैं।

5. एंजाइम गुआनिल साइक्लेज सीजीएमपी को जीटीपी से परिवर्तित करता है और अद्वितीय शारीरिक गुणों के साथ घुलनशील और झिल्ली–बाध्य रूपों में मौजूद होता है। पेप्टाइड्स का एक परिवार, एट्रियोपेप्टिन, गुआनिल साइक्लेज के झिल्ली–बाध्य रूप से बंधता है और उसे सक्रिय करता है जिसके परिणामस्वरूप कुछ मामलों में cGMP में पचास गुना तक की वृद्धि हो जाती है और ऐसा माना जाता है कि यह कार्डियक एट्रियल टिश्यू में प्रभावों की मध्यस्थता करता है, जिससे नैट्रियूरेसिस, डाईयूरिसिस, वासोडिलेशन और एल्डोस्टेरोन स्त्राव का संदमन होता है। हालांकि, नाइट्रोप्रोसाइड, नाइट्रोग्लिसरीन और नाइट्रिक ऑक्साइड जैसे यौगिकों की एक श्रृंखला cGMP (सीजीएमपी) को बढ़ाने के लिए गुआनिल साइक्लेज के घुलनशील रूप को ट्रिगर करती है, बाद में cGMP–निर्भर प्रोटीन किनेज (PKG) को सक्रिय करता है, जो बदले में कई चिकनी पेशी प्रोटीनों को फॉस्फोरीकृत करता है। इस तरह यह चिकनी मांसपेशियों के शिथिलीकरण और वासोडाइलेशन से जुड़ा होता है।

इकाई 11

हार्मोन मध्यस्थ संकेतन II

इकाई की रूपरेखा

11.1 प्रस्तावना

अपेक्षित अध्ययन परिणाम

11.2 प्रोटीन काईनेसेस

प्रोटीन काइनेज ए (PKA, पीकेए)

प्रोटीन काइनेज बी (PKB, पीकेबी)

प्रोटीन काइनेज सी (PKC, पीकेसी)

प्रोटीन काइनेज जी (PKG, पीकेजी)

11.3 ग्राही टाइरोसिनकाईनेस

एपिडर्मल वृद्धि कारक (EGF)

इंसुलिन ग्राही

एरिथ्रोपोइटिन ग्राही (EpoR)

Ras-MAP काईनेस सोपानी

JAK-STAT मार्ग

11.4 स्टेरॉयड हार्मोन ग्राही–मध्यस्थ जीन विनियमन

11.5 ग्राही विनियमन और क्रॉस–स्टॉक

11.6 सारांश

11.7 पाठांत प्रश्न

11.8 उत्तर

11.1 प्रस्तावना

आप पहले से ही जानते हैं कि कोशिकाओं में ग्राही नामक प्रोटीन होते हैं जो संकेतक (सिग्रलिंग) अणुओं से जुड़ते हैं और एक जैविक प्रतिक्रिया की नई शुरूवात करते हैं। कोशिकाओं में कई ग्राही प्रकार पाए जाते हैं, और अलग–कोशिका प्रकारों में अलग–अलग अणुओं के लिए विशष्ट ग्राहियों की अलग–अलग आबादी होती है। सामान्य तौर पर, ग्राही पार झिल्ली प्रोटीन होते हैं, जो संकेतन अणुओं से बद्ध होते हैं और तत्पश्चात् विभिन्न संकेतन मार्गों के सोपान के माध्यम से सिग्रल को प्रसारित करते हैं।

पिछली इकाई में आपने हार्मोन ग्राही, हार्मोन–ग्राही बंधन और द्वितीय सन्देशवाहक (सेकेंड मैसेंजर) और प्रभावी (इफेक्टर) प्रोटीन के माध्यम से हार्मोन संकेतन के बारे में

सीखा। इस इकाई में आप प्रोटीन काइनेसेस (kinases) के बारे में जानेंगे जो विशिष्ट अमीनो अम्लों के फास्फोरिलीकरण द्वारा प्रोटीन की जैविक गतिविधि को नियंत्रित करते हैं। आप अनेक पॉलीपेप्टाइड वृद्धि कारकों, साइटोकाइन और हार्मोन के लिए अन्य उच्च–बंधुता कोशिका सतह ग्राहियों के बारे में भी जानेंगे। इसके अलावा, आप ग्राही विनियमन के तंत्र और एक सिग्रल पारक्रमण (ट्रांसडक्शन) पथ के एक या अधिक घटकों के बीच मिश्रित वार्ता (क्रॉसस्टॉक; crosstalk) के बारे में भी जान पाएंगे।

अपेक्षित अध्ययन परिणाम

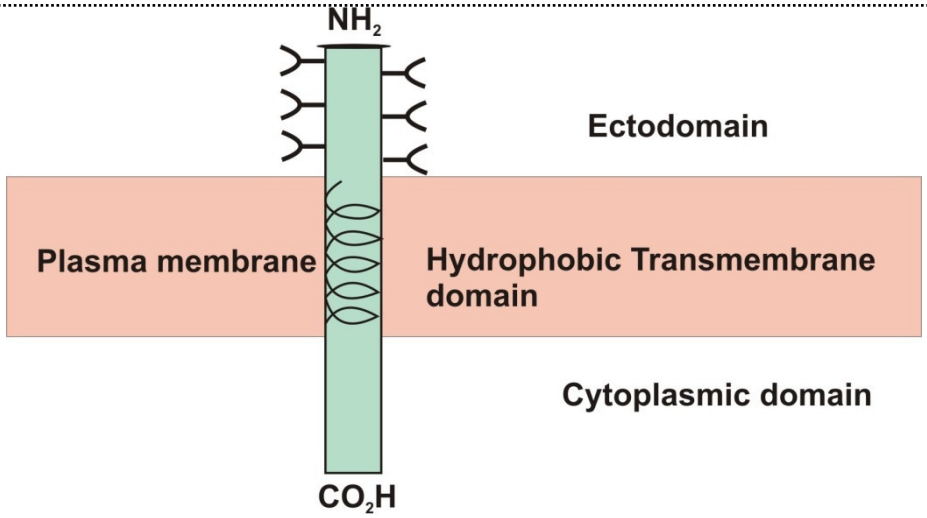
इस इकाई को अध्ययन करने के बाद, आप योग्य हो जाएंगे कि :

- ❖ प्रोटीन काइनेसेस को परिभाषित करें;
- ❖ बाह्यकोशिकीय और अंतःकोशिकीय हार्मोन ग्राहियों के बीच अंतर स्पष्ट करें;
- ❖ हार्मोन–ग्राही बंधन को परिभाषित करें;
- ❖ कोशिका सतह ग्राहियों के लिए हार्मोन बंधन की व्याख्या करें;
- ❖ हार्मोन संकेतन को परिभाषित करें;
- ❖ हार्मोन संकेतन पथों की व्याख्या करे; और
- ❖ विभिन्न प्रकार के हार्मोन–विनियमित शारीरिक प्रक्रियाओं में उत्तेजना, हार्मोन मोचन, संकेत उत्पत्ति और प्रभावकारी प्रतिक्रिया की भूमिका की व्याख्या करें।

11.2 प्रोटीन काइनेसेस

पिछली इकाई में आपने पढ़ा कि एक बार ग्राही प्रोटीन को एक संकेत प्राप्त हो जाता है, तो यह एक गठनात्मक (संरूपीय) परिवर्तन से गुजरता है और सक्रिय ग्राही छोटे अणुओं के संश्लेषण को ट्रिगर करता है जिन्हें द्वितीय संदेशवाहक (सेकेंड मैसेंजर, second massenger) कहा जाता है, जो अंतःकोशिकी (intarcellular signalling; इंट्रासेल्युलर सिग्रलिंग) मार्ग को नियुक्त और समक्रमिक (synchronize; सिंक्रनाइज़) करते हैं।

उदाहरण के लिए चक्रीय AMP (cAMP), संकेत पारक्रमण सोपान में शामिल एक विशिष्ट दूसरा संदेशवाहक, एंजाइम एडेनिल साइक्लेज के प्रभाव में एटीपी से संश्लेषित होता है। इसके अलावा, प्रारंभिक संकेत को बढ़ाने के लिए, ये cAMP अणु एंजाइम प्रोटीन काइनेस को सक्रिय करते हैं। जो कोशिकाओं में कई विविध भूमिकाओं के साथ संकेतन प्रोटीन के एक अन्य वर्ग का प्रतिनिधित्व करता है और संकेत पारक्रमण पथों के सामंजस्य के लिए विभिन्न तरीकों से विनियमित किया जा सकता है।



चित्र 11.1 : एक झिल्ली में विस्तारित कोशिका सतह ग्राही का योजनाबद्ध निरूपण।

इन ग्राहियों में तीन पहचान योग्य डोमेन होते हैं : एक्टोडोमैन, जो एक झिल्ली में विस्तारित हुए घटक द्वारा अंतःकोशिकी कोशिकाद्रव्यी (cytoplasmic; साइटोप्लाज्मिक) डोमेन से जुड़ा होता है (चित्र 11.1)। प्रत्येक डोमेन की अपनी विशिष्ट संरचनात्मक विशेषताएं होती हैं, जो इसके स्थान और कार्य को दर्शाती हैं। हार्मोन एक्टोडोमेन के लिगैंड–बंधन क्षेत्र (ligand binding pocket) में उच्च स्तर की विशिष्टता के साथ बंधता है। N–सिरा एक्टोडोमैन ग्लाइकोसिलीकरण स्थलों (–c) में समृद्ध होते है। हालाँकि, ट्रांसमेम्ब्रेन डोमेन चित्र 11.1 में दिखाए गए की तुलना में बहुत अधिक जटिल हो सकता है। C–सिरे पर कोशिकाद्रव्यी डोमेन या तो अपनी संचना के भीतर या ग्राही उपखंडों में से एक के भीतर अलग–अलग ग्राहियों के अलग–अलग उत्प्रेरक तंत्र के साथ जुड़ा होता है, जैसा कि इकाई 10 के चित्र 10.2 में दिखाया गया है।

मानव कीनोम : मानव कीनोम, मानव जीनोम के भीतर प्रोटीन काइनेसेस की कुल इकाई के लिए इस्तेमाल किया जाने वाला शब्द है। यह 518 प्रोटीन काइनेज जीन से बना है और सभी मानव जीनों का लगभग 2% है। मानव कीनोम में 428 प्रोटीन सीरीन/थ्रियोनीन काइनेसेस और 90 प्रोटीन टाइरोसीन काइनेसेस शामिल हैं।

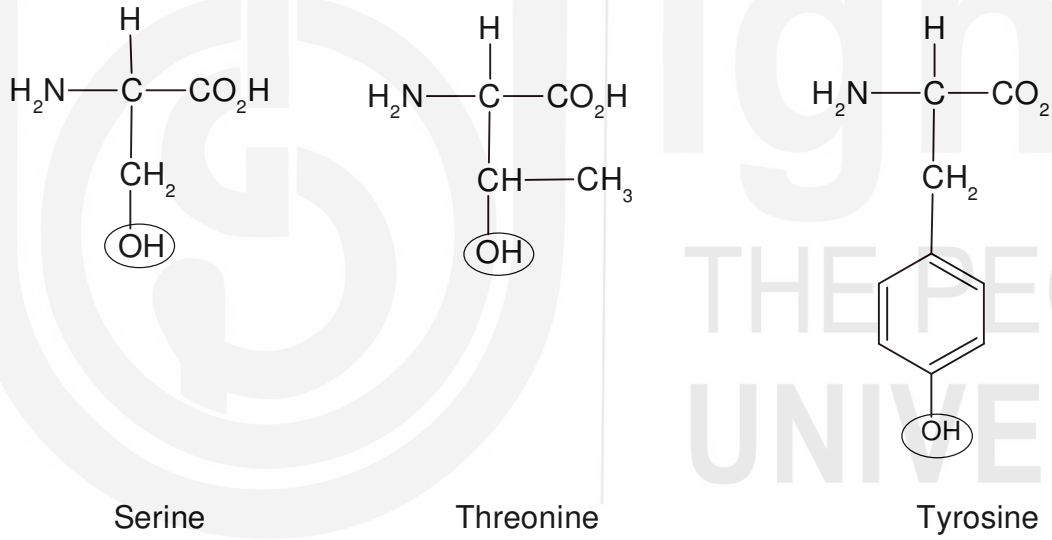
प्रोटीन काइनेसिस कोशिका द्रव्यी एंजाइम होते हैं, तो विभिन्न प्रकार की कोशिकाओं में प्रायः बाहरी संकतों में जवाब में प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण द्वारा लक्ष्य कोशिकाओं के प्रोटीन की जैविक गतिविधि को नियंत्रित करते हैं। सब्सट्रेट प्रोटीन के आधार पर फॉस्फोरिलीकरण प्रोटीन काइनेसिस के उत्प्रेरक गुणों को बदल सकता है और कोशिकी कार्यों पर संकेतन मार्गों के प्रभावों को बढ़ा या संदमित कर सकता है। कई प्रोटीन हार्मोन ग्राही स्वयं प्रोटीन काइनेसिस होते हैं जो हार्मोन के बंधन से सक्रिय हो जाते हैं। इंसुलिन ग्राही के रूप में काइनेस वाले हार्मोन का एक उत्कृष्ट उदाहरण है।

प्रोटीन काइनेसेस प्रोटीन को एटीपी के सिरे के एक फॉस्फोरिल समूह को एक हाइड्रॉक्सिल समूह वाले अमीनों अम्ल अवशेषों सेरीन, थ्रेओनीन, या टाइरोसिन अवशेष की पार्श्व श्रृंखला में स्थानांतरित करके प्रोटीन को फॉस्फोरिलीकृत (एक फॉस्फेट समूह को जोड़ना) करते है। जिससे एक निष्क्रिय से सक्रिय प्रोटीन रूप में एक गठनात्मक परिवर्तन होता है। प्रोटीन काइनेसेस विकास, विभेदन और कोशिका विभाजन सहित अनेक संकेत पारगमन पथों में भाग लेते हैं।

प्रोटीन काइनेसेस संकेतन प्रोटीन का एक बड़ा परिवार बनाते हैं। मानव जीनोम में 500 से अधिक प्रोटीन कोडित किए जाते हैं, जिसे तीन प्रमुख समूहों में विभाजित किया जा सकता है :

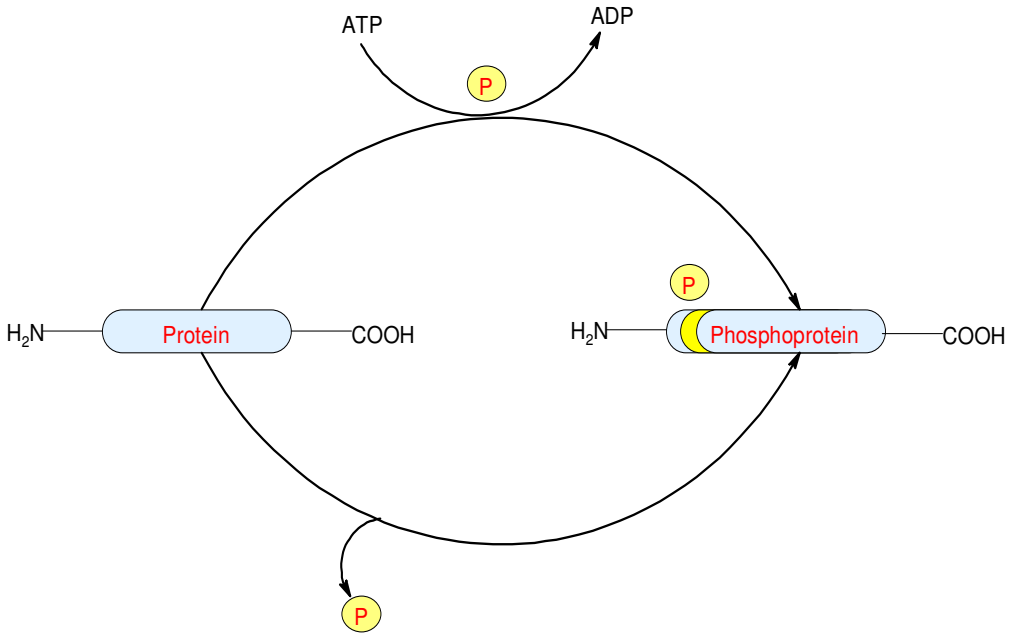
- एंजाइम जो प्रोटीन–सेरीन/थ्रेओनीन के फॉस्फोरिलीकरण को उत्प्रेरित करते हैं,
- एंजाइम जो प्रोटीन–टायरोसिन के फॉस्फोरिलीकरण को उत्प्रेरित करते हैं, और
- एंजाइम जो प्रोटीन–टायरोसिन और प्रोटीन–थ्रेओनाइन दोनों के फॉस्फोरिलीकरण को उत्प्रेरित करते हैं, अर्थात, दोहरे विशिष्टता वाले प्रोटीन काइनेसेस।

प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण : प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण मुख्य रूप में सभी जैविक कार्यों को आकार देने के कोशिकी विनियमन का अत्यंत प्रचुर रूप है। प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण, सामान्य रूप से, गठनात्मक परिवर्तनों को प्रेरित करता है, जिससे प्रोटीन कार्य प्रभावित होता है। कोशिकी संकेतन आम तौर पर प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण के जटिल पैटर्न को उनके कार्यात्मक प्रभाव उत्पन्न करने के लिए प्रेरित करता है। 85% से अधिक प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण सेरीन अवशेषों पर, लगभग 12% थ्रेओनीन अवशेषों पर और 2% से कम टायरोसिन अवशेषों पर होता है। सेरीन, थ्रेओनीन और टायरोसिन प्रत्येक अमीनो अम्ल में एक ध्रुवीय हाइड्रॉक्सिल समूह होता है (चित्र 11.2)।



चित्र 11.2 : सेरीन, थ्रेओनीन और टायरोसिन अमीनों अम्लों की संरचना।

ये अमीनो अम्ल में ध्रुवीय हाइड्रॉक्सिल समूह उपस्थिति होते हैं, जिन्हें फॉस्फोरिलीकृत किया जा सकता है। टायरोसिन दूसरों से अलग है क्योंकि यह फेनोलिक समूह वाला एकमात्र एमिनो अम्ल है। इसका फॉस्फोरिलीकरण अतःकोशिकी संकेतन मार्ग में विशेष रूप से विशिष्ट आणविक स्विच (molecular switch) प्रदान करता है। जैसे कि पहले बताया गया है कि इन अमीनों को फॉस्फोरिलीकृत किया जा सकता है, जब ATP के अंतिम फॉस्फोरिल समूह को अमीनो अम्ल के ध्रवीय हाइड्रॉक्सिल समूह के लिए स्थनांतरित किया जाता है। यह संहसंयोजी रूप से बाध्य फॉस्फेट उत्पन्न करता है। इस अभिक्रिया के दौरान होने वाला ऊर्जा स्थानांतरण फॉस्फोरिलीकृत प्रोटीन को एक सक्रिय गठनात्मक परिवर्तन की ओर ले जाता है (चित्र 11.3)।

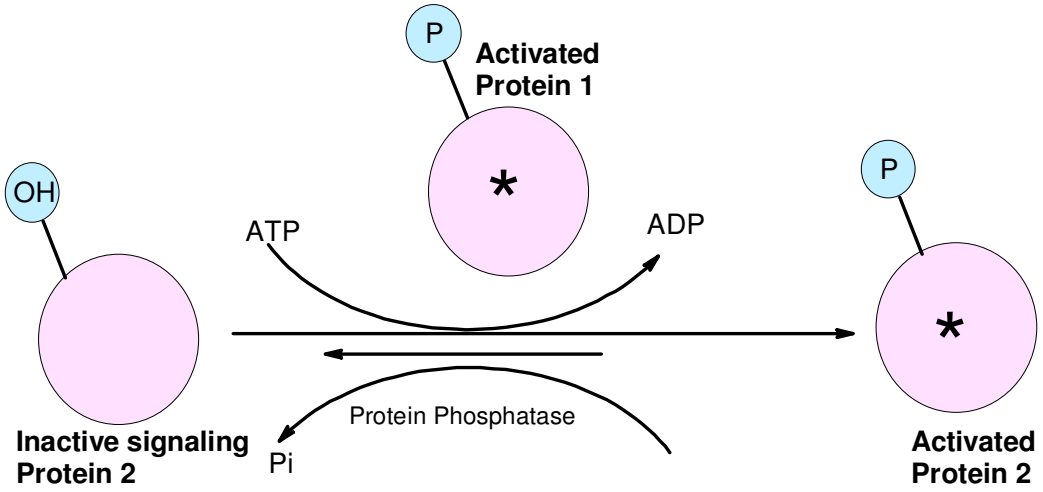


चित्र 11.3 : प्रोटीन फास्फारिलीकरण का नियामक तंत्र।

सक्रिय स्थल : एन्जाइम के सक्रिय स्थल के कार्यकारी रूप से आवश्यक दो क्षेत्र होते हैं : एक जो सबस्ट्रेट को पहचानता और उनसे बद्ध होता है और दूसरी जो सबस्ट्रेट के बाध्य होने के बाद अभिक्रिया का उत्प्रेरण करता है। कुछ एन्जाइम में सक्रिय क्षेत्र सबस्ट्रेट बंधन क्षेत्र का हिस्सा होता है; अन्य में दोनों भाग सरंचनात्मक और क्रियात्मक रूप से भिन्न होते हैं।

प्रोटीन काइनेसेस की विरोधी क्रियाएं प्रोटीन फास्फारिलीकरण को नियंत्रित करती हैं और एटीपी के γ–फॉस्फेट समूह को संबंधित अमीनो अम्ल अवशेष की पार्श्व श्रृंखला में हाइड्रॉक्सिल समूह में स्थानांतरित करने के लिए उत्प्रेरित करती हैं। प्रोटीन फॉस्फेटेस फॉस्फोप्रोटीन को वापस एक विफॉस्फोरिलीकृत प्रोटीन में बदल देती हैं। प्रोटीन काइनेज द्वारा सब्सट्रेट का फॉस्फोरिलीकरण एक ऊर्जा की खपत करने वाला चरण है जो ATP को ADP को में परिवर्तित करता है। एक प्रोटीन फॉस्फेटेज द्वारा एक फॉस्फोप्रोटीन के विफॉस्फोरिलीकरण में फॉस्फोएस्टर बंधन का जल अपघटन शामिल होता है, जिससे एक PO_4^{3-} समूह मुक्त होती है।

कई संकेतन पथों में, फॉस्फोरिलीकृत प्रोटीन, प्रोटीन काईनेस के रूप में कार्य कर सकता है और अनुक्रम में अगले प्रोटीन को फॉस्फोरिलीकृत कर सकता है। इस तरह, एक फॉस्फोरिलीकरण सोपन होता है, जो एक मार्ग के साथ अंतःकोशिकी संकेत को रिले करता है (चित्र 11.4)।



चित्र 11.4 : प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण-विफॉस्फोरिलीकरण और संकेतन सोपान की उत्पत्ति।

फॉस्फोरिलीकृत प्रोटीन 1 काइनेज के रूप में कार्य करता है और प्रोटीन 2 को फॉस्फोरिलीकृत करता है। आगे और पीछे की अभिक्रियाएं क्रमशः प्रोटीन काईनेसेस और फॉस्फेटेस द्वारा उत्प्रेरित होती हैं। इनमें एक उच्च डिग्री अमीनो अम्ल विशिष्टता होती है, जिससे कि सेरीन/थ्रेओनीन कानेसेस आमतौर पर टाइरोसिन अवशेषों के साथ अनिवार्य रूप से कोई क्रॉस–रिएक्टिविटी नहीं दिखाते हैं। इसके विपरीत, टाइरोसिन अवशेषों पर प्रतिक्रिया करने वाले काइनेसेस और फॉस्फेटेसेस आमतौर पर सेरीन और थ्रेओनीन अवशेषों के साथ प्रतिक्रिया नहीं करते हैं।

विषमचतुर्तयी : एक विषमचतुर्तयी वह प्रोटीन हे, जिसमें चार उपइकाईयां गैर–सह संयोजी रूप से बद्ध होती हैं और इनमें सभी उपइकाइयां समान नहीं होती।

11.2.1 प्रोटीन काईनेज ए (PKA)

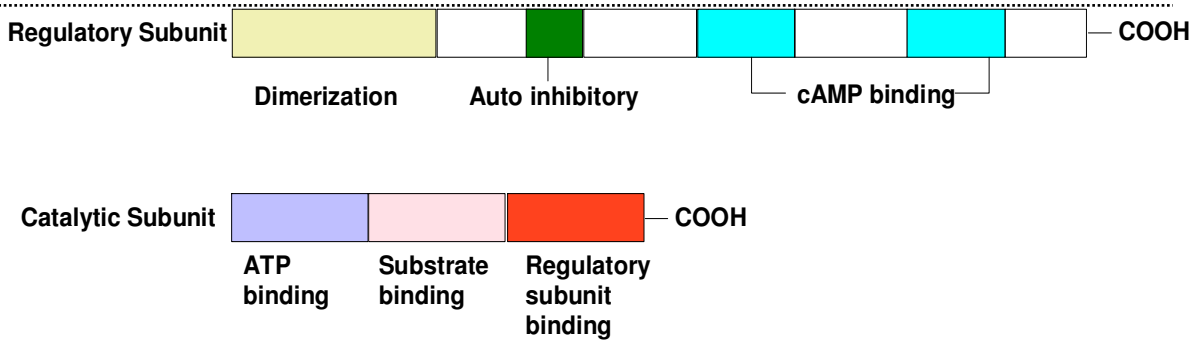
प्रोटीन काईनेज ए (PKA) प्रोटीन काईनेज, जिसे चक्रीय एएमपी–निर्भर प्रोटीन काईनेज के रूप में भी जाना जाता है, सबसे अच्छा अभिलक्षित प्रोटीन काईनेज है जो विभिन्न जैविक प्रक्रियाओं में मौलिक भूमिका निभाता है। पीकेए की गतिविधि कोशिकाओं के भीतर सीएमपी के परिवर्तनशील स्तरों पर निर्भर है; इसलिए इसका नाम एक cAMP –निर्भर प्रोटीन काईनेज है।

चूंकि ससीमकेन्द्रकों प्रोटीन काईनेसेस एक सामान्य सुपरफैमिली में फिट हाते हैं, फॉस्फोरिलीकरण का तंत्र और उनके सक्रिय स्थलों की संरचना उन सभी में बहुत समान होती है। इसलिए, प्रोटीन काईनेज ए के उत्प्रेरक उपइकाई का विवरण वर्तमान में ज्ञात सभी प्रोटीन काईनेसेस के लिए एक सामान्य मॉडल के रूप में कार्य करता है।

PKA **की संरचना** : PKA होलोएनजाइम एक विषमचतुर्तयी (heterotetramer; हेटरोटेट्रामर) है जिसमें एक नियामक उपइकाई द्विलक और दो उत्प्रेरक उपइकाईयां शामिल हैं (चित्र 11.5)।

- **उत्प्रेरक उपइकाई** : इस उपइकाई में एंजाइम की सक्रिय स्थल (active site) होती है, जो 240–अवशेषी "काईनेज कोर" होती है। काइनेज कोर एटीपी (फॉस्फेट का स्त्रोत) और लक्ष्य पेप्टाइड अनुक्रम के बंधन के लिए जवाबदेह है। इसमें एक डोमेन भी शामिल है जो नियामक सबयूनिट से बद्ध होता है इसलिए एटीपी से फॉस्फेट समूह के लक्ष्य अनुक्रम में थ्रेओनीन, टायरोसिन या सेरीन अवशेषों के परिणामी हस्तांतरण के लिए जिम्मेदार है। उत्प्रेरक सबयूनिट के लिए तीन आइसोटाइप (अल्फा, बीटा और गामा) की पहचान की गई है।

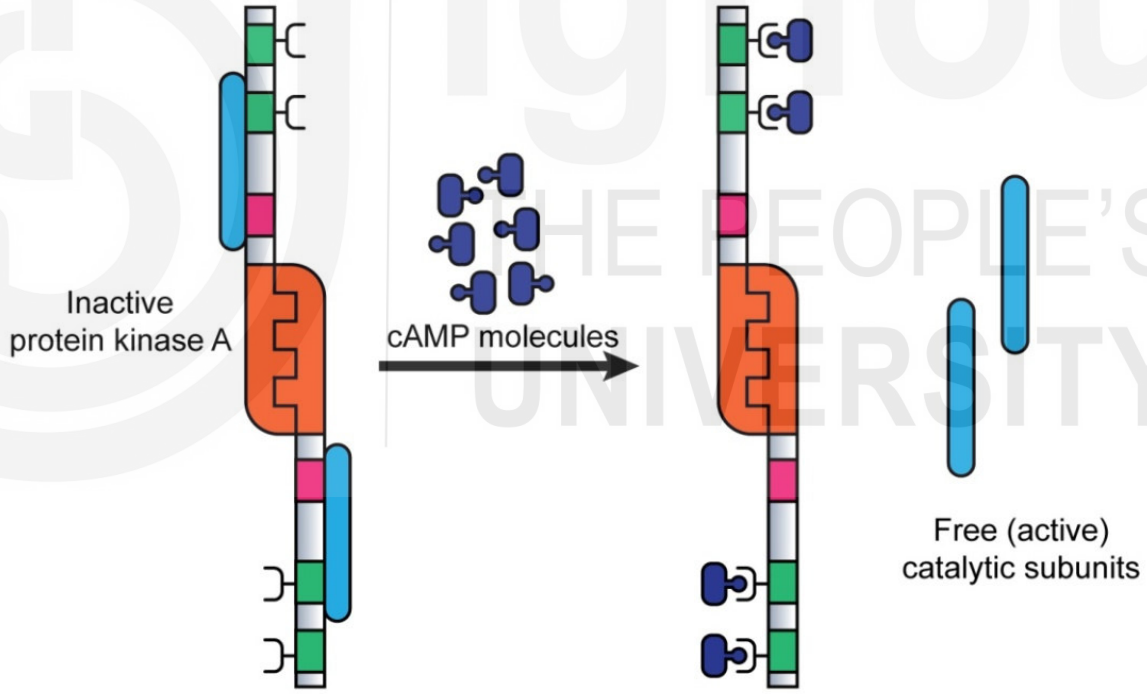
- **नियामक सबयूनिट** : पीकेए की विशिष्ट नियामक इकाई में एक संरक्षित संरचना होती है और इसमें एक एन सिरे पर द्विलकीकरण क्षेत्र (N- terminal dimerization domain ;N–टर्मिनल डिमराइजेशन डोमेन), स्वसंदमनात्मक क्षेत्र (autoinhibitory domain; ऑटो–इनहिबिटरी डोमेन), दो cAMP–बंधन क्षेत्र ए और बी (cAMP binding domains A and B) (दोनों व्यापक अनुक्रम समानता दिखाते हैं) शामिल हैं। ऑटो–इनहिबिटरी डोमेन उत्प्रेरक सबयूनिट के साथ परस्पर क्रिया करने के लिए छद्म सब्सट्रेट के रूप में कार्य करता है। नियामक सबयूनिट दो प्रमुख रूपों में मौजूद हैं – RI और RII, प्रत्येक रूप में दो उपप्रकार अल्फा और बीटा होते हैं, हालांकि प्रत्येक आइसोटाइप को अलग–अलग जीन कोडित करते हैं (चित्र 11.5)।



चित्र 11.5 : प्रोटीन कीनेज ए की विशिष्ट संरचना का योजनाबद्ध निरूपण।

गतिविधि का विनियमन : PKA की गतिविधि को cAMP की अंतःकोशिकी सांद्रता को परिवर्तन करके नियंत्रित किया जाता है। cAMP के निम्न स्तरों पर, PKA के उत्प्रेरक सबयूनिट नियामक सबयूनिट द्विलक से बंधे होते हैं और निष्क्रिय होते हैं।

cAMP की सांद्रता बढ़ाने से PKA सक्रिय हो जाता है, प्रत्येक नियामक इकाई के दो cAMP अणुओं से बद्ध होकर, निष्क्रिय उत्प्रेरक उपइकाईयों को मुक्त करने के लिए एक गठनात्मक परिवर्तन की ओर जाता है। ये मुक्त उत्प्रेरक उपइकाईयां अब अपने लक्ष्यों को फॉस्फारिलीकृत करने के लिए एक कार्यात्मक स्थिति में हैं (चित्र 11.6)।



चित्र 11.6 : प्रोटीन काईनेज ए की क्रिया का विनियमन।

cAMP की कमी में, नियामक उपइकाइयों काइनेस गतिविधि को रोकने के लिए उत्प्रेरक डोमेन को ढक लेते हैं। cAMP नियामक उपइकाइयों से बद्ध होता है और संकुल को विघटित करने का कारण बनता है, फलस्वरूप उत्प्रेरक उपइकाइयों को अनावरित कर देता है, जिससे वे सक्रिय होते हैं। प्रोटीन काईनेज ए की गतिविधी को प्रोटीन काईनेज संदमकों द्वारा भी नियंत्रित किया जाता है, जो अक्सर उत्प्रेरक उपइकाई के लिए छद्म–सब्सट्रेट के रूप में कार्य करता है, इसे प्रामाणिक फॉस्फोरिलीकरण लक्ष्यों से "बाधित" करता है।

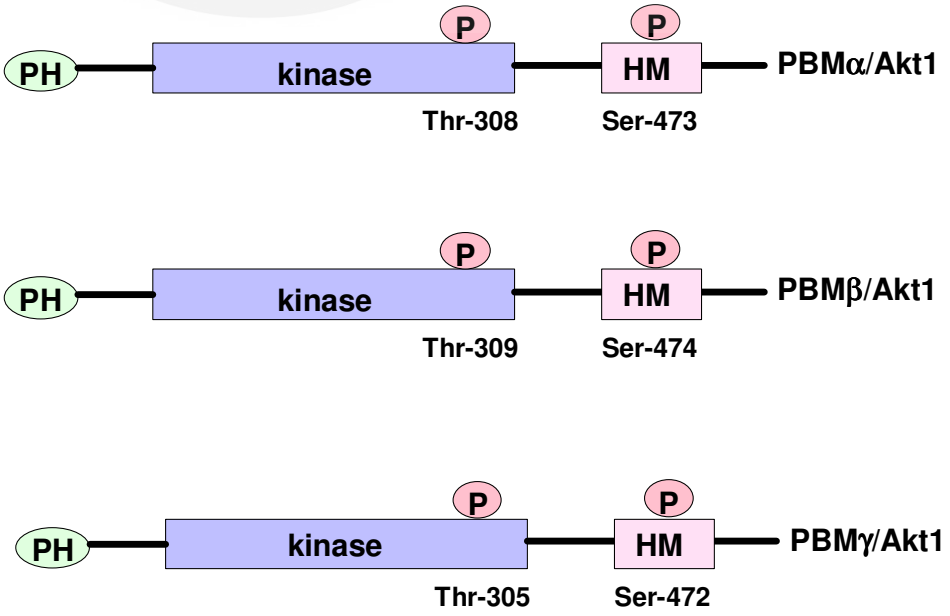
11.2.2 प्रोटीन काईनेज बी (पीकेबी)

प्रोटीन काईनेज बी (पीकेबी) प्रोटीन काईनेज बी (जिसे Akt भी कहा जाता है) एक सेरीन/थ्रेओनीन–विशिष्ट प्रोटीन काईनेज है जो कोशिकी अस्तित्व, विकास, प्रसार, एंजियोजेनेसिस, माइग्रेशन, एपोप्टोसिस, ऑटोफैगी और लिपिड और ग्लाइकोजन चयापचय के लिए महत्त्वपूर्ण कई कोशिकी प्रक्रियाओं में शामिल है। PKB उपपरिवार में तीन स्तनधारी समरूप (isoforms), PKBα, PKBβ, और PKBγ (Akt1, Akt2 और Akt3 क्रमशः) शामिल हैं (चित्र 11.7)। ये समरूप अलग–अलग जीन के उत्पाद हैं और एक संरक्षित संरचना साझा करते हैं जिसमें तीन कार्यात्मक डोमेन शामिल हैं : एक एन–सिरे पर प्लेकस्ट्रिन होमोलॉजी डोमेन, एक केंद्रीय काईनेज डोमेन, और एक सी–सिरे पर नियामक डोमेन जिसमें जलविरागी मोटिफ फॉस्फोरिलीकरण स्थल होता है। पीकेबी का केंद्रीय काइनेज डोमेन प्रोटीन काईनेज ए (पीकेए) और प्रोटीन काईनेज सी (पीकेसी) के जैसा होता है; इसलिए इसे पहले ए और सी–प्रोटीन काईनेज (RAC– PK) कहा जाता था, लेकिन बाद में इसे पुनः PKB का नाम दिया।

प्लेकस्ट्रिन : यह प्लेटलेट में प्रोटीन काईनेज सी का प्रमुख सब्सट्रेट है, हालांकि इसका सटीक कार्य ज्ञात नहीं है। इस प्रोटीन में दो प्लेक्स्ट्रिन होमोलॉजी (पीएच) डोमेन होते हैं; जो लगभग 120 एमिनो एसिड के छोटे मॉडयूल होते हैं। जो कोशिका संकेतन और अन्य झिल्ली से जुड़ी प्रक्रियाओं में शामिल कई प्रोटीन में पाए जाते हैं।

PKB का नियमन एक बहुचरणी प्रक्रिया है और अनेक उद्दीपक रिसेप्टर टाइरोसिन काईनेसेस जैसे प्लेटलेट–व्युत्पन्न वृद्धि कारक ग्राही (पीडीजीएफ–आर), इंसुलिन, एपिडर्मल ग्रोथ फैक्टर (ईजीएफ), बेसिक फाइब्रोब्लास्ट वृद्धि कारक (bFGF) और इंसुलिन जैसे वृद्धि कारक I (IFG-I) के सक्रियण के माध्यम से पीके बी को ट्रिगर कर सकते हैं। इन लिगेंड द्वारा पीकेबी के सक्रियण को पीआई 3–काईनेज संदमकों द्वारा अवरूद्ध किया जाता है, जो एक उत्प्रेरक उपइकाई और एक नियामक उपइकाई वाले विषमद्वितयी एंजाइम होते हैं (चित्र 11.7)।

स्तनधारी ऊतकों में, PKBα और PKBβ दोनों को सार्वभौमिक रूप से व्यक्त किया जाता है, परन्तु, PKBγ आमतौर पर उन ऊतकों में नहीं देखा जाता है जहां α और β समरूप अत्यधिक व्यक्त किए जाते हैं, लेकिन तुलनात्मक रूप से मस्तिष्क और वृषण में उच्च अभिव्यक्ति दिखाते हैं। PKBβ मुख्य रूप से इंसुलिन लक्ष्य ऊतकों, जैसे वसा कोशिकाओं, यकृत और कंकाल की मांसपेशी में अभिव्यक्त किया जाता है।



चित्र 11.7 : पीकेबी समरूपों की डोमेन संरचना की योजनाबद्ध प्रस्तुति।

सभी PKB समरूपों में अणु के मध्य क्षेत्र में काईनेज डोमेन होता है, और यह अन्य AGC काईनेसेस जैसे PKA और PKC से एक उच्च समानता साझा करता है। PH (प्लेक्स्ट्रिन होमोलॉजी) डोमेन फ़ॉस्फ़ोइनोसाइटाइड–बांइडिंग मॉडयूल के रूप में कार्य करता है। हाइड्रोफोबिक मोटिफ (HM) काइनेज डोमेन से सटे कार्बोक्सिल–सिरे पर स्थित होता है। सभी तीन PKB समरूपों में लगभग 40 अमीनो अम्लों का कार्बोक्सिल–सिरे पर विस्तार होता है। इस क्षेत्र में काईनेज डोमेन के सक्रियण लूप में फॉस्फोरिलीकरण स्थलों के लिए विशिष्ट F-X-X-F/Y-S/T-Y/F,Q हाइड्रोफोबिक मोटिफ होता है (जहां X कोई भी अमीनो अम्ल हो सकता है) ।

11.2.3 प्रोटीन काईनेज सी (PKC)

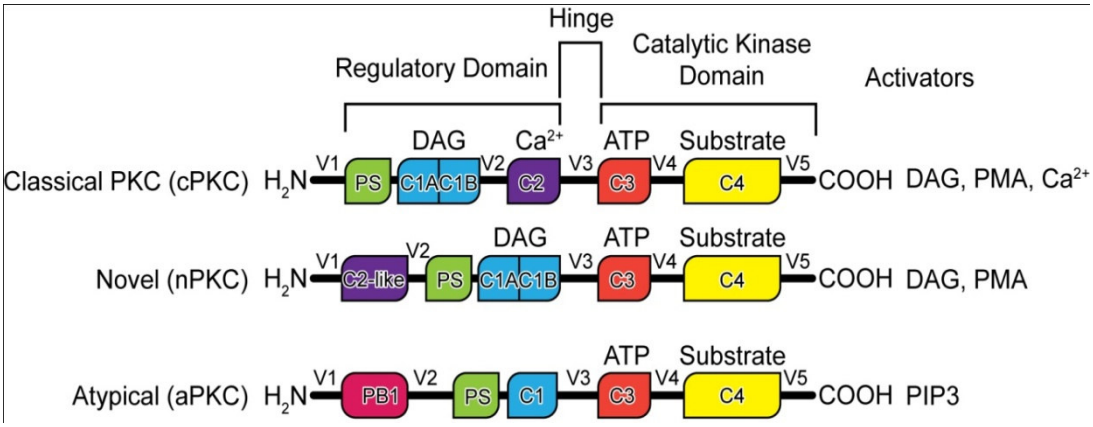
प्रोटीन काईनेज सी (पीकेसी) अधिकांश कोशिका प्रकारों में पाए जाने वाले सेरीन–थ्रेओनीन काईननेसेस का एक परिवार है, जिसकी गतिविधि का जीन अभिव्यक्ति, प्रोटीन स्त्राव, कोशिका प्रसार और शोथ प्रतिक्रिया सहित विविध कोशिकी संकेतों पर एक गहरा प्रभाव पड़ता है। इसके अलावा, PKC कई Ca^{2+} निर्भर प्रक्रियाओं में एक रिले सिस्टम के रूप में एक महत्त्वपूर्ण भूमिका निभाता है और लिपिड जल अपघटन के प्रवर्तक के रूप में सहायता करता है।

पीकेसी एंजाइमों के बड़े परिवार में 10 अलग–अलग समरूप और 100 से अधिक विशिष्ट सबस्ट्रेट की पहचान की गई है। यद्यपि सभी PKC समरूप अपनी संरचना, सहसंयोजक आवश्यकता और सब्सेट्रेट विशिष्टता में भिन्न होते हैं, वे NH_2–सिरे पर नियामक डोमेन और COOH– सिरे पर उत्प्रेरक डोमेन से मिलकर बने होते हैं। चार संरक्षित (C1-C4) और पांच चर (V1-V5) क्षेत्र हैं। C1 और C2 क्षेत्र नियामक डोमेन में स्थित हैं; C3 और C4 क्षेत्र उत्प्रेरक डोमेन के भीतर समाहित हैं। उनके पास प्रायः छद्म–सब्सट्रेट स्थल (pseudo-substrate site; PS) भी होता है, जो काइनेस को अवरूद्ध करने और प्रोटीन को अपने निष्क्रिय रूप में रखने में शामिल हेाता है। छद्म सब्सेट्रट स्थल और C4 क्षेत्र के बीच संबंध एक निष्क्रिय PKC रचना की ओर हो जाता है। C1 क्षेत्र में एक या दो सिस्टीन–समृद्ध डोमेन हैं, जो जिंक फिंगर संरचना बनाते हैं। ये संरचनाएं सक्रिय यौगिकों को बांधती हैं, जैसे लिपिड डीएजी (डायसाइलग्लिसरॉल) और फोर्बोल एस्टर पीएमए। C2 क्षेत्र Ca^{2+} के बंधन में शामिल होता है और इसमें एक तथाकथित 'छद्म–एंकरिंग साइट' शामिल है, जो सक्रिय C-kinase के लिए ग्राहियों (RACKs; receptors for activated protein kinases C) के लिए PKC बंधन के नियमन में शामिल है। PKC के C3 और C4 क्षेत्र में 12 संरक्षित काइनेज उप डोमेन होते हैं : C3 क्षेत्र में ATP बंधन स्थल होती है, जबकि C4 क्षेत्र सब्सट्रेट बंधन के लिए जिम्मेदार होता है।

नतीजतन, पीकेसी परिवार के 10 सदस्यों को तीन प्रमुख समहों में विभाजित किया गया है : क्लासिक PKCs (cPKCs), जिसमें α, βI, βII और γ समरूप शामिल हैं; गैर–क्लासिकल या नावेल PKCs (nPKCs), जिसमें θ, η, ε, δ समरूप शामिल हैं; और एटिपिकल (atypical) PKCs (aPKCs), जिसमें τ/λ समरूप शामिल हैं।

CPKCs के C1 क्षेत्र में दो जिंकफिंगर होती हैं और ये फॉस्फेटिडिल–सेरीन, DAG और Ca^{2+} पर निर्भर होती हैं (चित्र 11.8)। nPKCs की गतिविधि Ca^{2+} से स्वतंत्र है और

केवल फॉस्फेटिडिल–सेरीन और डीएजी पर निर्भर है। एटिपिकल PKCs में प्रामाणिक (canonical; कैनॉनिकल) C2 क्षेत्र और C1 क्षेत्र में सिस्टीन–समृद्ध डोमेन में से एक का अभाव होता है। PKC के इस समस्थानिक को PIP3 द्वारा सक्रिय किया जा सकता है और यह DAG और Ca^{2+} से स्वतंत्र है (चित्र 11.8)।



चित्र 11.8 :एक क्लासिकल, नावेल, और एटिपिकल प्रोटीन काईनेज C और उनके संबंधित सक्रियकर्ताओं की प्राथमिक संरचना की योजनाबद्ध प्रस्तुति।

सभी PKCs में एक नियामक डोमेन होता है, एक स्यूडोसब्सट्रेट (PS) मोटिफ (हरे रंग में), चार सिस्टीन–समृद्ध संरक्षित डोमेन (C1-C4) : C1 (नीले रंग में) डोमेन डायसाइलग्लिसरॉल (DAG) और फ़ोरबोल एस्टर बाइंडिंग साइट के लिए आणविक संवदेक (sensor, सेंसर) होते हैं; C2 (बैंगनी रंग में) अम्लीय लिपिड और कैल्शियम–बाध्यकारी स्थल होते है; C3 (लाल में) और C4 (पीले रंग में) ATP और सब्सट्रेट बंधन स्थल बनाते हैं। PKC समस्थानिक चर क्षेत्र (V1-V5) को काली रेखा के रूप में दिखाया गया है। nPKC cPKC से इस मायने में भिन्न हैं कि इसमें C2 होमोलोगस डोमेन अनुपस्थित होता है और इसे सक्रियण के लिए कैल्शियम की आवश्यकता नहीं है। aPKCs में C2 और C1 का आधा होमोलोगस डोमेन, दोनों अनुपस्थित होते है, जो उन्हें DAG, फ़ोर्बोल एस्टर और कैल्शियम के प्रति असंवेदनलशील बनाता है।

PKC आइसोफॉर्म (समरूप) को उनके सक्रियण के लिए सेरीन/थ्रेओनीन फॉस्फोरिलीकरण की आवश्यकता होती है।

11.2.4 प्रोटीन काईनेज जी (पीकेजी)

प्रोटीन काईनेस जी (पीकेजी) एक समद्वितयी (होमोडाईमेरिक) और cGMP–आश्रित प्रोटीन काईनेस है। यह कई जैविक ढांचों जैसे विशिष्टीकरण, स्मृति एवं वाहिका प्रसरण शामिल है; में द्वितीय संदेशवाहक संकेतन के एक समाकल घटक के रूप में कार्य करता है। कोशिका सभी पीकेजी समरूप (Iα, Iβ, II) एन–टर्मिनल के साथ एक समान कार्य क्षेत्रिक विन्यास (डोमेन कॉन्फ़िगरेशन) साझा करते हैं; कुंडलित– कॉइल एक समानांतर होमो–द्वितयी विन्यास (डिमेरिक कॉन्फ़िगरेशन) को बढ़ावा देते हैं, इसके बाद एक स्वतः निरोधी (ऑटोइनहिबिटरी) डोमेन (AI) और दो अग्रानुक्रम चक्रीय न्यूक्लियोटाइड (cNT) बाइंडिंग साइट होते हैं जो सी–टर्मिनल उत्प्रेरक गतिविधि को सहकारी रूप से नियंत्रित करता है।

बोध प्रश्न 1

क) सही कथन पर (√) का निशान लगाएँ :

i) ग्राही उच्च स्तर की हार्मोनी विशिष्टता प्रदर्शित करते हैं और अपने हार्मोन को अन्य अणुओं से अलग करते हैं।

ii) अन्तःकोशिकी ग्राहियों को झिल्ली पारगम्य लिगैंड की आवश्यकता होती है।

iii) पारझिल्ली (ट्रांसमेम्ब्रेन) डोमेन अमीनो अम्लों के जलरागी खंड हैं।

iv) ग्राही वे प्रोटीन होते हैं जो विशिष्ट हार्मोन से बद्ध होते हैं।

ख) उचित शब्दों से रिक्त स्थानों की पूर्ति कीजिए :

i) कोशिका की सतह/झिल्ली/ बाह्य कोशिकीय ग्राही ..... होता है।

ii) ..... DNA के विशिष्ट अनुक्रमों में ग्राही को बांधने के लिए जिम्मेदार है।

11.3 ग्राही टाइरोसिनकाईनेस

टाइरोसिनकाईनेसेस एंजाइमी सतह ग्राही (enzymatic surface receptors) हैं जो काईनेसेस के एक विशाल समूह का गठन करते हैं। ये अन्य अधिकतर काइनेसेस जो सिरीन और थ्रियोनीन के लिए चयनात्मक होते है, की बजाए सबस्ट्रेट प्रोटीन के टायरोसिन अवशेषों को विशेष रूप से फॉस्फोरिलीकृत करते हैं। कोशिका सतही ग्राही कम सांद्रता में मौजूद विभिन्न वृद्धि कारकों और अन्य स्थानीय रूप से मोचित प्रोटीन से बद्ध होते हैं और प्रतिक्रिया करते हैं। RTK कोशिका वृद्धि, विभेदीकरण और उत्तरजीविता के नियमन में आवश्यक भूमिका निभाते हैं।

संकेतक अणुओं के RTK से बंधने से पड़ोसी आटीके का सहबंधन होता है और इस प्रकार तिर्यक बद्ध द्वितय (क्रॉस–लिंक्ड डाइमर) बनते हैं। फॉस्फोरिलीकरण द्वारा क्रॉस–लिंकिग इन आरटीके में **टाइरोसिनकाईनेस** गतिविधि को उत्तेजित करता है। विशेष रूप से, द्वितय में प्रत्येक आरटीके दूसरे आरटीके पर अनेक **टाइरोसिन**को फॉस्फोरिलीकृत करता है। इस प्रक्रिया को क्रॉस–फॉस्फोरिलीकरण कहा जाता है।

टायरोसिन काईनेसेस के दो मुख्य वर्ग होते हैं :

1) ग्राही टाइरोसिनकाईनेस (RTKs) : एक लिगैंड–बंधन बाह्ययकोशिकी (एक्स्ट्रासेलुलर) डोमेन और एक उत्प्रेरक अन्तःकोशिकी (कैटेलिक इंट्रासेल्युलर) काईनेस डोमेन वाला ट्रांसमेम्ब्रेन प्रोटीन।

2) गैर–ग्राही (कोशिका विलेयी) टाइरोसिन काईनेस (nRTKs) : कोशिका द्रव्यी टाइरोसिन काईनेस के रूप में भी जाना जाने वाला है, टाइरोसिन किनेसेस का एक उपपरिवार है, जो फॉस्फेट समूह का प्रोटीन में टायरोसिन अवशेषों पर स्थानांतरित करने के लिए जिम्मेदार हैं। RTK के विपरीत, nRTK में ट्रांसमेम्ब्रन डोमेन अनुपस्थित होता है और ये कोशिकाओं के अंदर स्थित होते हैं।

RTK परिवार में प्लेटलेट–व्युत्पन्न वृद्धि कारक ग्राही, एपिडर्मल वृद्धि कारक ग्राही (EGFR), संवहनी एंडोथेलियल वृद्धि कारक ग्राही, फाइब्रोब्लास्ट वृद्धि कारक ग्राही (FGFRs), इंसुलिन, एफ्रिन (Ephs) और हेपेटोसाइट वृद्धि कारक/स्कैटर फैक्टर [HGF/SF] ग्राही, और Ephs (एफ्रिन) ग्राही) शामिल हैं।

11.3.1 एपिडर्मल वृद्धि कारक (ईजीएफ)

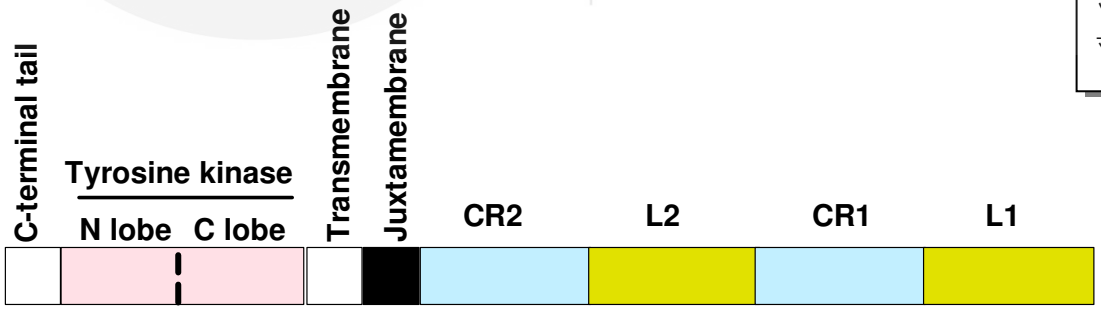
एपिडर्मल वृद्धि कारक (ईजीएफ) एक एकल पॉलीपेप्टाइड श्रृंखला है जो सभी बहुकोशिकीय समीकेन्द्रक जीवों में पाई जाती है और कोशिका विकास और विभेदन को विनियमित करने में शामिल है। यह अपने टाइरोसिन काईनेस ग्राही, एपिडर्मल **वृद्धि कारक** ग्राही (ईजीएफआर) से जुड़कर कोशिकीय संकेतन (सेलुलर सिग्रलिंग) को सक्रिय करता है।

ग्राही टाइरोसिन काईनेस (आरटीके) में से, आरटीके का एपिडर्मल वृद्धि कारक (ईजीएफ) परिवार, जिसे ErbB या एचईआर (मानव एपिडर्मल ग्रोथ फैक्टर ग्राही) ग्राही भी कहा जाता है, जिसका विकास, शरीर विज्ञान और मानव कैंसर में अपनी भूमिका के लिए सबसे व्यापक रूप में अध्ययन किया गया है।

एपिडर्मल ग्रोथ फैक्टर RTK परिवार में चार सदस्य हैं : EGFR (ErbB1, HER1), ErbB2 (HER2, कृन्तकों में neu), ErbB3 (HER3) और ErbB4 (HER4 और संरचनात्मक रूप से संबंधित ग्राही। ये एकल–श्रृंखला ट्रांसमेम्ब्रन ग्लाइकोप्रोटीन हैं जिनमें एक छोटा जुक्सटामेम्ब्रेन खंड, एक ट्रांसमेम्ब्रेन डोमेन, एक कोशिका बह्य लिगैंड–बाइंडिंग एक्टोडोमैन, एक टाइरोसिनकाईनेस डोमेन और एक टाइरोसिन युक्त C- सिरे पर पूंछ (चित्र 11.9) शामिल हैं।

ErbB एक्टोडोमैन से लिगैंड का बंधना और ग्राही द्विलकीकरण; ये दोनों अंतःकोशिकी टायरोसिन काईनेस डोमेन में संरूपीय परिवर्तन का कारण बनते है जिससे ग्राही का स्वफॉस्फोरिलीकरण होता है।

फाइब्रोनेक्टिन एक द्वितयी ग्लाइकोप्रोटीन है जो डाइसल्फ़ाइड–बद्ध उपइकाईयों से बना होता है, जिसमें प्रत्येक का आणविक भार 220–250 kDa होता है। यह कोशिका आसंजन (adhesion, एढिजन), कोशिका आकृति विज्ञान, घनास्त्रता (थ्राम्बोसिस), कोशिका अभिगमन (cell migration) और भ्रूण विभेदन (embryonic differentration) में शामिल है। फाइब्रोनेक्टिन एक मॉडयूलर प्रोटीन है जो तीन प्रोटोटाइप प्रकार के डोमेन के समरूप पुनरावर्तन से बना है जिन्हें I, II और III प्रकार के रूप में जाना जाता है। फाइब्रोनेक्टिन टाइप–III (FN3) पुनरावृत फाइब्रोनेक्टिन उपडोमेन में सबसे बड़े और सबसे आम हैं।



चित्र 11.9 : ErbB ग्राहियों की संरचना; ErbB ग्राही डोमेन का रैखिक प्रस्तुतीकरण।

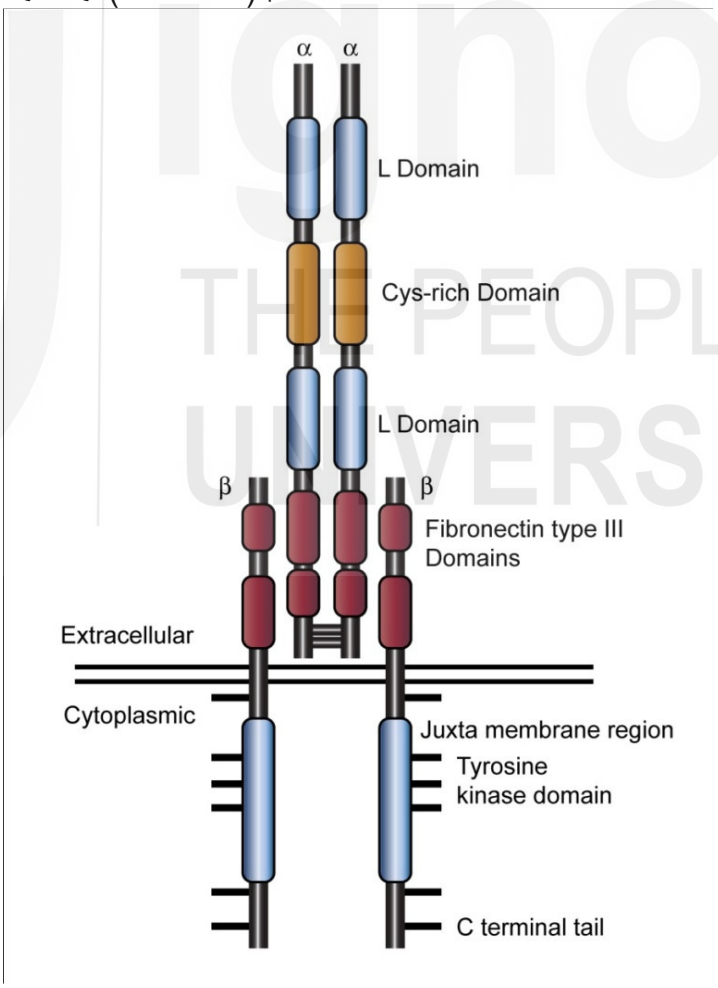
बाह्य कोशिकीय एन–सिरा डोमेन में चार उप डोमेन होते हैं। ल्यूसीन–समृद्ध उप डोमेन L1 और L2 सीधे लिगैंड के क्रिया करते हैं। सिस्टीन–समृद्ध उपडोमेन CR1 में ग्राही–ग्राही के मध्य क्रिया (इंटरैक्शन) के लिए जिम्मेदार द्विलकीकरण लूप होता है। एक छोटा ट्रांसमेम्ब्रेन और जुक्सटामेम्ब्रन डोमेन, बाह्य डोमेन को बिलोबेड टाइरोसिनकाईनेस डोमेन और सी–टर्मिनल पूंछ से जोड़ता है।

11.3.2 इंसुलिन ग्राही

इंसुलिन ग्राही (IR) दो बाह्य α–उपइकाइयों और दो ट्रांसमेम्ब्रेन β–उपइकाइयों से बना एक विषम चतुर्तयी (heterotetramer; हेटरोटेट्रामर) है, जो डाइसल्फ़ाइड आबंध द्वारा एक साथ बंधे होते हैं (चित्र 11.10)। इंसुलिन ग्राही लक्ष्य कोशिकाओं जैसे यकृत, मांसपेशियों और वसा की सतह पर मौजूद होते हैं। इंसुलिन बंधन के कारण β सबयूनिट के टाइरोसिन का स्वफॉस्फोरिलीकरण (autophosphorylation; ऑटोफॉस्फोराइलेशन) होता है। यह तब अन्य सबस्ट्रेट को फॉस्फोरिलीकृत करता है ताकि एक संकेतन सोपान का आरंभ हो और उसके बाद की जैविक प्रतिक्रियाएं हो।

इंसुलिन ग्राही में कई अद्वितीय शारीकि और जैव रासायनिक गुण होते हैं जो इसे इस आरटीके परिवार के अन्य सदस्यों से भिन्न बनाते हैं। इंसुलिन ग्राही की सबसे महत्त्वपूर्ण शरीरक्रियात्मक भूमिका उपापचय विनियमन प्रतीत होती है, जबकि अन्य सभी ग्राही टाइरोसिन काईनेसेस कोशिका वृद्धि और/या विभेदन को विनियमित करने में शामिल होते हैं। ग्राही टाइरोसिन काईनेसेस द्वितय के रूप में कार्य करते हैं और उनके सजातीय लिगैंड द्वारा एलोस्टेरी रूप (allosterically) से विनियमित होते हैं। इंसुलिन के लिए ग्राहियों पहले से मौजूद लेकिन निष्क्रिय द्वितय के रूप में होते हैं जो डाइसल्फ़ाइड आबंध से जुड़े होते हैं (चित्र 11.10)।

एरिथ्रोइड प्रजनक कोशिकाएं प्रतिबद्ध स्वनवीयन स्टेम कोशिकाएं है जो सथ्ररोसाइट (लाल रक्त कोशिकाएं) नामक एक ही प्रकार की कोशिका को उत्पन्न करते हैं।



चित्र 11.10 : इंसुलिन ग्राही की समग्र बनावट और टाइरोसिन काईनेस डोमेन की संरचना।

α–श्रृंखलाएं बाह्यकोशिकीय होती हैं, और β–श्रृंखलाएं प्लाज्मा झिल्ली से होकर गुजरती हैं। इंसुलिन ग्राही एक $\alpha_2\beta_2$ विषमचतुर्तय है जिसमें दो α–श्रृंखलाओं के बीच और α– और β–श्रृंखलाओं के बीच डाइसल्फ़ाइड आबंध होते हैं। इंसुलिन का α–श्रृंखलाओं से

बंधन इंसुलिन ग्राही के भीतर एक संरचनात्मक पुनर्व्यवस्था को प्रेरित करता है, जिसके परिणामस्वरूप β–श्रृंखला में विशिष्ट टाइरोसिन का स्वतःफॉस्फोरिलीकरण होता है। ग्राही के बाह्यकोशिकी भाग में तीन फ़ाइब्रोनेक्टिन प्रकार III (FnIII) डोमेन होते हैं।

11.3.3 एरिथ्रोपोइटिन ग्राही (EpoR)

एरिथ्रोपोइटिन (Epo) और इसके ग्राही (EpoR) एरिथ्रोइड प्रजनक (progenitors, प्रोजेनिटर्स) के प्रसार, विभेदन और अस्तित्व के लिए महत्त्वपूर्ण हैं। एरिथ्रोपोइटिन (ईपीओ) एक 165–एमिनो–अम्ली ग्लाइकोप्रोटीन हार्मोन है जो अवऑक्सीयता (हाइपोक्सिया, hypoxia) की प्रतिक्रिया के रूप में रक्ताणु उत्पत्ति (एरिथ्रोपोएसिस, erythropoiesis) को उद्दीपित करने के लिए भ्रूण के यकृत और वयस्क वृक्क (गुर्दे) में संश्लेषित होता है। यह एरिथ्रोपोएसिस का प्राथमिक नियामक है और एरिथ्रोइड पूर्वज कोशिकाओं के अस्तित्व, प्रसार और विभेदन को बढ़ावा देता है। एरिथ्रोपोइटिन ग्राहियों (Epo-R) को रक्तोत्पादक और अन्य ऊतकों (मस्तिष्क, हृदय, यकृत, रेटिना, संवहनी एंडोथेलियम, जठरांत्र संबंधी मार्ग और प्रजनन पथ) में पाया गया है।

Src होमोलॉजी 2 डोमेन टाइरोसिन फॉस्फेटेसेस SHP-1 और SHP-2, Src–होमोलॉजी डोमेन है जो विशेष रूप से टाइरोसिन अवशेषों के फॉस्फोरिलीकृत अवस्था को पहचान करते हैं, और इस तह से SH2 डोमेन वाले प्रोटीन को टाइरोसिन–फॉस्फोरिलीकृत स्थलों के स्थानीकरण की अनुमति देते हैं।

Epo-R एक क्लासिकल टाइप–I साइटोकाइन ग्राही है जिसमें एक बाह्य डोमेन है जो माइक्रोएन्वायरमेंट के साथ परस्पर क्रिया (इंटरैक्ट) करता है, एक ट्रांसमेम्ब्रेन क्षेत्र जो फॉस्फोलिपिड द्विपरत तक फैला है, और एक कोशिकाद्रव्यी पूंछ जिसमें आठ टाइरोसिन फॉस्फोरिलीकरण स्थल होते हैं जो संकेतन अनुकूलक (सिग्नलिंग एडेप्टर) के लिए संलग्नी (डॉकिंग) स्थानों के रूप में काम करती हैं। EpoR में एक लगभग 230–एमिनो अम्ली बाह्य डोमेन, एक ट्रांसमेम्ब्रेन खंड और एक कोशिका विलेयी डोमेन होता है, जिसमें कोई एंजाइमी गतिविधि नहीं होती है।

EpoR से Epo का बंधना, परिसंचारी रक्ताणुओं (erythrocytes; एरिथ्रोसाइट्स) के उत्पादन करने के लिए महत्त्वपूर्ण है। Epo कोशिका की सतह पर मौजूद EpoRs के द्वितीयन को उद्दीपित करता है, इस प्रकार JANUS, परिवार के प्रोटीन **ट्राइयोसिन काईनेस,** JAK-2, EpoR में विभिन्न ट्राइयोसिन अवशेषों के फॉस्फोरिलीकरण और फिर कई संकेत प्रोटीन की सक्रियता जैसे : प्रतिलेखन कारक के पारक्रमक और सक्रियक 5 (signal transducer and activator of transcription; STAT5), Ras, फॉस्फॉइनोसाइटाइड 3' (PI-3') काइनेस और प्रोटीन टायरोसिन फॉस्फेटेस SHP1 और SHP2।

बोध प्रश्न 2

उचित शब्दों से रिक्त स्थानों की पूर्ति कीजिए :

क) प्रोटीन काईनेस ..... हैं, जो विभिन्न प्रकार की कोशिकाओं में लक्ष्य कोशिकी प्रोटीन की जैविक गतिविधि को नियंत्रित करते हैं।

ख) प्रोटीन काईनेस, जिसे ..... के रूप में भी जाना जाता है, सबसे अच्छी अभिलक्षित प्रोटीन काईनेस है जो विभिन्न जैविक प्रक्रियाओं में मौलिक भूमिका निभाता है।

ग) ..... को कोशिकाद्रव्यी ट्राइयोसिन काईनेस के रूप में भी जाना जाता है।

घ) प्रोटीन काईनेस सी समरूपों को अपने सक्रियण के लिए ..... फॉस्फोरिलीकरण की आवश्यकता होती है।

11.3.4 *Ras-Map* काईनेस सोपानी

Src होमोलॉजी 2 डोमेन टाइरोसिन फॉस्फेटेसेस SHP-1 और SHP-2, Src–होमोलॉजी डोमेन है जो विशेष रूप से टाइरोसिन अवशेषों के फॉस्फोरिलीकृत अवस्था की पहचान करते हैं, जिससे SH2 डोमेन युक्त प्रोटीन को टाइरोसिन–फॉस्फोरिलीकृत स्थलों के स्थानीकरण की अनुमति देते हैं। SHP-1 और SHP-2 पूर्वज कोशिका विकास, कोशिकी विकास, ऊतक सूजन, कोशिकी रसो अनुचलन (केमोटैक्सिस) और कोशिकी अस्तित्व में शामिल ऑक्सीकारक तनाव मार्ग को नियंत्रित करते हैं।

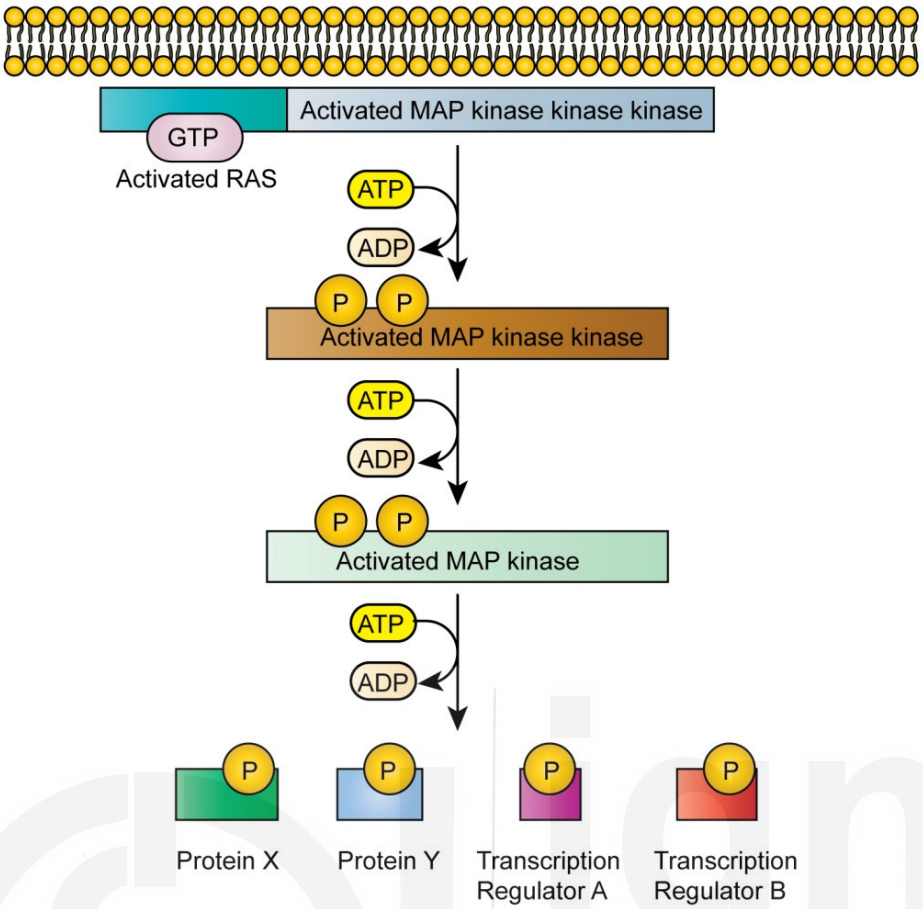
Ras-Map काईनेस कैस्केड (जिसे MAPK/ERK मार्ग/या Ras-Raf-MEK-ERK पथ के रूप में भी जाना जाता है) कोशिका मे प्रोटीन की एक श्रृंखला है जो कोशिका की सतह पर स्थित ग्राही से नाभिक में DNA तक एक संकेत का संचार करती हैं।

माइटोजन सक्रियित प्रोटीन (माइटोजन–एक्टिवेटेड प्रोटीन; MAP) काईनेस (जिसे पहले माइक्रोटयूब्यूल–एसोसिएटेड प्रोटीन 2 काईनेस के नाम से जाना जाता था) एक कोशिकाविलेयी एंजाइम है जो सेरीन और टायरोसिन दोनों अवशेषों के फॉस्फोरिलीकरण द्वारा सक्रिय होता है और फिर नाभिक में प्रवेश करता है जहां यह कुछ विशिष्ट अनुलेखन कारकों को फॉस्फोरिलीकृत और सक्रिय करता है। ये एंजाइम वृद्धि कारक और साइटोकाइन ग्राही संकेतन में मध्यस्थता करते हैं।

आमतौर पर, MAP काईनेस कैस्केड को विभिन्न विषमचतुर्तयी जी प्रोटीन द्वारा मंचकों (scaffolds, स्कैफोल्ड) के माध्यम से सक्रिय किया जाता है और इसमें तीन मुख्य घटक शामिल होते हैं। MAP काईनेस को, MAP काईनेस काईनेस (MAP2K, MAPKK, MEK या MKK) द्वारा फॉस्फोरिलीकृत किया जाता है, जो कि MAP काईनेस काईनेस काईनेस (MAPK3K, MAPKKK, or MEKK), द्वारा फॉस्फोरिलीकृत होते है। MAP काईनेस और MAP2K का फॉस्फोरिलीकरण, काईनेस डोमेन में स्थित एक संरक्षित "एक्टिवेशन लूप" अनुक्रम के भीतर होता है।

MAP काईनेस सक्रियण एक अप्रत्यक्ष मार्ग का अनुसरण करता है जिसमें Ras नामक एक छोटा जी–प्रोटीन शामिल होता है, जिसे मूल रूप से एक सक्रिय रचक प्रोटीन के रूप में कई टयूमर में मौजूद देखा गया था। Ras के लिए जो प्रभावी ट्रिगर होता है, वह एंजाइम Raf काईनेस है जो MAP काईनेसेस के पहले सोपान को फॉस्फारिलीकृत और उत्तेजित करता है जिसके परिणामस्वरूप अंततः नाभिकी प्रतिलेखन कारकों का फॉस्फोरिलीकरण होता है (चित्र 11.11)।

दूसरे शब्दों में, बाह्य कोशिकीय माइटोजन झिल्ली ग्राही से बंधता है, जो बदले में Ras (एक छोटा GTPase) को GTP के लिए अपने GDP का लेन–देन करने की अनुमति देता है। यह अब MAP3K को सक्रिय कर सकता है, जो MAP2K को सक्रिय करता है, जो MAPK को सक्रिय करता है। MAPK अब प्रतिलेखन कारक (transcription factor) को सक्रिय कर सकता है।



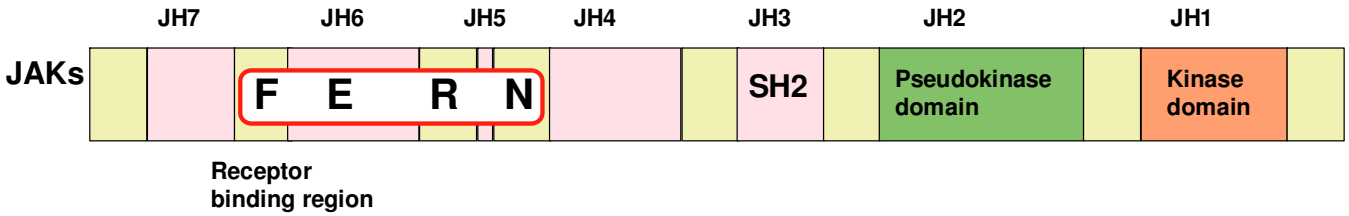
चित्र 11.11 : Ras MAP काईनेस मार्ग का वृद्धि कारकों द्वारा सक्रियण।

RTKs प्लाज्मा झिल्ली बाध्य प्रोटीन Ras कोट्रिगर कर सकते हैं जिससे यह GTP से बद्ध होता है।एक बार सक्रिय होने के बाद, Ras विभिन्न कार्य कर सकता है जैसा कि (चित्र 11.11) में देखा जा सकता है। यह MAP काईनेस के एक एंजाइमी कैस्केड को सक्रिय करता है, जिससे कोशिका सेल में शक्तिशाली परिवर्तन होते हैं, जैसे कि प्रमुख प्रोटीन का रूपांतरण और इस प्रकार जीन प्रतिलेखन में भी बदलाव।

11.3.5 JAK-STAT मार्ग

साइटोकाइन नियामक अणु होते हैं जो प्रतिरक्षा प्रतिक्रियाओं में सामंजस्य स्थापित करते हैं। सबसे विशिष्ट साइटोकिन ग्राही में से एक है जेनूस काइनेस (Janus kinase; संक्षिप्त रूप JAK) नामक प्रोटीन है जो कोशिका द्रव्यी टाइरोसिन काईनेस के साथ एक स्थिर जुड़ाव बनाता है। इस प्रकार का संकेतन जीन के एक सेट को चालू करने का एक सीधा और तेज़ तरीका है। हार्मोन और साइटोकाइन Jak/STAT मार्ग का उपयोग करते हैं।

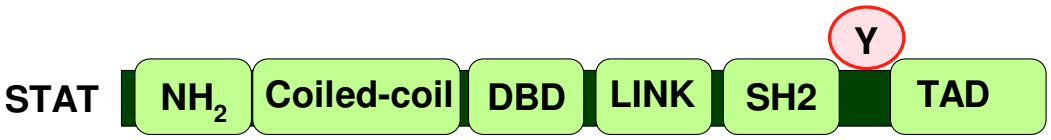
दूसरे शब्दों में, JAK-STAT संकेत मार्ग एक साइटोकाइन–उत्तेजित सिग्रल पारक्रमण मार्ग है जो कोशिका प्रसार, विभेदन, एपोप्टोसिस और प्रतिरक्षा विनियमन जैसी विभिन्न महत्त्वपूर्ण जैविक गतिविधियों में शामिल है। अन्य संकेतनों की तुलना में, JAK-STAT संकेतन मार्ग काफी सरल है। इसमें तीन प्रमुख घटक शामिल हैं : ग्राही टाइरोसिन काईनेस (RTK), JANUS काईनेस (JAK) और सिग्रल ट्रांसडयूसर और ट्रांसक्रिप्शन के एक्टिवेटर (STAT) (चित्र 11.12)।



चित्र 11.12 : JAK की संरचना।

JAK, जानूस काईनेस का संक्षिप्त रूप है। JAK प्रोटीन परिवार में चार सदस्य शामिल हैं : JAK1, JAK2, JAK3 और Tyk2। इनमें सात JAK समरूपता (JH; JAK homologous) डोमेन 1–7 होते हैं जिन्हें FERM (Four points one, Ezrin, Radixin, Moesin), SH2–संबंधित ("SH2"), स्यूडो–काईनेस (ΨKi) और kinase (Ki) डोमेन में विभाजित किया जा सकता है (चित्र 11.12)। JH1 और JH2 डोमेन क्रमशः काइनेस और स्यूडो–काईनेस डोमेन हैं; JH6 और JH7 ग्राही–बंधन क्षेत्र हैं। उदाहरण के लिए, JAK3 में, JH1 C–सिरे का टाइसेसिन काइनेस डोमेन है। काइनेज डोमेन के सबसे करीब JH2, या स्यूडो–किनेज डोमेन है, जिसमें स्वयं उत्प्रेरक गतिविधि का अभाव होता है, लेकिन यह सामान्य काईनेज गतिविधि को नियंत्रित करने के लिए महत्त्वपूर्ण है।

स्तनधारी सात STAT प्रोटीन व्यक्त करते हैं, जिनका आकार 750 से 900 अमीनो अम्लों तक होता है। STAT परिवार में संरक्षित रूपांकनों में अमीनो–टर्मिनल (NH_2; ~125 अमीनो अम्ल; विफॉस्फोरिलीकृत STATs के बीच होमोटाइपिक परस्पर क्रिया को बढ़ावा देता है), कॉइल्ड–कॉइल (अमीनो एसिड ~135 से ~315; कई संभावित महत्त्वपूर्ण नियामक प्रोटीन से जुड़े होते है और नाभिक से आयात/निर्यात में शामिल है), DNA बाध्यकारी डोमेन (डीबीडी; एमिनो एसिड ~320 से ~480), लिंकर (लिंक; एमिनो एसिड ~480 से ~575); संरचनात्मक रूप से DNA बंधन मोटिफ द्वितयीकरण संकेत का अनुवाद करता है, SH2 (एमिनो एसिड ~575 से ~680; उपयुक्त ग्राही के लिए विशिष्ट भर्ती की मध्यस्थता करता है, साथ ही साथ सक्रिय STAT द्वितयन), और ट्रांसक्रिप्शनल एक्टिवेशन डोमेन (TAD) इसमें संरक्षित सेरीन फॉस्फोरिलीकरण स्थल शामिल है जो सहसक्रियकों की भर्ती को निर्देशित करते हैं (उदाहरणतः CBP or MCM : संम्मित्र और कुछ मामलों में एसटीएटी स्थिरता को विनियमित करते हैं)शामिल हैं। STAT में अवशेष 700 के नजदीक एक संरक्षित टाइरोसिन (Y) भी होता है जो सक्रियण पर फॉस्फोरिलीकृत होता है (चित्र 11.13)।

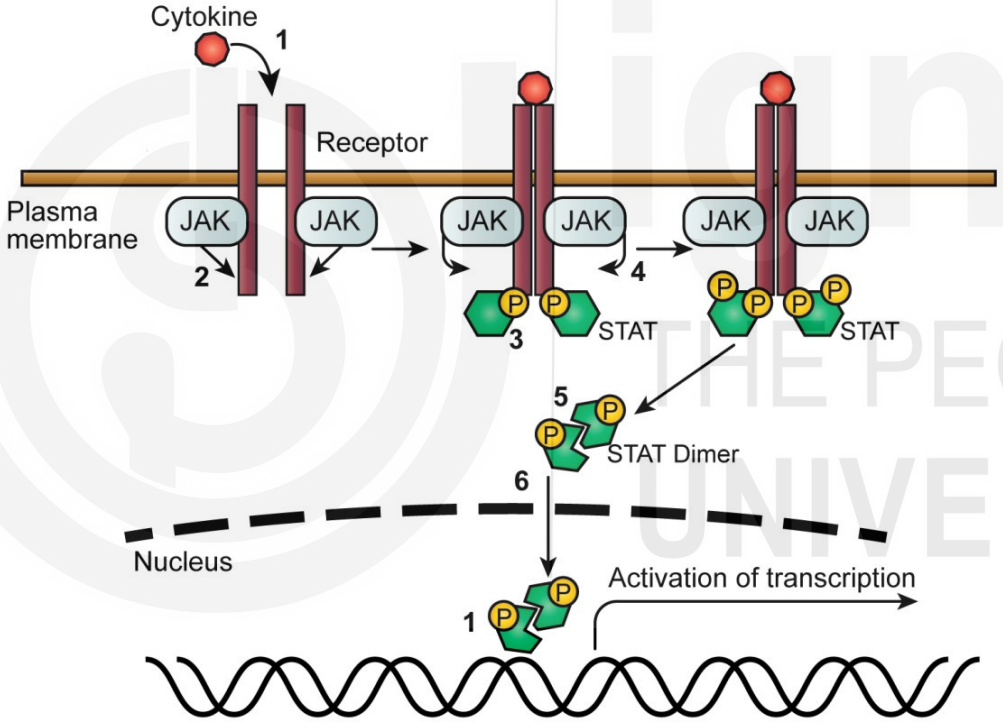


चित्र 11.13 : STAT की संरचना।

आइए अब JAK-STAT की संकतेन प्रक्रिया को समझते हैं।

JAK की टाइरोसिन काईनेस गतिविधि लिगैंड अणु (जैसे साइटोकाइन) बंधन के बाद शुरू हो जाती है, जो जानूस परिवार के काइनेज, JAK के ग्राही द्वितयन (डाईमराइजेशन) और स्व– या ट्रांस फॉस्फोरिलीकरण को प्रेरित करती है। JAK या

अन्य काईनेस तब लिगैंड में कई टाइरोसिन अवशेषों को फॉस्फोरिलीकृत करता है, और सिग्रल ट्रांसडयूसर और ट्रांसक्रिप्शन (STAT) प्रोटीन के सक्रियक सहित अनेक संकेत पारक्रमण प्रोटीन के SH2 डोमेन के लिए संलगनी (डॉकिंग; dockins) स्थल बनाता है। STAT प्रोटीन को गुप्त (latent, लेटैंट) प्रतिलेखन कारक माना जाता है क्योंकि वे साइटोप्लाज्म में लगातार उपलब्ध होते हैं और JAK द्वारा ट्रिगर होने के लिए तैयार होते हैं। एक बार ग्राही अणु से बंधे होने के बाद, STAT और अन्य संकेतन प्रोटीन JAK द्वारा फॉस्फोरिलीकृत और सक्रिय हो जाते हैं। एक बार फॉस्फोरिलीकृत होने के बाद, STAT ग्राही से अलग हो जाता है और दो STAT अणुओं द्वारा एक द्वितय निर्मित होता है (प्रत्येक STAT अणु अन्य फॉस्फोरिलीकृत STAT के फॉस्फोटायरोसिन से बद्ध होता है)। STAT द्वितय एक सक्रिय प्रतिलेखन कारक है और नाभिक में चला जाता है, जहां यह DNA में विशिष्ट अनुक्रमों से बद्ध होता है और जीन अभिव्यक्ति को सक्रिय करता है। प्रोटीन टायरोसिन फॉस्फेटेज फॉस्फोटायरोसिन युक्त ग्राही अणु के एक खंड से बंधता है। यह बंधन फॉस्फेटेज के सक्रियण को प्रेरित करता है, JAK से सक्रियक फॉस्फेट को हटाने और सिग्रल पारक्रमण (ट्रांसडक्शन) की समाप्ति को प्रेरित करता है (चित्र 11.14)।



चित्र 11.14 : JAK-STAT की संरचना।

विशेष रूप से, कोशिकाओं में कई विशिष्ट STAT प्रोटीन होते हैं, और विभिन्न साइटोकान ग्राहियों के ट्रिगर होने से विविध STAT द्वितय का निर्माण होता है। प्रत्येक STAT द्वितय कुछ जीनों के प्रमोटरों में मौजूद एक विशिष्ट DNA अनुक्रम से बंधता है। इस तरह प्रत्येक साइटोकाइन कोशिका में एक विशिष्ट प्रतिक्रिया को उत्तेजित करने के लिए जीन के एक स्पष्ट सेट को ट्रिगर करता है।

कई साटोकाइन JAK-STAT पथ के माध्यम से संकेत देते हैं, हालांकि सभी ऐसा नहीं करते हैं। (उदाहरण के लिए, TNF–α ग्राहियों की एक पूरी तरह से अलग संरचना और संकेत पारक्रमण मार्ग है)। JAK-STAT मार्ग में व्यवधान या आनुवंशिक दोष कोशिका वृद्धि विकृति (कैंसर) या प्रतिरक्षा संबंधी बीमारियों की ओर ले जाते हैं।

बोध प्रश्न 3

क) JAK-STAT संकेतन पथ में कौन सा प्रोटीन एक गुप्त प्रतिलेखन कारक माना जाता है?

ख) STAT का फॉस्फोरिलीकरण इसे ..... बनाने में सक्षम बनाता है, जो एक सक्रिय प्रतिलेखन कारक है।

ग) लिगैंड बंधन किस तरह JAK को सक्रिय करता है?

घ) निम्नलिखित में से कौन साइटोकाइन के अपने ग्राही से बंधने के कारण फॉस्फोरिलीकृत हो जाता है? (ग्राही प्रोटीन, JAK; STAT) दिए गए सभी विकल्प।

टायरोसिन फॉस्फोरिलीकरण ट्रांसफॉर्मिंग वायरस या एपिडर्मल वृद्धि कारक की क्रियाओं तक ही सीमित नहीं है और विभिन्न अन्य महत्त्वपूर्ण संकेतन प्रक्रियाओं को नियंत्रित करता है, जिसमें शामिल हैं :

- इंटीग्रिन ग्राही और फोकल आसंजन स्थलों के माध्यम से कोशिका–कोशिका और कोशिका–मैट्रिक्स परस्पर क्रिया।
- न्यूट्रोफिल और मैक्रोफेज जैसी भक्षकाणन्विक (फैगोसाइटिक; phagocytic) कोशिकाओं में श्वसन बर्सट (respiratory burst) की उत्तेजना।
- बी सेल ग्राही से एंटीजन बंधन द्वारा बी लसिकाणुओं (lymphocytes; लिम्फोसाइट्स) का सक्रियण।
- टी कोशिका ग्राही संकुल के माध्यम से एंटीजन–प्रेजेंटिंग कोशिकाओं द्वारा टी लसिकाणुओं का सक्रियण।
- लसिकाणुओं का इंटरल्यूकिन–2–मध्यस्थ प्रसार।
- IGE के लिए उच्च बंधुता ग्राही के माध्यम से मास्ट और बेसोफिल कोशिकाओं का सक्रियण।
- कई विकासात्मक प्रक्रियाएं।

11.4 स्टेरॉयड हार्मोन ग्राही मध्यस्थ जीन विनियमन

स्टेरॉयड हार्मोन प्रजनन, केंद्रीय तंत्रिका तंत्र और अधिवृक्क अक्ष के भीतर महत्त्वपूर्ण नियामक और व्यवहार कार्यों के साथ–साथ वृद्धि, विकास और विभेदन पर व्यापक प्रभाव डालते हैं। ये हार्मोन विशिष्ट अन्तःकोशिकी (इंट्रासेल्युलर) ग्राही प्रोटीन से बंधकर उनके माध्यम से कार्य करते हैं जो लक्ष्य जीन की अभिव्यक्ति को संशोधित करने के लिए संकेत पारक्रामक और प्रतिलेखन कारक दोनों के रूप में कार्य करते हैं।

स्टेरॉयड हार्मोन ग्राही नाभिकीय ग्राही सुपरफैमिली का एक उपपरिवार है, जिसमें पांच चिरप्रतिष्ठित सदस्य होते हैं : एस्ट्रोजन ग्राही (ESRs), प्रोजेस्टेरोन ग्राही (PGS), एंड्रोजन ग्राही (ASR), ग्लुकोकोर्टिकोइड ग्राही (GR), और मिनरलोकॉर्टिकॉइड ग्राही (MR)। स्टेरॉयड हार्मोन ग्राही सीधे अमीनो एसिड होमोलॉजी साझा करते हैं और इसमें कई महत्त्वपूर्ण संरचनात्मक तत्व होते हैं जो उन्हें अनुमति देते हैं कि :

- उच्च बंधुता और विशिष्टता के साथ उनके संगत लिगैंड से आबद्ध हो;
- उच्च बंधुता और विशिष्टता वाले लक्ष्य जीन के DNA अनुक्रम के भीतर विशिष्ट प्रतिक्रिया तत्वों को पहचानना और उनसे बंधे; और
- जीन प्रतिलेखन को विनियमित करें।

ग्राही प्रोटीन में पांच या छह डोमेन होते है जिन्हें N से C– सिरे की ओर से A-F कहा जाता है, जो 8–9 एक्सॉन (exon) द्वारा कोडित होते हैं। ग्राही के तीन प्रमुख कार्यात्मक डोमेन हैं :

- एक परिवर्ती एन–टर्मिनस (डोमेन ए और बी) जो प्रतिरक्षण क्षमता प्रदान करता है और अपने एन–टर्मिनल एक्टिवेशन फंक्शन–1 (AF-1) के माध्यम से जीन और सेल–विशिष्ट तरीके से प्रतिलेखन को संशोधित करता है;
- एक केंन्द्रीय डीएनए–बाध्यकारी डोमेन (DBD, जिसमें सी डोमेन शामिल है), जिसमें दो कार्यात्मक रूप से अलग जिंक फिन्गर्स शामिल हैं, जिसके माध्यम से ग्राही सीधे DNA हेलिक्स के साथ क्रिया करता है;
- लिगैंड–बाइंडिंग डोमेन (LBD, डोमेन E और कुछ F ग्राहियों में) जिसमें एक्टिवेशन फंक्शन–2 (AF-2) होता है।

लिगैंड बंधन द्वारा या पश्च–अनुवाद संशोधनों के माध्यम से एक स्टेरॉयड हार्मोन ग्राही के सक्रियण के परिणामस्वरूप एक संरूपीय परिवर्तन होता है, जिससे यह लक्ष्य जीन के नियामक क्षेत्रों में विशिष्ट DNA अनुक्रमों को बांधने की अनुमति देता है।

लिपिड होने के कारण, स्टेरॉयड हार्मोन सरल प्रसार द्वारा कोशिका में प्रवेश करते हैं। हालांकि, थायराइड हार्मोन सुगम प्रसार के माध्यम से कोशिका में प्रवेश करते हैं। ग्राही या तो कोशिकाद्रव्य या नाभिक में मौजूद होते हैं, जहां कि हार्मोन इनसे बंधता है। जब हार्मोन ग्राही से बद्ध होता है तो घटनाओं की एक विशिष्ट श्रृंखला होती है :

- ग्राही सक्रियण – हार्मोन बद्धता द्वारा प्रेरित ग्राही में संरूपीय/गठनात्मक संशोधन। सक्रियण की सबसे महत्त्वपूर्ण भूमिका यह है कि ग्राही DNA बंधन के लिए सक्षम हो जाता है।
- सक्रिय ग्राही "हार्मोन प्रतिक्रिया तत्वों" (hormone response elements) से बंधे होते हैं, जो हार्मोन–प्रतिक्रियाशील जीन के प्रवर्धकों में स्थित छोटे विशिष्ट DNA अनुक्रम होते हैं। ज्यादातर मामलों में, हार्मोन–ग्राही संकुल DNA के जोड़े से बद्ध होते हैं।
- जिनसे ग्राही बंधा होता है, उन जीनों से प्रतिलेखन प्रभावित होता है। आम तौर पर, ग्राही बाध्यता प्रतिलेखन को ट्रिगर करता है और इस प्रकार हार्मोन–ग्राही संकुल प्रतिलेखन कारक (transcription factor) की भूमिका निभाता है।

11.5 ग्राही विनियमन और क्रॉस–टॉक

प्रतिनियमन (अपरेगुलेशन) कोशिकी घटक की वृद्धि है।

ग्राही विनियमन अंतःस्त्रावी कार्य का एक अनिवार्य हिस्सा है, जो प्रति या अधो–विनियमन के माध्यम से होता है। सामान्य तौर पर, ग्राही विनियमन, ग्राही संश्लेषण, अंतःकोशिकी अधोनियमन (लिगैंड बंधन के बाद झिल्ली ग्राहियों का आंतरिककरण), या विसुग्राहिकरण (डिसेन्सिटाइजेशन; desensitization.ग्राही को उसके सिग्रल पारक्रमण मार्ग से अलग करना) को बढ़ाता या घटाता है।

विसुग्राहिकरण तब होता है जब एक ग्राही एक एगोनिस्ट के प्रति अपनी प्रतिक्रिया को उच्च सांद्रता में कम कर देता है। यह एक ऐसी प्रक्रिया है जिसके माध्यम से विस्तारित एगोनिस्ट के लिए लंबे समय तक उच्छादन के बाद, ग्राही अपने संकेतन सोपान से अलग हो जाता है और इसलिए, ग्राही सक्रियण का कोशिकी प्रभाव कमजोर हो जाता है। डिसेन्सिटाइजेशन में आमतौर पर ग्राही का फॉस्फोरिलीकरण शामिल होता है।

अधोनियमन एक अणु के ग्राहियों की संख्या में कोशिकी कमी है। जैसे हार्मोन या न्यूरोट्रांसमीटर, जो अणु के लिए कोशिकी संवेदनशीलता को कम करता है।

अधोनियमन में, एक हार्मोन के लिए ग्राहियों की संख्या में कोशिकी कमी होती है, जो उस विशिष्ट हार्मोन के लिए कोशिका की संवेदनशीलता को कम करती है। यह स्थानीय रूप से कार्य करने वाले नकारात्मक प्रतिक्रिया तंत्र का एक उदाहरण है। हालांकि, **प्रतिनियमन** तब होता है जब एक कोशिका ज्यादा संख्या में ग्राही उत्पन्न करती है, इस प्रकार कोशिकाओं को उस हार्मोन के प्रति अधिक संवेदनशील बना देता है। इसके अलावा, **प्रतिनियमन** में, कोशिका अपने ग्राहियों के क्षरण को कम करता है या पहले से मौजूद ग्राहियों को सक्रिय करके और आमतौर पर हार्मोन की सांद्रता बहुत कम होने पर प्रतिनियमित करता है। उदाहरण के लिए, यदि रक्त में हार्मोन की कम सांद्रता होती है और कोशिका में ग्राहियों संख्या बढ़ जाती है, तो हार्मोन के साथ इसकी क्रिया की संभावना भी बढ़ जाती है (संवेदनशीलता)। हार्मोन, स्वयं कोशिकाओं को प्रतिविनियमन करने के लिए अग्रसर कर सकते हैं।

कुछ हार्मोन अपने स्वयं के ग्राहियों (होमोलॉगस विनियमन; homologous regulation) को विनियमित कर सकते हैं जैसे कि पिटयूटरी गोनाडोट्रॉफ़ पर जीएनआरएच (GnRh) का प्रभाव, जबकि अनेक ग्राही अन्य हार्मोन (हेटेरोलॉगस विनियमन; heterologous regulation) द्वारा नियंत्रित होते हैं, उदाहरण : एस्ट्रोजन ऑक्सीटोसिन ग्राहियों को नियंत्रित करता है।

सामान्य तौर पर, हार्मोन और उनके ग्राहियों के बीच की क्रिया ग्राहियों की संख्या, परिसंचारी हार्मोन की एकाग्रता और ग्राही के लिए हार्मोन की आत्मीयता पर निर्भर करती हैं।

हार्मोन की बंधुता एक हार्मोन की वह सांद्रता है जिस पर ग्राहियों की कुल संख्या का आधा नियोजित होता है, और बंधुता जितनी अधिक होती है, हार्मोन की सांद्रता उतनी ही कम होती है। आम तौर पर, हार्मोन ग्राहियों की बंधुता नहीं बदलती है, और इसके परिणामस्वरूप, जैविक प्रतिक्रिया ग्राहियों की संख्या और हार्मोन की सांद्रता पर निर्भर करती है।

11.6 सारांश

अब तक हमने जो पढ़ा है आइए संक्षेप में जानते है :

- हार्मोन, साइटोकाईन, इंटरल्यूकिन और वृद्धि कारक कोशिकी अनुकूली प्रतिक्रियाओं को सुगमित बनाने के लिए विभिन्न संकेतन तंत्रों का उपयोग करते हैं। वर्ग–II हार्मोन, जो कोशिका की सतह के ग्राहियों से जुड़ते हैं, विभिन्न प्रकार के अंतःकोशिकी संकेत उत्पन्न करते हैं जिनमें cAMP, cGMP, Ca^{2+}, फॉस्फेटिडाइलइनोसिटाइड और प्रोटीन काइनेज कैस्केड शामिल हैं।

- प्रोटीन काइनेजेज कोशिकाद्रव्यी एंजाइम होते हैं, जो विभिन्न प्रकार के कोशिकाओं में अक्सर बाहरी संकेतों के जवाब में प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण द्वारा लक्ष्य कोशिकी प्रोटीन की जैविक गतिविधि को नियंत्रित करते हैं। प्रोटीन काइनेजेज कई संकेत पारगमन पथों में भाग लेते हैं, जिनमें विकास, विभेदन और कोशिका विभाजन शामिल हैं। इन प्रोटीन काइनेजेज के सक्रियण से विशिष्ट कोशिकाविलेयी एंजाइम गतिविधि में परिवर्तन नाभिकी प्रतिलेखन कारकों का सक्रियण या प्रोटीन काइनेजेज के सेरीन या थ्रेओनीन अवशेषों पर तत्पश्चात् फॉस्फोरिलीकरण के एक सोपान की शुरूआत हो सकती है जो प्रतिलेखन को भी नियंत्रित कर सकती है।

- कोशिका सतही ग्राहियों का दूसरा सबसे आम प्रकार टाइरोसिन काइनेजेज है जो इंसुलिन, वृद्धि हार्मोन, अधिकांश वृद्धि कारकों और साइटोकाइन के संकेत में उपयोग होते हैं।

- टायरोसिन काइनेजेज एंजाइमी सतही ग्राही हैं जो काइनेजेज के एक विशाल समूह का गठन करते है जो सब्सट्रेट प्रोटीन को विशेष रूप से टायरोसिन अवशेषों पर फॉस्फोरिलीकृत करते हैं। यह अन्य काइनेजेज के विपरीत है जो कि सेरीन या थ्रेओनीन के लिए चुनिंदा होते है; ये कोशिका सतही ग्राही कम सांद्रता में मौजूद विकास कारकों और अन्य स्थानीय रूप से जारी प्रोटीन से बद्ध होते हैं और प्रतिक्रिया करते हैं।

- अंतर्जात प्रोटीन टायरोसिन काइनेज गतिविधि युक्त पारझिल्ली ग्राही के बहिर्कोशिकी डोमेन से एक हार्मोन या वृद्धि कारक के बंधन के परिणाम स्वरूप ग्राही का इसके नजदीक के अन्य ग्राही के साथ द्वितयीकरण होता है। यह या तो स्वफॉस्फोरिलीकरण या इससे जुड़े एन्जाइम के फॉस्फोरिलीकरण की शुरूआत करता है। समान संकेत पारक्रमण की घटनाएं कोशिकाविलेयी और नाभिकी दोनों हार्मोनों के लिए होती हैं।

- स्टेरॉयड हार्मोन ग्राही प्रोटीन होते हैं जिनमें एक विशेष स्टेरॉयड अणु के लिए बाध्यकारी स्थल होती है। उनके प्रतिक्रिया तत्व DNA अनुक्रम हैं जो स्टेरॉयड–ग्राही संकुल से बद्ध होते हैं।

- किसी भी हार्मोन के लिए ग्राही विनियमन अंतःस्त्रावी कार्य का एक अनिवार्य हिस्सा है, जो प्रति या अधो–विनियमन के माध्यम से होता है। ग्राही विनियमन, आम तौर पर, ग्राही संश्लेषण में वृद्धि या कमी, अंतः कोशिकी अधोनियमन (यानी, लिगैंड बंधन के बाद झिल्ली ग्राहियों का आंतरिककरण), या डिसेंसिटाइजेशन (यानी, ग्राही को इसके संकेत पारक्रमण मार्ग से अलग करना) के परिणामस्वरूप होता है।

11.7 पाठांत प्रश्न

1. प्रोटीन फास्फारिलीकरण क्या होता है?
2. निम्नलिखित का विस्तार करें और उनका कार्य बताएं :

क) JAK

ख) STAT

ग) MAPK

घ) PKC

ड़) EpoR

3. परिभाषित करें :

क) एरिथ्रोइड पूर्वज कोशिकाएं

ख) प्रोटीन काईनेसेस

4. प्रोटीन काईनेस बी की भूमिका बताएं।

5. एक हार्मोन के उसके ग्राही से बद्ध होने के बाद की घटनाओं की श्रृंखला की सूची बनाएं।

11.8 उत्तर

बोध प्रश्न

1. क) i) सही

ii) सही

iii) गलत

iv) सही

ख) i) इंटीग्रल मेम्ब्रेन प्रोटीन

ii) DNA बाध्यकारी डोमेन।

2. क) कोशिकाद्रव्यी एंजाइम

ख) cAMP–निर्भर प्रोटीन काईनेस

ग) गैर–ग्राही टाइरोसिन काईनेस

घ) सेरीन/थ्रेओनीन

3. क) STAT

ख) STAT द्वितयन

ग) ग्राही द्वितयन का कारण बनता है

घ) दिए गए सभी विकल्प

पाठांत प्रश्न

1. प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण मुख्य रूप से सभी जैविक कार्यों को आकार देने के कोशिकी विनियमन का सबसे प्रमुख रूप है। प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण, सामान्य रूप से, गठनात्मक परिवर्तनों को प्रेरित करता है, जिससे प्रोटीन कार्य प्रभावित होता है। यह प्रोटीन का एक पश्च–अनुवादन संशोधन है जिससे प्रोटीन काईनेस एक सहसंयोजक बाध्य फॉस्फेट समूह को जोड़ कर एक एमिनो अम्ल अवशेष को फॉस्फोरिलीकृत करता है।

2. निम्नलिखित के विस्तार और कार्य हैं :

   क) JAK : जानूस काइनेसेस; प्रतिरक्षा और रक्तोत्पादक कोशिकाओं का विनियमन और विकास।

   ख) STAT : सिग्रल ट्रांसडयूसर और ट्रांसक्रिप्शन के एक्टिवेटर; अपने नाम के अनुरूप झिल्ली से नाभिक तक संकेतों को प्रेषित करने में एक केंद्रीय भूमिका निभाते हैं, और साइटोकाइन, विकास कारकों और अन्य पॉलीपेप्टाइड लिगैंड की सामान्य कोशिकी प्रतिक्रियाओं में मध्यस्थता करते हैं।

   ग) MAPK : माइटोजन सक्रिय प्रोटीन काईनेस; वृद्धि कारक और साइटोकाइन ग्राही संकेतन के मध्यस्थ।

   घ) PKC : प्रोटीन काईनेस सी; जीन अभिव्यक्ति, प्रोटीन स्त्राव, कोशिका प्रसार और शोथ प्रतिक्रिया सहित विविध सेलुलर संकेतों की मध्यस्थता करता है और कई Ca^{2+} निर्भर प्रक्रियाओं में एक रिले प्रणाली के रूप मे महत्त्वपूर्ण भूमिका निभाता है और लिपिड जलआपघटन के प्रोत्साहक के रूप में सहायता करता है।

   ड़) EpoR : एरिथ्रोपोइटिन ग्राही; एरिथ्रोइड पूर्वजों के प्रसार, विभेदन और उत्तरजीविता के लिए आवश्यक।

3. परिभाषित करें :

   क) एरिथ्रोइड पूर्वज कोशिकाएं स्व–नवीनकरण स्टेम कोशिकाएं हैं जो केवल एक प्रकार की कोशिका को जन्म देती हैं, अर्थात् एरिथ्रोसाइट्स (लाल रक्त कोशिकाएं)।

   ख) प्रोटीन काइनेजेज साइटोप्लाज्मी एंजाइम होते हैं, जो विभिन्न प्रकार के कोशिकाओं में अक्सर बाहरी संकेतों के जवाब में, प्रोटीन फॉस्फोरिलीकरण द्वारा लक्ष्य कोशिकी प्रोटीन की जैविक गतिविधि को नियंत्रित करते हैं।

4. प्रोटीन काइनेज बी (जिसे Akt भी कहा जाता है) एक सेरीन/थ्रेओनीन– विशिष्ट प्रोटीन काइनेज है जो कोशिका अस्तित्व, वृद्धि प्रसार, एंजियोजेनेसिस, माइग्रेशन, एपोप्टोसिस, ऑटोफैगी और लिपिड और ग्लाइकोजन चयापचय के लिए महत्त्वपूर्ण कई कोशिकी प्रक्रियाओं में शामिल है।

5. जब हार्मोन ग्राही से बंधता है, तो घटनाओं की एक विशिष्ट श्रृंखला होती है, जो इस प्रकार हैं :

   i) ग्राही सक्रियण – हार्मोन बद्धता द्वारा प्रेरित ग्राही में संरूपीय/गठनात्मक संशोधन। जिससे ग्राही DNA बंधन के लिए सक्षम हो जाता है।

   ii) सक्रिय ग्राही "हार्मोन प्रतिक्रिया तत्वों" (hormone response elements) से बद्ध होते हैं।

   iii) ग्राही बद्धता प्रतिलेखन को ट्रिगर करता है और इस प्रकार हार्मोन–ग्राही संकुल प्रतिलेखन कारक (transcription factor) की भूमिका निभाता है।

इकाई 12

हार्मोन आमापन की विधियाँ

इकाई की रूपरेखा

12.1 प्रस्तावना

अपेक्षित अध्ययन परिणाम

12.2 प्रतिरक्षा आमापन

प्रतिजन–प्रतिरक्षी आबंधन

12.3 इम्युनोएसे के प्रकार

12.4 रेडियोइम्यून परीक्षण

12.5 एन्जाइम लिन्कड इम्यूनोसोरबेंट एसे (ELISA)

12.6 सारांश

12.7 पाठांत प्रश्न

12.8 उत्तर

12.1 प्रस्तावना

पिछली इकाई में, आपने हार्मोन मध्यस्थ संकेतन का अध्ययन किया और सीखा कि कैसे ग्राहियों के माध्यम से हार्मोन अणु किसी लक्ष्य में प्रतिक्रिया को प्रेरित करते हैं। अब इस इकाई में आप शरीर के तरल पदार्थों में मौजूद हार्मोन को मापने की विभिन्न विधियों का अध्ययन करेंगे।

अंतःस्त्राव विज्ञान (एंडोक्रिनोलॉजी) कार्य करने के लिए एक आकर्षक क्षेत्र है, और जैविक नैदानिक जांच में हार्मोन या हार्मोन परख का माप एक महत्त्वपूर्ण तत्व है। उपापचय प्रक्रियाओं के विश्लेषण और नैदानिक स्थितियों की एक विस्तृत श्रृंखला के साथ–साथ उपचार की प्रभावकारिता की निगरानी के लिए हार्मोन आमापन महत्त्वपूर्ण है। इसके अलावा, यह मनुष्यों और जानवरों दोनों में विभिन्न शारीरिक उत्तेजनाओं, जैसे गर्मी, ठंड और विषाक्त पदार्थों के लिए शरीर की प्रतिक्रिया में एक अंतर्दृष्टि प्रदान करता है।

जनद (गोनाडल; gonadal) हार्मोन सहित विभिन्न हार्मोन के साथ–साथ अन्य ग्रंथियों जैसे कि पैराथायरायड और अधिवृक्क ग्रंथियों द्वारा स्त्रावित कई अन्य को रक्त में परख लिया जा सकता है।

अपेक्षित अध्ययन परिणाम

इस इकाई का अध्ययन करने के बाद, आप इस योग्य हो जाएंगे कि :

- ❖ हार्मोन आमापन की व्याख्या करें;
- ❖ एंटीजन–एंटीबॉडी बंधन की व्याख्या करें; और
- ❖ हार्मोन विश्लेषण के लिए उपयोग की जाने वाली विभिन्न तकनीकों की व्याख्या करें।

12.2 प्रतिरक्षा आमापन

परिसंचारी रक्त में अधिकांश हार्मोन बहुत कम सांद्रता में मौजूद होते हैं। इस प्रकार हार्मोनी आमापन को स्पष्ट रूप से रक्त परीक्षण के रूप में माना जा सकता है, जिसमें विशिष्ट हार्मोन या संबंधित हार्मोन के सेट को मापने के लिए कुछ मिलीमीटर रक्त की आवश्यकता होती है। रक्त में बेहद कम मात्रा के कारण, हार्मोन को मापने से सम्बंधित सबूत प्रारंभिक एंडोक्रिनोलॉजी में कठिनाई से मिलता है। हालांकि, 20वी सदी के मध्य में, रेडियोइम्यूनोसे नामक, एक क्रांतिकारी तकनीक विकसित की गई,; जिसने हार्मोन और उनके अंतिम उत्पादों के मापन को संभव बनाया। इसके अलावा, अनेक विकासशील और संवेदनशील विधियों ने हार्मोन आमापन की सटीकता, विशिष्टता, सटीकता और सुग्रहिता को और बढ़ाया हैं।

"इम्यूनो" एक प्रतिरक्षा प्रतिक्रिया को संदर्भित करता है जो शरीर द्वारा एंटीबॉडी का उत्पादन करने का कारण बनता है। आमापन ("परख") एक परीक्षण को संदर्भित करता है। इस प्रकार, एक इम्युनोएसे एक परीक्षण है जो एंटीबॉडी और एंटीजन को एक साथ लाए जाने पर प्रतिरक्षीसंकुलन (इम्युनोकोम्पलेक्सिंग) का उपयोग करता है।

प्रतिरक्षा आमापन तकनीक

प्रतिरक्षा परीक्षण (Immunoassay इम्यूनोअसे) का उपयोग तब किया जाता है जब किसी नमूने के भीतर किसी विश्लेष्य (analyte; एनालाइट) की अज्ञात सांद्रता को निर्धारित करने की आवश्यकता होती है। यह एक ऐसा परीक्षण है जो एक मापने योग्य परिणाम उत्पन्न करने के साधन के रूप में प्रतिरक्षी (antibody; एंटीबॉडी) और प्रतिजन (antigen; एंटीजन) कॉम्प्लेक्स का उपयोग करता है। प्रतिजन और प्रतिरक्षी के बीच अत्यधिक विशिष्ट बंधन ही, विश्लेष्यों का पता लगाने की अनुमति देता है और यह सभी इम्बुएसेज की प्राथमिक परख विशेषता होती है।

प्रथम इम्युनोएसे का वर्णन क्रमशः इंसुलिन (1959) और थायरोक्सिन की मापन के लिए येलो एंड बर्सन और एकिन्स द्वारा किया गया था।

प्रतिरक्षी (एंटीबॉडी) की आबंधक (बाध्यकारी) स्थल एंटीजन सतह पर एक एपिटोप (इम्यूनो–निर्धारक क्षेत्र) को पहचानती है और फलस्वरूप एक इम्युनोएसे की संवेदनशीलता और विशिष्टता (प्रतिरक्षी) के प्रकार और प्रतिजन (एंटीजन) के लिए इसकी बंधुता और उग्रता (avidity) द्वारा निर्धारित की जाती है। इसके अतिरिक्त, आमापन प्रारूप के आधार पर, इम्युनोएसे को गुणात्मक या मात्रात्मक के रूप से वर्गीकृत किया जा सकता है।

एक एंटीबॉडी- एंटीजन संकुल को इम्यूनो–कॉम्प्लेक्स के रूप में भी जाना जाता है।

इम्युनोएसे विशिष्ट बीमारियों, रोग बायोमार्कर, हार्मोन और औषधियों (फार्मास्यूटिकल्स) से जुड़े प्रतिरक्षी के निम्न स्तर का तेजी से पता लगाने में मदद करते हैं। इम्यूनो सेज़ को अन्य प्रयोगशाला परीक्षणों से अलग माना जाता है क्योंकि वे एक मापने योग्य संकेत उत्पन्न करने के लिए एंटीबॉडी : एंटीजन कॉम्प्लेक्स का उपयोग करते हैं। इस तरह के विश्लेषणों में मात्रा निर्धारित इम्यूनोसे विशिष्ट बीमारियों, रोग जैवचिन्हकों (बायोमार्कर), हार्मोन और फार्मास्यूटिकल्स से जुड़े एंटीबॉडी के निम्न स्तर का तेजी से पता लगाने में

मदद करते हैं। इम्यूनोसेज़ को अन्य प्रयोगशाला परीक्षणों से अलग माना जाता है क्योंकि वे एक मापने योग्य संकेत उत्पन्न करने के लिए एंटीबॉडी–एंटीजन कॉम्प्लेक्स का उपयोग करते हैं। इस तरह के विश्लेषणों में मात्रा निर्धारित किए जाने वाले विश्लेष्य शरीर में स्वाभाविक रूप से मौजूद अणु (जैसे हार्मोन) या शरीर द्वारा उत्पादित अणु हो सकते हैं जो कि सामान्य रूप से मौजूद नहीं होते हैं (जैसे कैंसर एंटीजन) या अणु जो शरीर में स्वाभाविक रूप से मौजूद नहीं होते हैं (जैसे कि दुरूपयोगित दवा)।

विश्लेष्य (analyte) : एक प्रयोगशाला परीक्षण द्वारा मापा गया।

12.2.1 प्रतिजन प्रतिरक्षी आबंधन

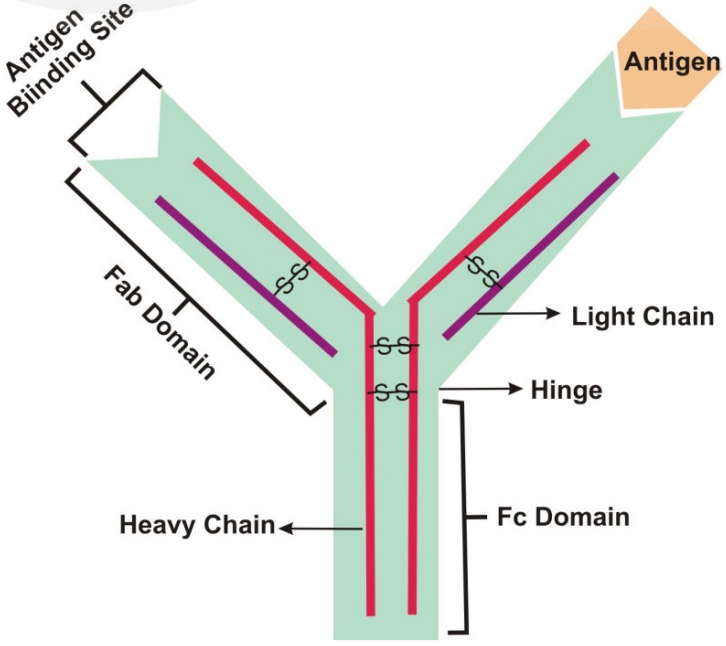
सभी इम्यूनोएसे विधियाँ एक प्रतिजन और एक प्रतिरक्षी के बीच अत्यधिक विशिष्ट और संवेदनशील अभिक्रिया पर आधारित होती हैं। संरचनात्मक रूप से, एंटीबॉडी वाई (Y)–आकार के अणु होते हैं, जिनमें चार पॉलीपेप्टाइड होते हैं। इनमें से दो इकाइयाँ समान होती हैं और भारी श्रृंखला कहलाती हैं और अन्य दो को हल्की श्रृंखला (चित्र 12.1) के रूप में जाना जाता है। प्लाज्मा कोशिकाओं द्वारा उत्पादित असंख्य एंटीबॉडी को आइसोटाइप द्वारा वर्गीकृत किया जाता है; जिनमें से प्रत्येक मुख्य रूप से संरचना परिवर्तनशीलता के कारण कार्य और प्रतिजन प्रतिक्रियाओं में भिन्न होता है। अपरास्तनियों (placental mammals) में पांच प्रमुख इम्युनोग्लोबुलिन की पहचान की गई है : आईजीजी (IgG), आईजीएम (IgM), आईजीए (IgA), आईजीई (IgE), और आईजीडी (IgD)। यह पहचान वाई–जैसी इकाइयों की संख्या और उनमें उपस्थित भारी–श्रृंखला पॉलीपेप्टाइड (γ, μ, α, ε और δ) के स्थिर क्षेत्र (constant region, Fc) में अमीनों अम्लों के अनुक्रम में अंतर के आधार पर की गई है।

एंटीजन एक ऐसा पदार्थ है जिसे शरीर एक प्रतिरक्षा प्रतिक्रिया को बढ़ाकर और एंटीबॉडी के उत्पादन को प्रेरित करके "लड़ने" (उन्मूलन या कम) करने की कोशिश कर रहा है।

एंटीबॉडी/ प्रतिरक्षी एक प्रोटीन है जो शरीर द्वारा "आक्रमणकारी" (विदेशी) पदार्थ / प्रतिजन के जवाब में निर्मित होता है। एंटीबॉडी, जिन्हें इम्युनोग्लोबुलिन के रूप में भी जाना जाता है, प्लाज्मा कोशिकाओं (WBC) द्वारा निर्मित ग्लाइकोप्रोटीन अणु हैं।

भारी श्रृंखला के अमीनो अम्ल अनुक्रमों में मामूली अंतरों के आधार पर IgG और IgA को आगे उपवर्गों में वर्गीकृत किया गया है (उदाहरण के लिए, मानवों में IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 और IgA2)। IgG, जिसे सबसे प्रचुर मात्रा में सीरम एंटीबॉडी के रूप में जाना जाता है, में तीन प्रोटीन डोमेन होते हैं, जिनमें से दो वाई की भुजाएं बनाते हैं और एक जैसे (Fab टुकड़े) होते हैं। प्रत्येक Fab क्षेत्र में एक एंटीजन के लिए एक बाध्यकारी साइट शामिल होती है। तीसरा डोमेन (पूरक–बाध्यकारी Fc टुकड़ा), जो प्रतिरक्षा प्रणाली के कार्य और विनियमन में आवश्यक है, वाई का आधार बनाता है।

एंटीजन बाइंडिंग साइटों को ले जाने वाले दो डोमन जिनमें प्रतिजन बंधन स्थल होते है, उन्हें Fab (F-fragment for a-antigen, b-binding) जाता है (एंटीजन बाइंडिंग साइट वाले टुकड़े के लिए नामित)।



चित्र 12.1 : एंटीबॉडी की संरचना।

प्रोटीन डोमेन जो प्रतिरक्षा नियमन में शामिल होता है, उसे Fc फ्रैगमेंट (F-Fragment; c-crystallizes- उस खंड के लिए जो क्रिस्टलीकृत होता है) कहा जाता है।

Fab और Fc टुकड़ों के बीच के क्षेत्र को हिंज कहा जाता है, जो दो एंटीजन बाइंडिंग डोमेन के पार्श्व और घूर्णन गति की अनुमति देता है।

प्रतिजन का वह क्षेत्र जो प्रतिरक्षी के साथ परस्पर क्रिया करता है, एपिटोप या प्रतिरक्षी निर्धारक क्षेत्र कहलाता है।

प्रतिरक्षी की प्रतिजन से बंधन उत्क्रमणीय, गैर सहसंयोजी परस्पर क्रियाओं पर आधारित होता है और प्रतिरक्षी के बंधनकारी क्षेत्र में 8–10 अमीनों अम्ल रह सकते हैं। प्रतिरक्षी–प्रतिजन परस्पर क्रिया की मजबूती प्रतिजन संरचना में थोड़े से परिवर्तन से भी प्रभावित हो सकती है। सामान्यतः उच्च बंधुता प्रतिरक्षियों को इम्यूनोएसे में वरीयता दी जाती है क्योंकि वे अधिक स्थिर संकुल बनाते हैं और निम्न बंधुता वाले प्रतिरक्षियों की अपेक्षा कम समय में अधिक प्रतिजनों से बद्ध होते हैं।

मूल इम्युनोएसे अभिक्रिया इस प्रकार है :

एंटीबॉडी (Ab) + एंटीजन (Ag) $\rightleftarrows$ एंटीबॉडी-एंटीजन (Ab-Ag)

बंधुता (affinity; एफिनिटी) प्रतिजन : प्रतिरक्षी बंधन की मजबूती का आमापन है और इसे सामान्यतः साम्यावस्था में प्रतिजन प्रतिरक्षी संकुल की मापित सांद्रता के रूप में व्यक्त किया जाता है। यह औसतन माइक्रो (10^{-6}) से पीको (10^{-12}) मोलर के बीच होती है।

एक इम्युनोएसे की प्राथमिक आवश्यकताएं इस प्रकार है :

- मात्रात्मक विश्लेष्य के लिए एक एंटीबॉडी।
- विश्लेष्य का एक लेबलीकृत रूप (इम्यूनोएसे के लेबल किए गए घटक को ट्रेसर के रूप में भी जाना जाता है)।
- या विश्लेष्य के लिए एक लेबलीकृत हुआ द्वितीय एंटीबॉडी।
- एंटीबॉडी–बाध्य ट्रेसर को अबाध ट्रेसर से अलग करने के लिए एक पृथक्करण प्रणाली।

एविडिटी एक अन्य पैरामीटर है जिसका उपयोग प्रतिजन : प्रतिरक्षी बाध्यकारी अभिक्रिया को चित्रित करने के लिए किया जाता है, और संकुल की कुल स्थिरता को निर्धारित करता है जो कि एपिटोप के लिए प्रतिरक्षी की बंधुता, प्रति प्रतिरक्षी अणु बाध्यकारी स्थलों की संख्या और इंटरेक्टिंग घटकों की ज्यामितीय व्यवस्था द्वारा अभिलक्षित होती है। एविडिटी बाध्यकारी अभिक्रिया में शामिल सभी कारकों का उच्चारण करता है, फलस्वरूप इम्युनोएसे की सफलता को निर्धरित करता है।

लेबल एक अणु है जो इम्युनोएसे के हिस्से के रूप में क्रिया करेगा, जिससे कि विलयन में संकेत में बदलाव को मापा जा सकता है। एक लेबल एक रेडियोधर्मी यौगिक है जो, एक एंजाइम द्वारा एक विलयन में रंग परिवर्तन का कारण बनता है, या एक पदार्थ हो सकता है जो प्रकाश को प्रतिदीप्त करता है।

इम्युनोएसे की असाधारण विशिष्टता, संवेदनशीलता और लचीलापन एंटीबॉडी के निम्नलिखित तीन महत्त्वपूर्ण गुणों के परिणाम हैं :

- प्राकृतिक और मानव निर्मित रसायनों, जैव–अणुओं, कोशिकाओं और वायरस की एक विस्तृत श्रंखला से जुड़ने की उनकी क्षमता।
- उस पदार्थ की अद्वितीय विशिष्टता जिससे प्रत्येक प्रतिरक्षी बंधता है।
- एक एंटीबॉडी और उसके लक्ष्य के बीच बंधन की ताकत।

बोध प्रश्न 1

क) सही कथन पर (√) सही का निशान लगाएँ :

i) एक एंटीबॉडी : एंटीजन कॉम्प्लेक्स को इम्यूनों–कॉम्प्लेक्स के रूप में भी जाना जाता है।

ii) एंटीजन संरचना में मामूली बदलाव से भी एंटीबॉडी–एंटीजन परस्पर क्रिया की ताकत प्रभावित हो सकती है।

iii) इम्यूनोएसे में लेबल, हमेशा एक रेडियोधर्मी यौगिक होता है, जो किसी घोल में रंग बदलने या प्रकाश को प्रतिदीप्त करने वाले पदार्थ का कारण बनता है।

iv) बंधुता, एंटीजन : एंटीबॉडी बंधन की ताकत का माप है।

ख) उचित शब्दों से रिक्त स्थानों की पूर्ति कीजिए :

i) एक इम्युनोएसे के लेबल किए गए घटक को ..... के रूप में भी जाना जाता है।

ii) प्रतिजन का वह क्षेत्र जो प्रतिरक्षी के साथ परस्पर क्रिया करता है, ... कहलाता है।

iii) ..... इम्युनोएसे में पसंद किया जाता है क्योंकि वे अधिक स्थिर संकुलों का निर्माण करते है और कम–बंधुता एंटीबॉडी की तुलना में कम अवधि में अधिक एंटीजन को बांध सकते हैं।

12.3 इम्यूनोएसे के प्रकार

लेबल के उपयोग से विश्लेष्य आमापन के आधार पर, इम्युनोएसे को मोटे तौर पर प्रतिस्पर्धी (competetive; कॉम्पीटीटिव) (non-competitive; नॉन कॉम्पीटीटिव) में बाँटा गया है।

प्रतिस्पर्धी विधि : प्रतिस्पर्धी इम्युनोएसे सामान्यतः छोटे अणुओं जैसे कि औवधी और स्टेरॉयड के लिए प्रयोग किया जाता है। प्रतिरस्पर्धी इम्युनोएसे रेडियोधर्मी लेबलीकृत प्रतिजन (Ag) की निश्चित मात्रा और नमूने में एक प्रतिरक्षी पर बाध्यकारी स्थलों की सीमित युक्त गैर लेबलीकृत (या ठंडा) प्रतिजन (Ag) की अज्ञात मात्रा के बीच प्रतिस्पर्धी अभिक्रिया पर आधारित है।

दूसरे शब्दों में, हम कह सकते हैं कि प्रतिस्पर्धी आमापनों में, परीक्षण नमूने में बिना लेबल वाले विश्लेष्य (आमतौर पर एंटीजन) को लेबल किए गए एंटीजन के साथ प्रतिस्पर्धा करने की क्षमता से मापा जाता है। लेबल रहित एंटीजन लेबल किए गए एंटीजन की बाध्यकारी क्षमता को अवरूद्ध करता है क्योंकि एंटीबॉडी पर बाध्यकारी साटइ पहले से ही व्याप्त है। नतीजतन, एक प्रतिस्पर्धी इम्युनोएसे में, कम लेबल वाले एंटीजन को मापा जा रहा है जिसका मतलब है कि बिना लेबल वाले (परीक्षण नमूना) एंटीजन का अधिक हिस्सा मौजूद है। इम्यूनोएसे के प्रतिस्पर्धी प्रारूप में, परीक्षण नमूने में एंटीजन की मात्रा मापी गई लेबल की मात्रा से विपरीत रूप से संबंधित होती है।

गैर–प्रतिस्पर्धी (सैंडविच) विधि

गैर–प्रतिस्पर्धी आमापन मुख्य रूप से उच्चतम विशिष्टता और संवेदनशीलता प्रदान करता है और ह्रदय संबधी (कार्डियक) और हेपेटाइटिस चिन्हकों जैसे महत्त्वपूर्ण विश्लेष्यों को मापने के लिए फायदेमंद है। इस आमापन को "सैंडविच" आमापन के रूप में भी जाना जाता है क्योंकि विश्लेष्य दो अत्यधिक विशिष्ट एंटीबॉडी अभिकर्मकों के बीच बंधा हुआ (सैंडविच) है।

इस पद्धति में, लेबल किए गए विश्लेष्य (आमतौर पर एंटीबॉडी) का मापन, नमूने में मौजूद एंटीजन की मात्रा के सीधे आनुपातिक होता है। इस प्रकार, परीक्षण विलयन में जितने अधिक एंटीजन मौजूद होंगे, उतने ही अधिक लेबल वाले एंटीबॉडी बाध्य होंगे।

पहचान के तरीके, विश्लेष्य से जुड़े लेबल और प्रतिरक्षी के आधार पर, इम्युनोएसे को निम्नानुसार वर्गीकृत किया जा सकता है :

- **रेडियोइम्यूनोएसे या इम्यूनोरेडियोमेट्रिक आमापन –** विश्लेष्यों और एंटीबॉडी से जुड़े लेबल रेडियोधर्मी होते हैं (जैसे, आयोडीन–125)।

- **एंजाइम इम्यूनोएसे या इम्यूनोमेट्रिक आमापन, या एंजाइम से जुड़े इम्युनोसॉरबेंट आमापन** [**एलिसा; ELISA-** enzyme linked immunosorbent assay] **–** विश्लेष्यों और एंटीबॉडी से जुड़े लेबल एल्कलाइन फॉस्फेटेज (alkaline phosphatase) और हॉर्स रैडिश परऑक्सीडेज (horse raddish peroxidase) जैसे एंजाइम होते हैं।

- **फ्लोरोइम्यूनोएसे** : विश्लेष्यों से जुड़े लेबल फ्लोरोसेंट प्रोब (जैसे, फ्लोरेसिन) हैं, जो फ्लोरोसेंट सिग्नल का उत्सर्जन करते हैं।

- **केमिलुमिनेसेंस इम्यूनोएसे** : लेबल (जैसे, एक्रिडिनियम एस्टर) एक सब्सट्रेट को एक अभिक्रिया उत्पाद में परिवर्तित करते है, जो एक रंग विकसित करने के बजाय प्रकाश के एक फोटॉन का उत्सर्जन करता है। यह तकनीक अति–संवेदनशील है और जैविक अणुओं की सूक्ष्म सांद्रता को पहचान सकती है।

सामान्य तौर पर, रक्त में हार्मोन सांद्रता को निम्नलिखित दो तरीकों से मापा जाता है :

12.4 रेडियोइम्यूनो परीक्षण

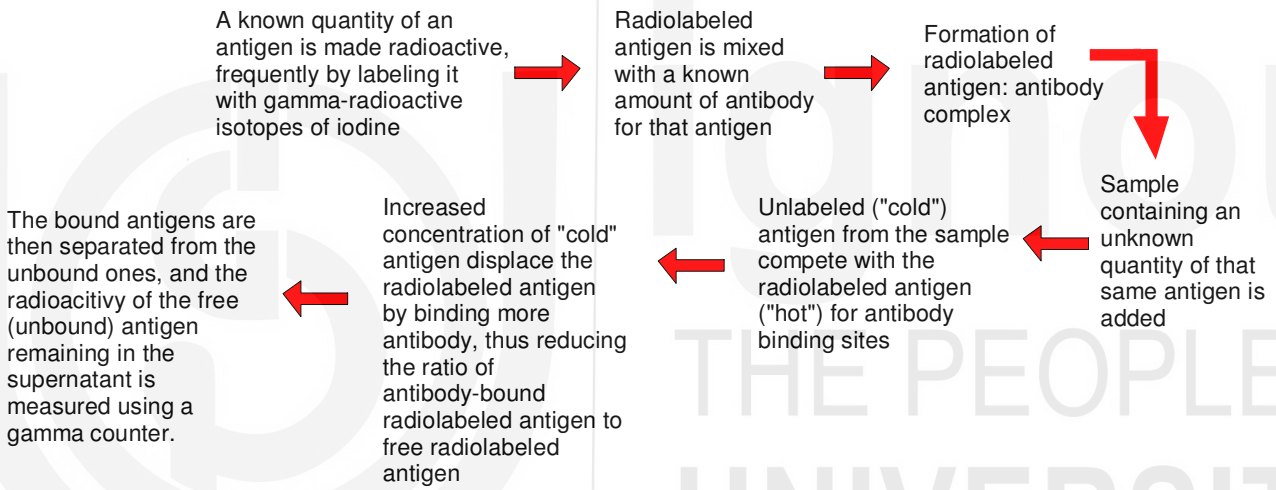
रेडियोइम्यून परीक्षण (RIA; Radio immuno assay) एक प्रतिस्पर्धी–बाध्यकारी आमापन का पारंपरिक मॉडल है। यह एक अत्यधिक संवेदनशील प्रयोगशाला तकनीक है जिसका उपयोग शरीर के तरल पदार्थो में मौजूद एंटीजन, हार्मोन और दवाओं जैसे पदार्थों की सांद्रता को मापने के लिए किया जाता है। यह विधि प्राणी विज्ञान (zoology; जूलॉजी) में परमाणु भौतिकी का एक अनुप्रयोग है, क्योंकि रेडियोधर्मी समस्थानिकों का उपयोग प्रतिरक्षात्मक क्रियाओं को मापने के लिए किया जाता है।

RIA तकनीकों की शुरूआत ने रक्त में विभिन्न हार्मोन के परिसंचारी स्तरों का पता लगाने की अनुमति दी है। इसमें एक रेडियोलेबलीकृत और गैर–लेबल हार्मोन का एक उच्च–बंधुता एंटीबॉडी के लिए प्रतिस्पर्धी बंधन शामिल है। लेबलीकृत हार्मोन एंटीबॉडी–बाध्यकारी साइटों के लिए लेबल रहित हार्मोन के साथ प्रतिस्पर्धा करते हैं। हार्मोन की ज्ञात मात्रा के साथ एक मानक वक्र (standard curve) का उपयोग नमूनों में हार्मोन की सांद्रता की गणना करने के लिए किया जाता है। नीचे दिए गए बिंदु RIA तकनीक को बेहद सटीक और अन्य प्रतिरक्षा परीक्षणों के प्रति संवेदनशील बनाते हैं।

- एक प्रतिरक्षा अभिक्रिया यानी प्रतिजन : प्रतिरक्षी बंधन।

- एक प्रतिस्पर्धी बाध्यकारी अभिक्रिया, जो विशिष्टता प्रदान करती है।
- रेडियोधर्मी टैग का उपयोग हार्मोन की कम सांद्रता का पता लगाने की अनुमति देता है।
- रेडियो उत्सर्जन का मापन, जो संवेदनशीलता प्रदान करता है। रेडियो लेबलीकृत एंटीजन से गामा किरणों को मापा जाता है।

वांछित प्रयोगात्मक लक्ष्य को प्राप्त करने के लिए, रेडियोइम्यूनोसे का उपयोग कई तरीकों से किया जा सकता है। हालांकि, सामान्य तौर पर, अभी भी उपयोग में आने वाले अधिकांश रेडियोइम्यूनोएसे एक ठोस–अवस्था वाले आधार के लिए एंटीबॉडी या एंटीजन के बंधन पर आधारित होते हैं, जैस कि माइक्रोटाइटर प्लेट के पॉलीस्टाइरिन या पॉलीविनाइलक्लोराइड कुएं। सबसे अधिक उपयोग किया जाने वाला रेडियोधर्मी लेबल I^{125} है, जो प्रोटीन की समग्र संरचना पर बिना किसी महत्त्वपूर्ण प्रभाव के, उस पर उजागर टायरोसिन अवशेषों के साथ बांधता है (चित्र 12.2)।



चित्र 12.2 : रेडियो इम्यून परीक्षण की विधि।

12.5 एन्जाइम लिन्कड इम्युनोसोरबेन्ट एसे (एलिसा; ELISA)

एलिसा (ELISA), जो एक प्लेट–आधारित आमापन तकनीक है, एक नमूने में विशिष्ट विश्लेषकों (जैसे पेप्टाइड्, प्रोटीन, एंटीबॉडी और हार्मोन) की मात्रा/सांद्रता का पता लगाने और इसकी मात्रा निर्धारित करने के लिए तैयार की गई है। ये आमापन सिद्धांत रूप से रेडियोइम्यूनोएसे के समान हैं, लेकिन रेडियोसमस्थानिक, के बजाय एंटीबॉडी या एंटीजन सहसंयोजी रूप से एंजाइमों से बंधे होते हैं। इसके अलावा, एलिसा में विश्लेष्यों के स्थिरीकरण की आवश्यकता होती है, परिणामस्वरूप, एंटीबॉडी या एंटीजन आमतौर पर एक पॉलीस्टाइरिन मल्टीवेल प्लेट जैसी एक ठोस सतह पर स्थिर होते हैं, और फिर संसूचक प्रणाली (डिटेक्टर सिस्टम; detector system) के साथ जुड़े होता है।

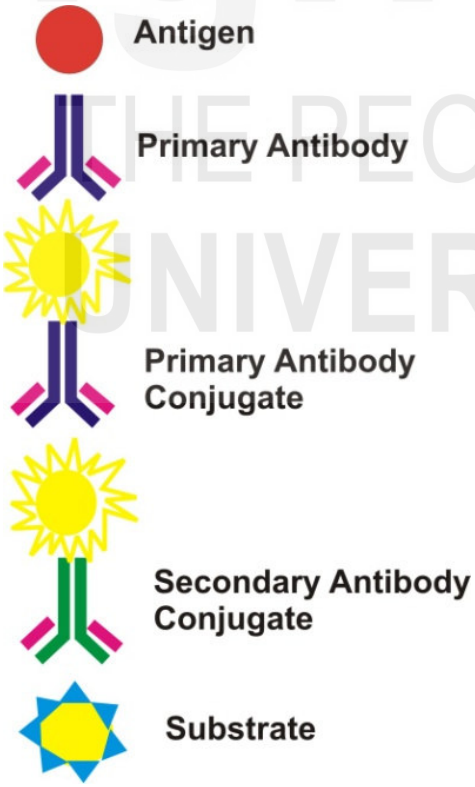
एलिसा में संसूचक प्रणाली आमतौर पर एक अभिकारक (एक Ab या विश्लेष्य) से जुड़ा एक एंजाइम (उदाहरण के लिए, हॉर्सरैडिश परॉक्सीडेज, एल्केलाइन फॉस्फेटेज) होता है।

एलिसा में उपयोग किए जाने वाले सामान्य वर्णोत्पादक (क्रोमोजेन; chromogen) में पैरा–नाइट्रोफिनाइल फॉस्फेट और 2, 2'–एज़िनो डाई – (3–एथिलबेन्ज़–थियाज़ोलिन सल्फ़ोनिक अम्ल, ओरथो–फिनाइलीनडायमीन, और टेट्रामेथिलबेन्ज़िडाइन) शामिल हैं। संयुग्मित एंजाइमों का चयन उनकी एक सब्सट्रेट के रंगीन, फ्लोरोसेंट, या केमिलुमिनसेंट उत्पाद में रूपांतरण को उत्प्रेरित करने की क्षमता के आधार पर किया जाता है।

एलिसा आमापन रेडियोइम्यूनोसे की सुग्रहिता से मेल खाती है और नमूनों में एंटीजन और यह नमूने में प्रतिजन या एंटीबॉडी के गैर–खतरनाक तरीके से पता लगाने का आसान, कम खर्चीला परिक्षण है।

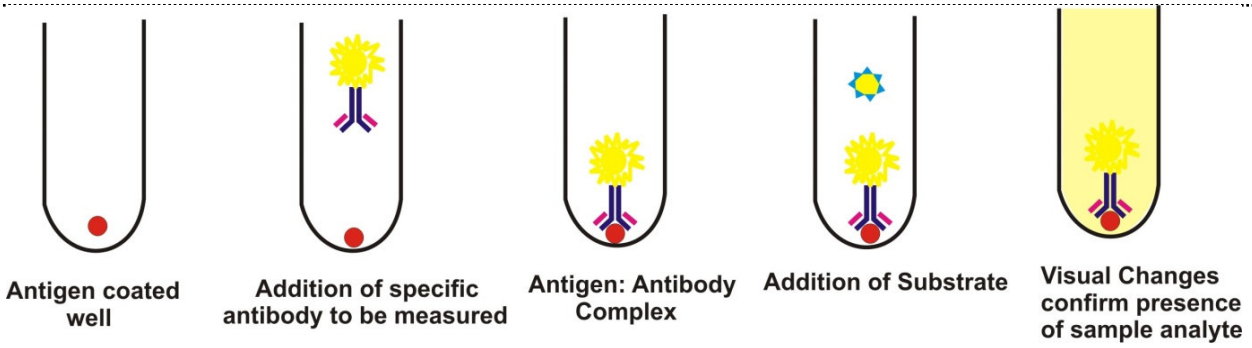
एंजाइम–लिंक्ड इम्युनोसॉरबेंट एसे (एलिसा) सबसे आम इम्युनोसे प्रकार हैं, और एलिसा आमापनों को सामान्य रूप से वर्गीकृत किया जा सकता है : (i) प्रत्यक्ष / परोक्ष एलिसा, (ii) अपरोक्ष एलिसा, और (iii) सैंडविच एलिसा।

प्रत्यक्ष एलिसा : मुख्य रूप से एक प्रत्यक्ष एलिसा परीक्षण में, एंटीजन को एक पॉलीस्टाइरिन प्लेट में सोख लिया जाता है, और फिर अन्य सभी बाध्यकारी साइटों को अवरूद्ध करने के लिए एक अन्य प्रोटीन (सामान्य रूप से गोजातीय सीरम एल्ब्यूमिन; bovine serum albumin) को अधिकता में डाला जाता है। एंजाइम के लिए संयुग्मित एंटीबॉडी को एंटीजन का पता लगाने के लिए प्रयोग किया जाता है।



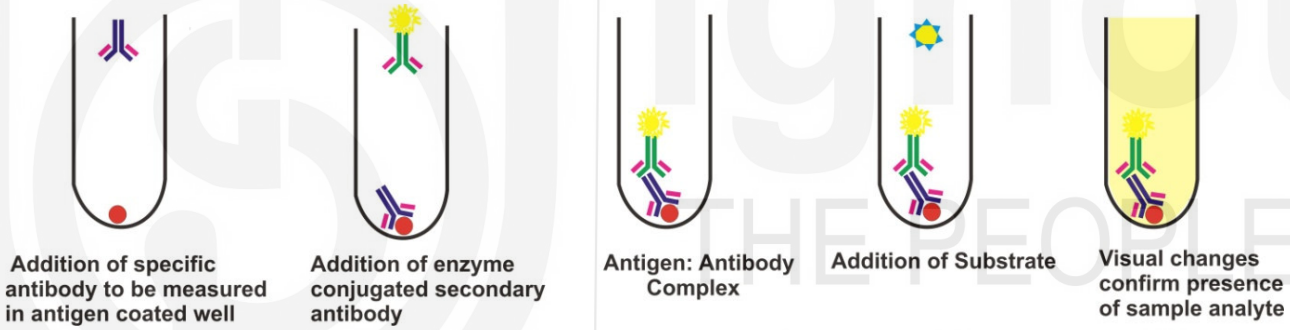
चित्र 12.3 : एलिसा आरेखों में प्रयुक्त संकेत।

अतिरिक्त एंजाइम–एंटीबॉडी कॉम्प्लेक्स को धोने के बाद, एन्जाइम के लिए उपयुक्त सब्सट्रेट डालने पर दिखाई देने वाले परिवर्तन होते हैं जो एंटीजन के संकेत को दर्शाता है (चित्र 12.3 और 12.4)।



चित्र 12.4 : प्रत्यक्ष एलिसा।

अप्रत्यक्ष एलिसा : अप्रत्यक्ष एलिसा में, सीरम या प्राथमिक एंटीबॉडी युक्त कोई अन्य नमूना माइक्रोटाईटर वेल से जुड़े एंटीजन के साथ अभिक्रिया करता है और एक प्राथमिक एंटीजन–एंटीबॉडी कॉम्प्लेक्स बनाता है, जिसे एंजाइम अणुओं द्वारा द्वितीयक (अभिज्ञान) एंटीबॉडी से संयुग्मित किया जाता है। एक उपयुक्त सब्सेट्रेट को जोड़ने के बाद, एंजाइम एक रंगीन अंत–उत्पाद के उत्पादन को उत्प्रेरित करता है, जिसे दृष्टिगत और परिमाणित किया जा सकता है (चित्र 12.5), अक्सर उपयोग किए जाने वाले एल्केलाइन फॉस्फेटेज (एपी) या हॉर्सरैडिश पेराक्सीडेज (एचआरपी) हैं
।

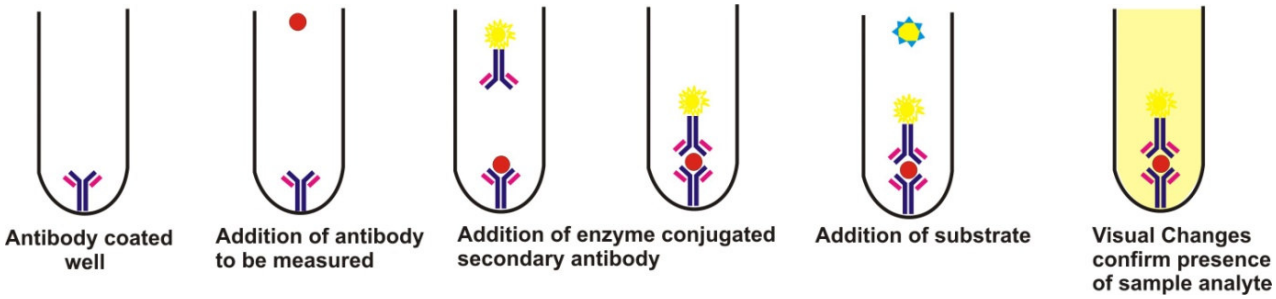


चित्र 12.5 : अप्रत्यक्ष एलिसा।

प्रत्यक्ष और अप्रत्यक्ष दोनों आमापन में प्रतिजन पॉलीस्टाइरीन वेल से प्रत्यक्ष रूप से बद्ध होता है और केवल उपयोग की गई अभिज्ञान प्रतिरक्षी में भिन्नता होती है। प्रत्यक्ष एलिसा में केवल एक एंडीबाडी प्रयोग की जाती है। यह एकल एंटीबॉडी अभिज्ञान एन्जाइम से सीधा युग्मित होती है। अप्रत्यक्ष एलिसा में दो एंटीबॉडी की आवश्यकता होती है : एक प्राथमिक एंटीबॉडी और एक एंजाइम से जुड़े द्वितीयक एंटीबॉडी जो प्राथमिक एंटीबॉडी के पूरक, होती है। प्रत्यक्ष एलिसा में सुग्राहिता कम होती है क्योंकि आमापन से उत्पन्न संकेत अप्रत्यक्ष एलिसा की तुलना में कम प्रवर्धित होता है; हालाँकि, उन्हें बहुत तेज़ी से निष्पादित किया जा सकता है क्योंकि पता लगाने के लिए केवल एक चरण की आवश्यकता होती है।

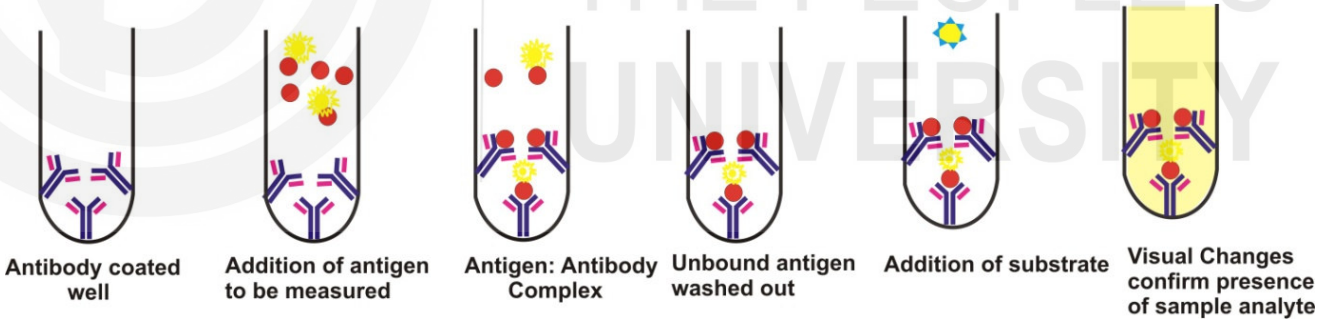
सैंडविच एलिसा : सैंडविच (capture; कैप्चर) एलिसा में, एंटीबॉडी (एंटीजन के बजाय) माइक्रोटाईटर कूप पर स्थिर होती है, और अज्ञात मात्रा में एंटीजन युक्त नमूना स्थिर एंटीबॉडी के साथ अभिक्रिया करता है। अपरिबद्ध (अनबाउंड) नमूने को धोकर हटा दिया जाता है, और एंटीजन पर एक अलग एपिटोप के लिए विशिष्ट एंजाइम– बाध्य द्वितीय एंटीबॉडी को जोड़ा जाता है, जो प्राथमिक एंटीबॉडी पर पहले से ही बाध्य एंटीजन के साथ क्रिया करता है। धोकर किसी भी मुक्त द्वितीय एंटीबॉडी को हटा दिए जाने के

बाद, एक उपयुक्त सब्सट्रेट जोड़ा जाता है, और रंगीन प्रतिक्रिया उत्पाद को मापा जाता है (चित्र 12.6)। उत्पादित रंग की मात्रा मूल नमूने में मौजूद एंटीजन की मात्रा के सीधे आनुपातिक होती है। यह आमापन व्यवस्था दो एंटीजन–विशिष्ट एंटीबॉडी का उपयोग करता है, इस प्रकार इसे सैंडविच आमापन कहा जाता है (चित्र 12.6)।



चित्र 12.6 : सैंडविच (कैप्चर) एलिसा।

प्रतिस्पर्धी एलिसा : इस पद्धति में, प्रतिस्पर्धी बंधन मूल प्रतिजन (नमूना प्रतिजन) और ऐड–इन प्रतिजन द्वारा पूरा किया जाता है। प्राथमिक एंटीबॉडी (बिना लेबल वाले) को प्रतिजन युक्त नमूने के साथ घोल में उष्मायित किया जाता है। इसके बाद, एंटीबॉडी–एंटीजन कॉम्प्लेक्स को 96–वेल प्लेट में डाला जाता है और इन वेल प्लेट को अधिमानतः एक ही एंटीजन के साथ पूर्व–लेपित किया जाता है। इसके बाद अपरिबद्ध एंटीबॉडी को हटाने के लिए प्लेट को धोया जाता है (चित्र 12.7)। नमूने में जितने अधिक लक्ष्य प्रतिजन मौजूद होंगे, पूर्व–लेपित कूप में प्रतिजन को बांधने के लिए कम मुक्त प्रतिरक्षी उपलब्ध होगा, इसलिए "प्रतियोगिता" शब्द उचित है। द्वितीयक एंटीबॉडी, जो प्राथमिक एंटीबॉडी के लिए विशिष्ट और एक एंजाइम के साथ संयुग्मित है, को डाला जाता है, जिसके बाद सब्सट्रेट डाला जाता है। शेष एंजाइम तब एक क्रोमोजेनिक या फ्लोरोसेंट संकेत उत्पन्न करते हैं (चित्र 12.7)।



चित्र 12.7 : प्रतिस्पर्धी एलिसा।

एलिसा को गुणात्मक या मात्रात्मक के रूप में उपयोग किया जाता सकता है। गुणात्मक परिणाम नमूने के लिए सकारात्मक या नकारात्मक परिणाम प्रदान करते हैं। हालांकि, मात्रात्मक परिणामों में, देखे गए रंगीन उत्पाद की मात्रा एंजाइम–बाध्य एंटीबॉडी की मात्रा के सीधे आनुपातिक होगी जो प्राथमिक एंटीबॉडी से बाध्य हैं और फिर एंटीजन से। एंटीबॉडी या एंटीजन की ज्ञात मात्रा वाले मानकों का उपयोग नमूने के भीतर एंटीजन/एंटीबॉडी की सांद्रता को निर्धारित करने के लिए किया जा सकता है। मानक विलयनों के श्रंखला बद्ध तनूकरण एवं अवशोषणांक मान का उपयोग करके एक मानक वक्र बनाया जाता है। इसके बाद, ऐसे आरेखों का उपयोग उनके अवशोषणांक मान पर विचार करके एंटीबॉडी/एंटीजन की सांद्रता को निर्धारित करने के लिए किया जाता सकता है।

12.6 सारांश

अब तक हमने जो पढ़ा है आइए संक्षेप में जानते है :

- एंटीबॉडी इम्युनोग्लोबुलिन होते हैं जिनमें संबंधित एंटीजन के लिए सटीक प्रतिक्रियाशील बाध्यकारी साइटें होती हैं।
- प्रतिजनों में विशिष्ट प्रतिरक्षी से बंधने के लिए निश्चित प्रतिक्रियाशील स्थल होते हैं जिन्हें एपिटोप या प्रतिजनी निर्धारक कहते हैं।
- एक प्रतिरक्षी एक प्रतिजन (विश्लेषक) से बंधता है और एक प्रतिरक्षी संकुल (एंटीबॉडी : प्रतिजन) बनाता है, जो प्रतिरक्षी परीक्षणों का आधार है।
- इम्यूनोएसे में एक प्रमुख कारक एक नमूना विलयन में लक्ष्य विश्लेष्य के लिए प्रतिरक्षी की प्रतिक्रिया होता है। इम्यूनोएसे की विशिष्टता मुख्यतः उपयोग की जाने वाली एंटीबॉडी की विशिष्टता द्वारा निर्धारित होती है।
- इम्यूनोएसे को अनेक लेबल की मदद से देखा जा सकता है जैसे एन्जाइम (उदाहरणतः एल्केलाइन फॉस्फेटेज और हार्स रेडिश परॉक्सीडेज) जो रंगीन अंतिम उत्पाद उत्पन्न करते है या रेडियोधर्मी लेबल जैसे कि I^{125} जो बेहतर सुग्राहिता और सटीकता देते हैं।
- साधारण इम्यून आमापन जैसे RIA या ELISA अंतस्त्रावी विज्ञान प्रयोगशाला में अपनी प्रबलता और उच्च सुग्राहिता के कारण प्रमुख भूमिका अदा करते हैं। इन्हें अभी तक जटिल तकनीकों द्वारा विस्थापित नहीं किया जा सका जिसका कारण है विभिन्न प्रतिरक्षियों द्वारा संभावित व्यवधान, जिससे विधि की सुग्राहिता और विशिष्टता कम हो सकती है।

12.7 पाठांत प्रश्न

1. प्रतिरक्षी और प्रतिजन को परिभाषित कीजिए।
2. रेडियोइम्यूनोएसे के सिद्धांत की व्याख्या करें?
3. प्रत्यक्ष एलिसा विधि अप्रत्यक्ष एलिसा से किस प्रकार भिन्न है?

12.8 उत्तर

बोध प्रश्न

1. क) i) सही
   ii) सही
   iii) गलत
   iv) सही

ख) i) अनुरेखक

ii) एपिटोप

iii) उच्च बंधुता एंटीबॉडी

पाठांत प्रश्न

1. एंटीजन एक पदार्थ है जिसे शरीर प्रतिरक्षा प्रतिक्रिया को बढ़ाकर और एंटीबॉडी के उत्पादन को प्रेरित करके उनसे लड़कर उन्हें समाप्त या कम करने की कोशिश कर रहा है। एंटीबॉडी एक प्रोटीन है जो शरीर द्वारा "आक्रमणकारी" (विदेशी) पदार्थ के जवाब में निर्मित होता है। एंटीबॉडी, जिन्हें इम्युनोग्लोबुलिन के रूप में भी जाना जाता है, प्लाज्मा कोशिकाओं (श्वेत रक्त कोशिकाओं) द्वारा निर्मित ग्लाइकोप्रोटीन अणु हैं।

2. रेडियोइम्यूनोएसे (आरआईए) का अर्थ है प्रतिजन–प्रतिरक्षी विशिष्ट बंध का प्रयोग कर एक मिश्रण से प्रोटीन का पृथक्करण और रेडियोधर्मिता द्वारा मात्रा नापना।

3. अप्रत्यक्ष और प्रत्यक्ष दोनों प्रकार के परीक्षणों में एंटीजन सीधे पॉलीस्टाइरिन वेल से बंधे होते हैं और केवल उपयोग किए जाने वाले अभिज्ञान एंटीबॉडी में भिन्न होते है। प्रत्यक्ष एलिसा में केवल एक एंटीबॉडी का उपयोग किया जाता है – यह एकल एंटीबॉडी सीधे डिटेक्शन एंजाइम में संयुग्मित होता है।

   अप्रत्यक्ष एलिसा को दो एंटीबॉडी की आवश्यकता होती है–एक प्राथमिक एंटीबॉडी और एक एंजाइम–लिंक्ड सेकेंडरी एंटीबॉडी जो प्राथमिक एंटीबॉडी का पूरक होता है। प्रत्यक्ष एलिसा को कम सुग्राहिता के लिए जाना जाता है क्योंकि अप्रत्यक्ष एलिसा की तुलना में परख से उत्पन्न संकेत कम प्रवर्धित होता है; हालाँकि, उन्हें बहुत तेज़ी से निष्पादित किया जा सकता है क्योंकि पता लगाने के लिए केवल एक चरण की आवश्यकता होती है।