

BIOLÓGIA ALAPJAI

Biológiai membránok

Genetikai szabályozás

Enzimes szabályozás

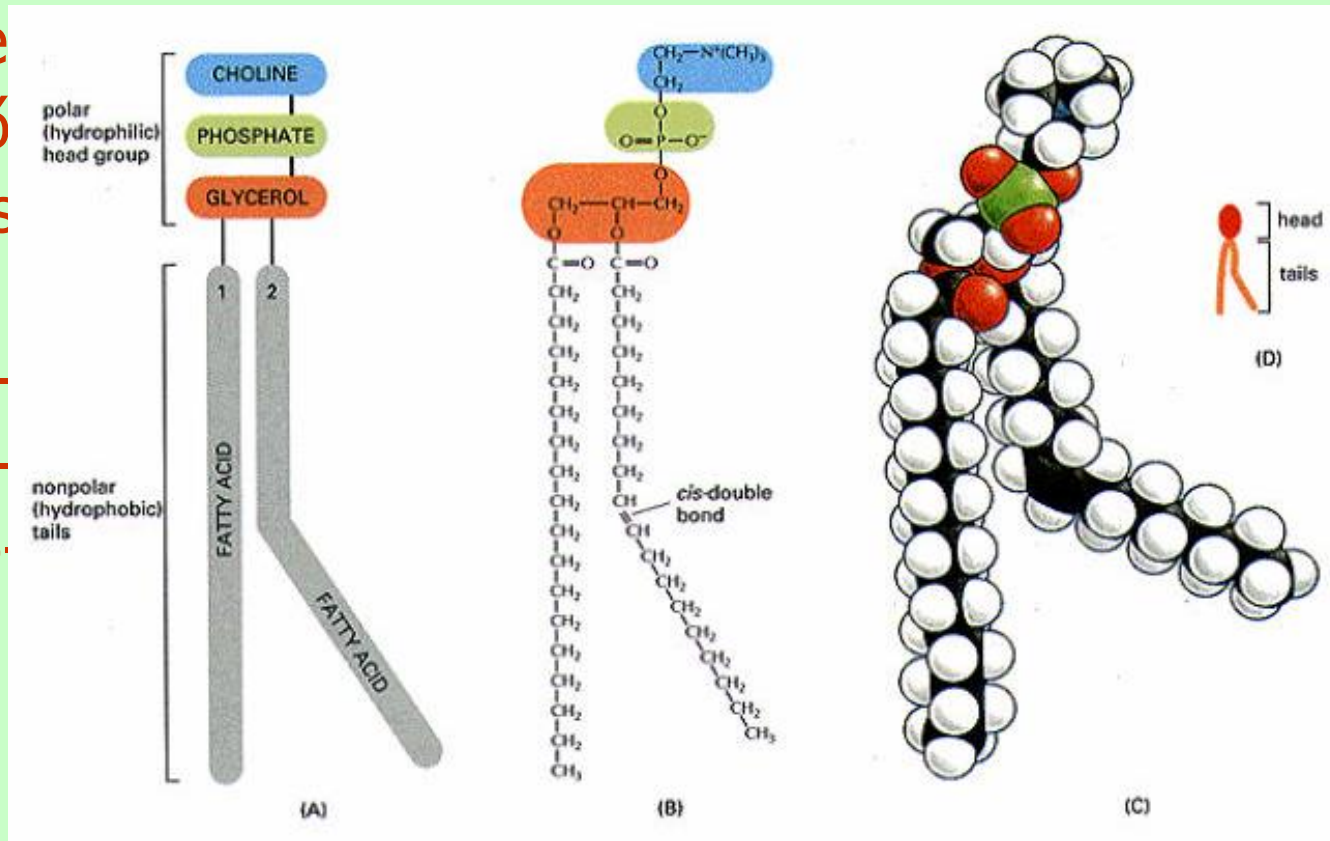
Dr. Bakos Vince - 2017/18. ősz



Biológiai membránok

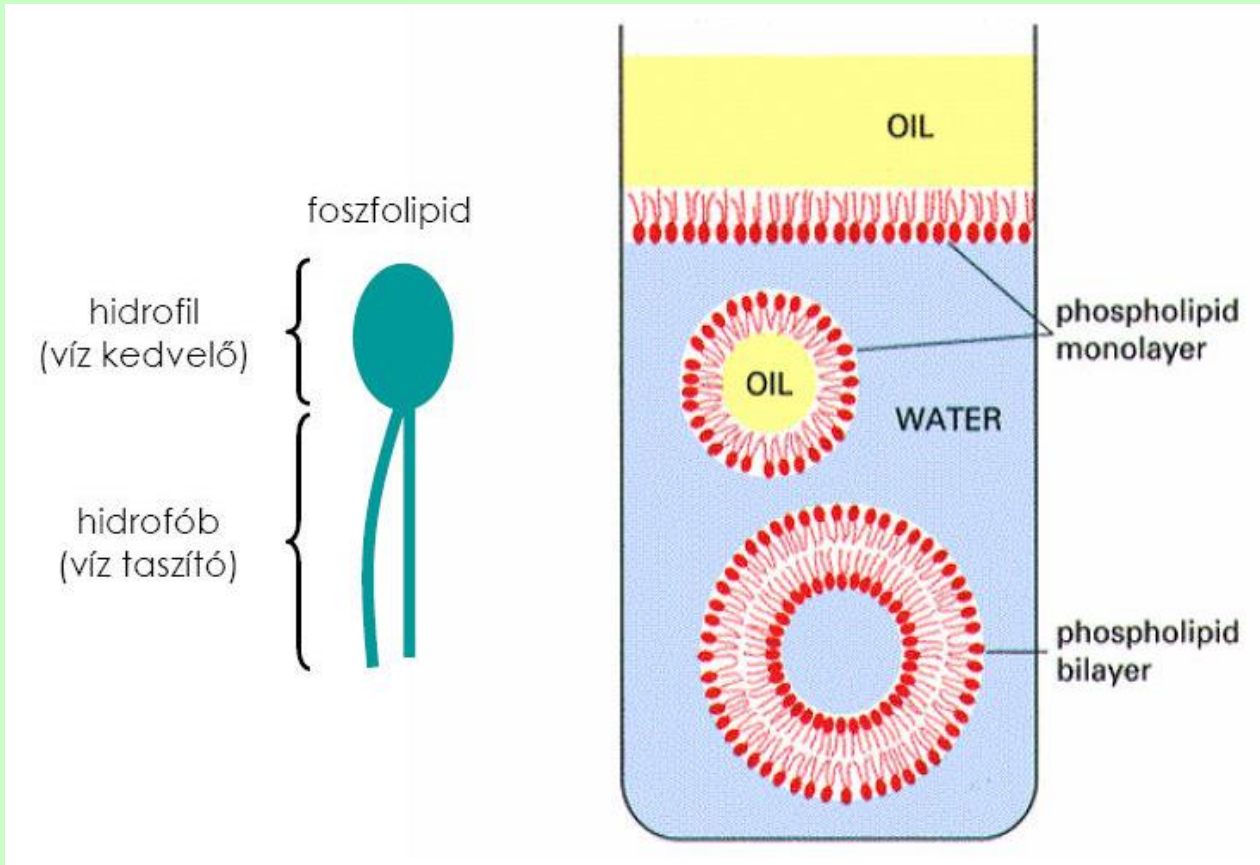
1. Szerkezet: foszfolipid kettősréteg + fehérjék

A foszfolipid molekulák két részből állnak: apoláris (hidrofób) alkil-láncokból és poláris (hidrofil) foszfor-sav- és aminos-csoportokból.



Biológiai membránok kialakulása

Irányított elhelyezkedés:



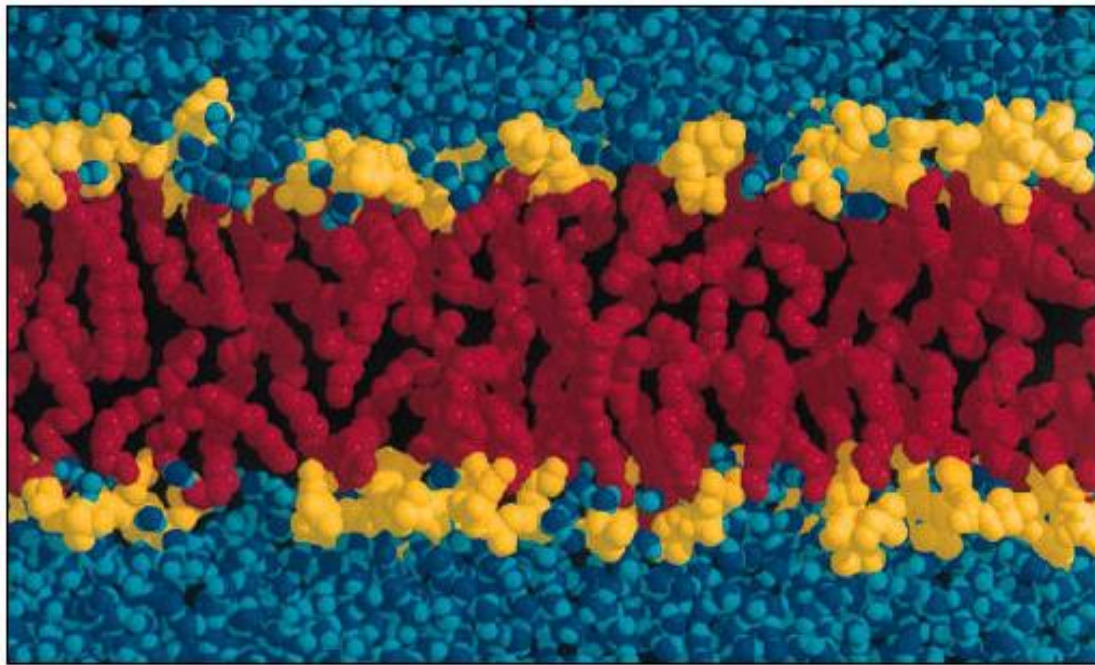
» Monolayer

» Micella

» Kettősréteg

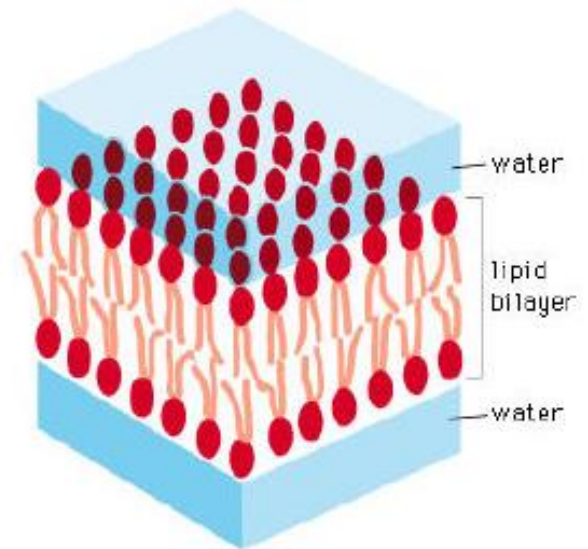


A foszfolipid kettősréteg szerkezete



(A)

1 nm

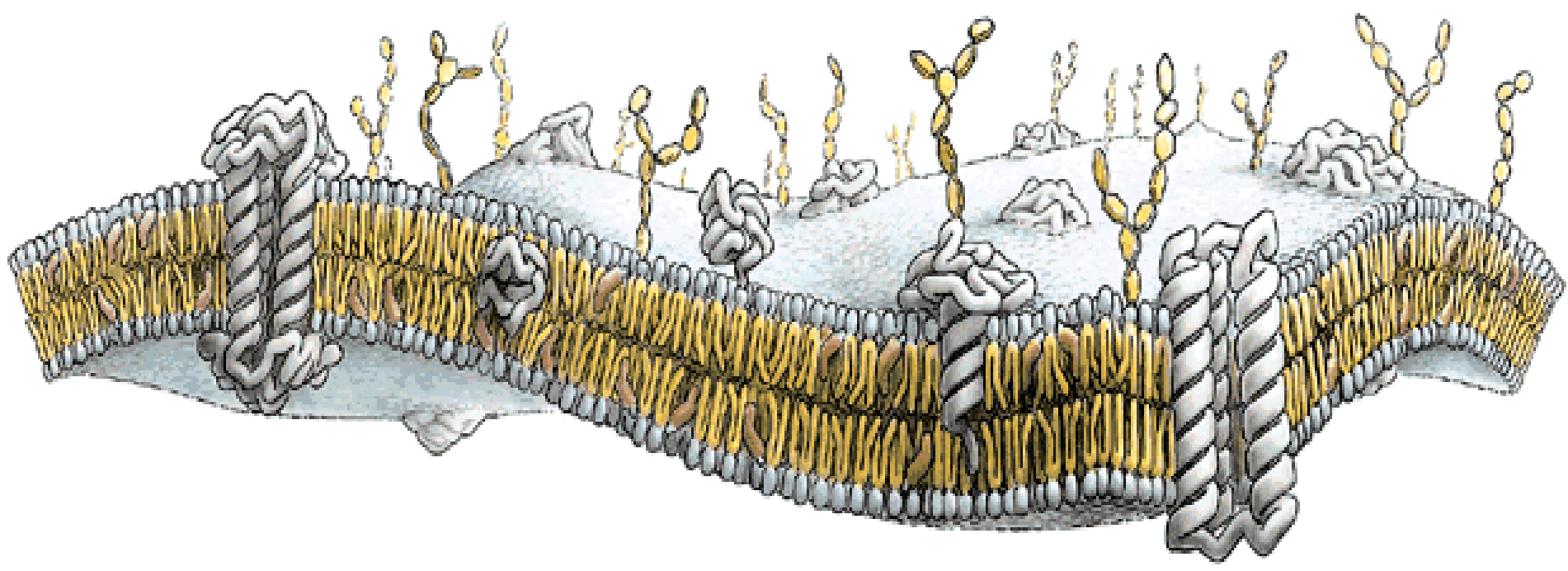


(B)



Membránfehérjék

Integráns és periferiális membránfehérjék
Folyékony mozaik modell (Singer-Nicolson féle fluid)



A membránok funkciói

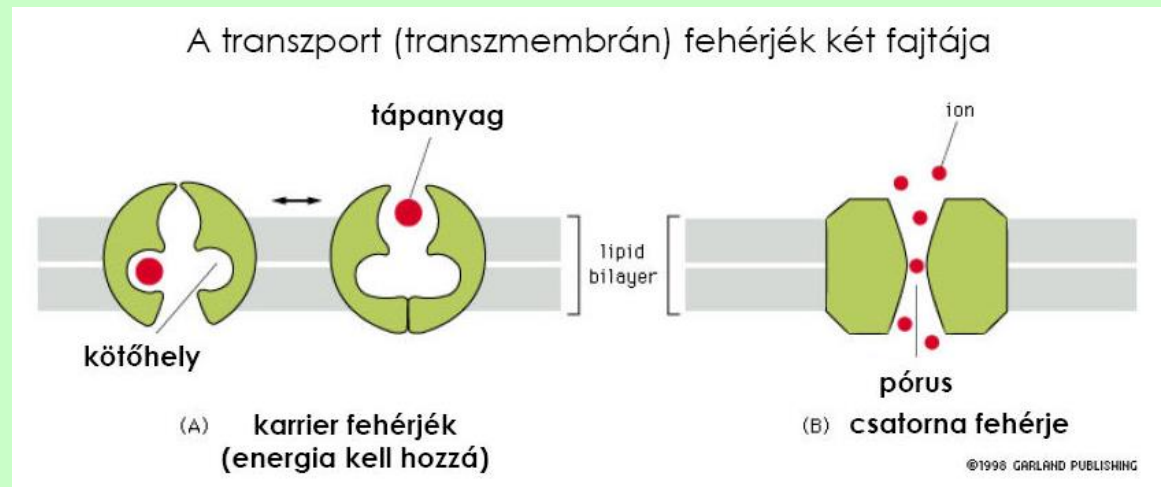
Elválaszt és összeköt a külső térrel

Diffúziós gát funkció – ozmotikus gát funkció

Szelektív transzportok

Transzportok típusai:

- passzív transzport
- aktív transzport
- hordozós (facilitált) transzport



Biológiai membránok a sejtekben

Citoplazmamembrán (külső sejthártya)

Sejtmaghártya

Egyéb sejszervecskék membránjai:

- » Mitokondrium
- » Endoplazmatikus retikulum
- » Golgi készülék
- » Kloroplaszt
- » Sejtzárványok burka
- » Speciális (retina, idegsejt)



BIOLÓGIAI SZABÁLYOZÁSOK

A biológiai szabályozásoknak különböző szintjei vannak:

- Kémiai szuperrendszerek (CHEMOTON elmélet, Gánti Tibor; homeosztázisban 3 alrendszer: anyagcsere, információ, határoló)
- Genetikai szintű szabályozás (replikáció, transzkripció)
- Enzimműködés szabályozása (enzimkatalízis)
- Sejtosztódás szabályozása
- Egyedfejlődés szabályozása
- Hormonális szabályozás
- Idegi szabályozás
- Magatartás szabályozása: etológia, szociológia
- Szupraindividuális szabályozás: ökológia része

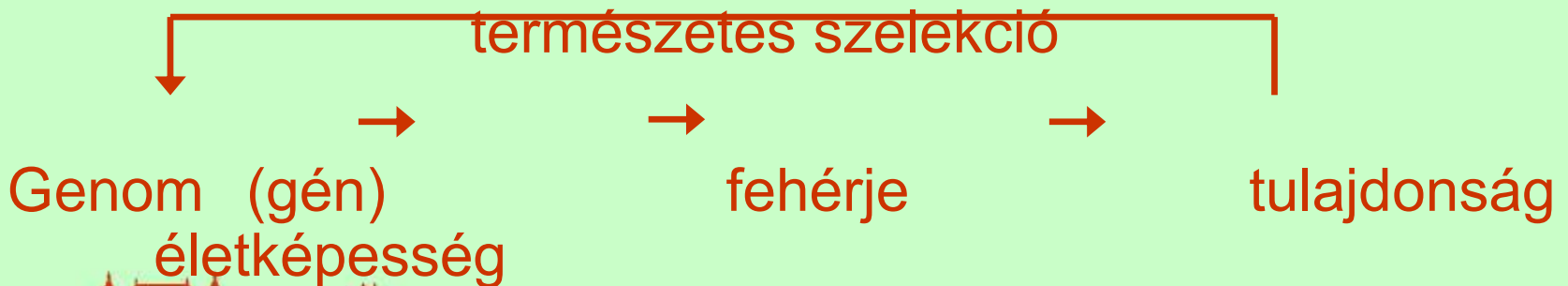


Genetikai szabályozás

A genom (génállomány) „célja” a fennmaradás és elszaporodás. Ehhez két dolog kell:

- Biztosítani kell a genom állandóságát, precízen kell másolni.
- A leghatékonyabban kell elszaporodnia.

Ha a két cél konfliktusba kerül egymással, a második érvényesül, ez a fontosabb. Ha a szaporodás érdekében meg kell változnia a génállománynak, akkor változzon meg.



Mutáció

... az örökítő anyagban bekövetkezett ugrásszerű változás, ami átöröklődik az utódokra.

Belső okok: a másolórendszer tökéletlenségéből eredő hibák: kb. 1 hiba/millió másolt bázis

Külső okok: a környezet mutagén hatásai:

- kémiai anyagok reagálnak a DNS-sel és megváltoztatják azt
- fizikai okok: sugárzások (kozmosz sugárzás, UV sugárzás, közetek radioaktív sugárzása, Röntgen) Ezek a nagy energiájú sugárzások kémiai reakciókat idéznek elő a DNS-en.



Mutációk

Pontmutációk: egy bázist, vagy bázispárt érintenek.

- Ha csak egy bázis változik meg: egy aminosav változik meg a fehérjében
- Ha egy bázis beépül, vagy kiesik: az egész utána következő szakasz értelmetlen lesz (shift mutáció)

Kromoszóma mutációk:

- egy DNS szakaszt érintő kiesés (deléció), áthelyeződés (transzpozíció), megfordulás (inverzió)
- egyes kromoszómákat érintő változás: törés, megkettőződés, számbéli változás (géndózis): xxx, xyy, xxy, Down kór (John Langdon Down, 1866.)
- egész kromoszómaszerelvényt érintő megsokszorozódás: pl.: xn (ploiditás)



Mutációs ráta

... a mutációs hatások és a repair mechanizmusok egyensúlya határozza meg.

Egészséges mutációs ráta: biztosítja a fajon belüli változathozadást, ezzel az evolúciós rugalmasságot.

Pl. vizsgálták egy rovarfajnál, amely a trópusokon és a mérsékelt égövön egyaránt él.

Magasabb hőmérsékleten a mutáció gyakoribb, de ott hatékonyabban működnek a repair mechanizmusok

→ az eredő mutációs ráta azonos mindkét helyen.



Génpozíció:

Egy kromoszómában a gének szigorúan lineárisan, egymás után helyezkednek el.

Több génes tulajdonság esetén az összetartozó gének elhelyezkedése lehet:

- ugyanazon a kromoszóma oldalon: cisz allél
- ellentétes kromoszóma oldalon: transz allél

Ez a különbség megváltoztatja a tulajdonságokat



A transzkripció szabályozása

A prokarióta DNS polimeráz több alegységből áll: $\alpha\beta\gamma_2\sigma$

Ezek közül az első négy végzi a másolást, a σ funkciója a saját DNS felismerése, idegen DNS-t nem ír ki.

Egyes bakteriofágoknál a genom csak a saját σ fehérje génjét tartalmazza, a többi hármat nem \rightarrow hozzáteszi a megtámadott sejt $\alpha\beta\gamma_2$ fehérjéihez \rightarrow így az átíró enzim képes lesz arra, hogy a fág DNSt írja ki.



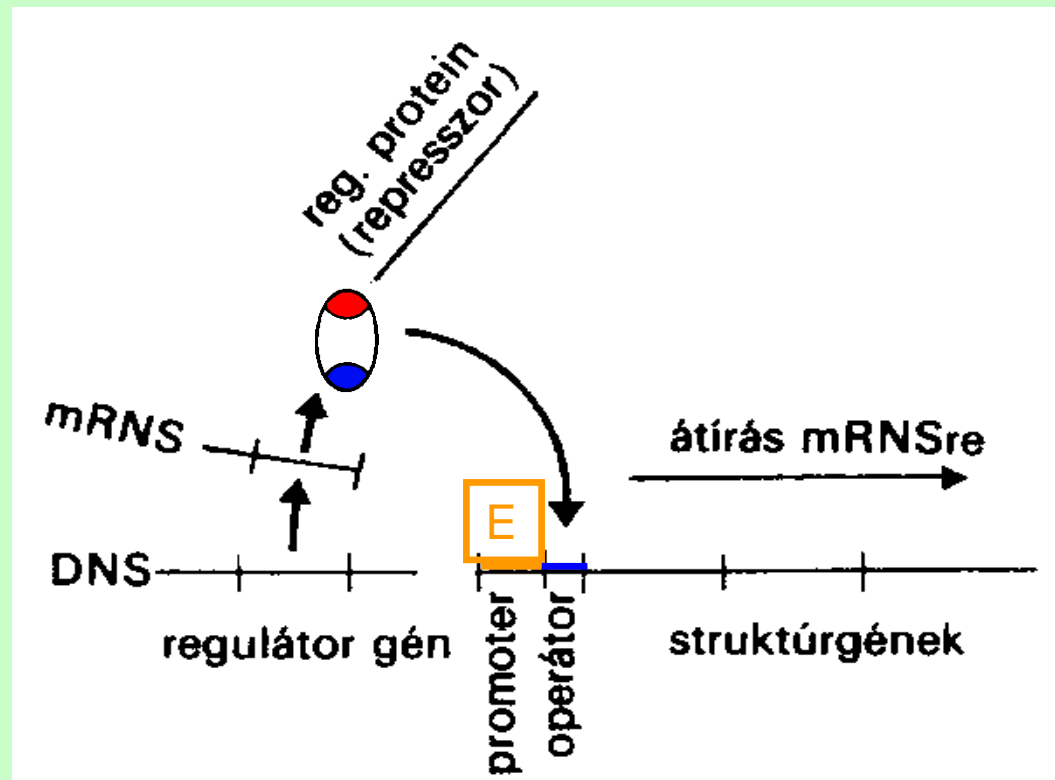
Operon szabályozás 1.

Operon: közösen szabályozott gének csoportja.

Általában egy anyagcsereúthoz tartozó en-zimeket kódol (struktúr-gének).

Kiírásuk egy mRNS-re történik.

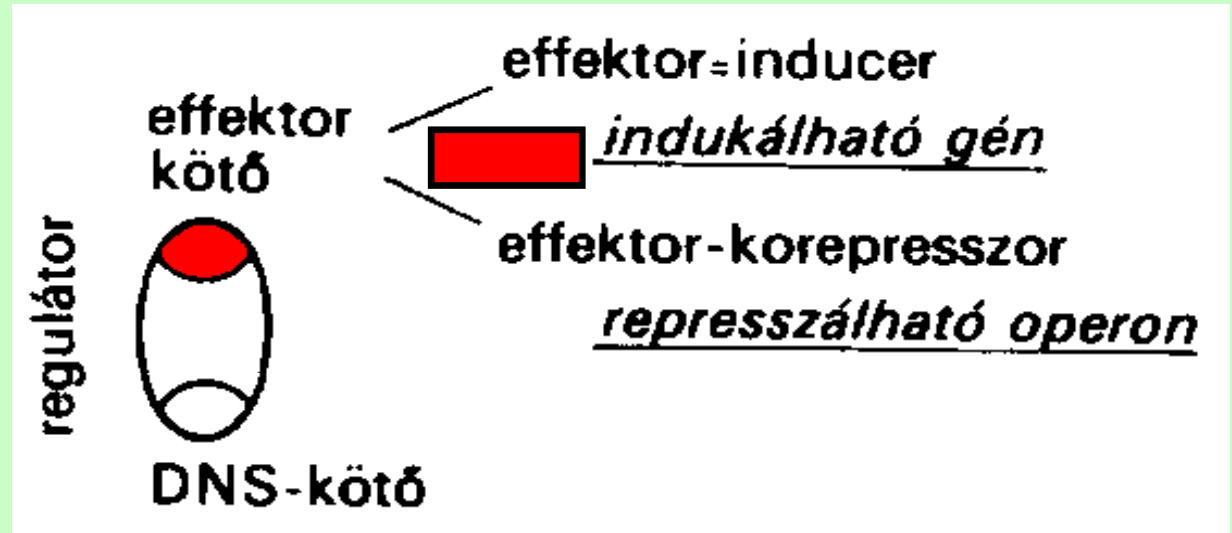
A kiíró enzim a promóter szakaszhoz kötődik, onnan indul. Ha represszor kötődik az operátor szakaszhoz, a kiírás nem indul el.



Operon szabályozás 2.

A represszor fehérjének két kötőhelye van:

- DNS kötő
- effektor kötő



Effektor molekula: kapcsolódásával átállítja a represszor DNS kapcsolódását:

képes ↔ nem képes kötődni



Operon szabályozás 3.

Pozitív és negatív szabályozás lehetséges.

Pozitív (indukció, derepresszió): az effektor hatására a regulátor fehérje elveszti kötődését az operátor génhez, és megindul a struktúrgének kiírása. Példa: *Escherichia coli lac*-operonja: lak-tóz hatására megindul a laktóz hasznosításához szükséges en-zimek szintézise.

Negatív (feed back represszió, inhibíció): az effektor hatására a regulátor fehérje képes lesz az operátorra kötődni és ezáltal le-állítja a struktúrgének kiírását. Leggyakoribb: végtermék gátlás: ha valamely metabolit elég nagy mennyiségben van jelen, akkor leállítja saját bioszintézisét (túltermelés megakadályozása).

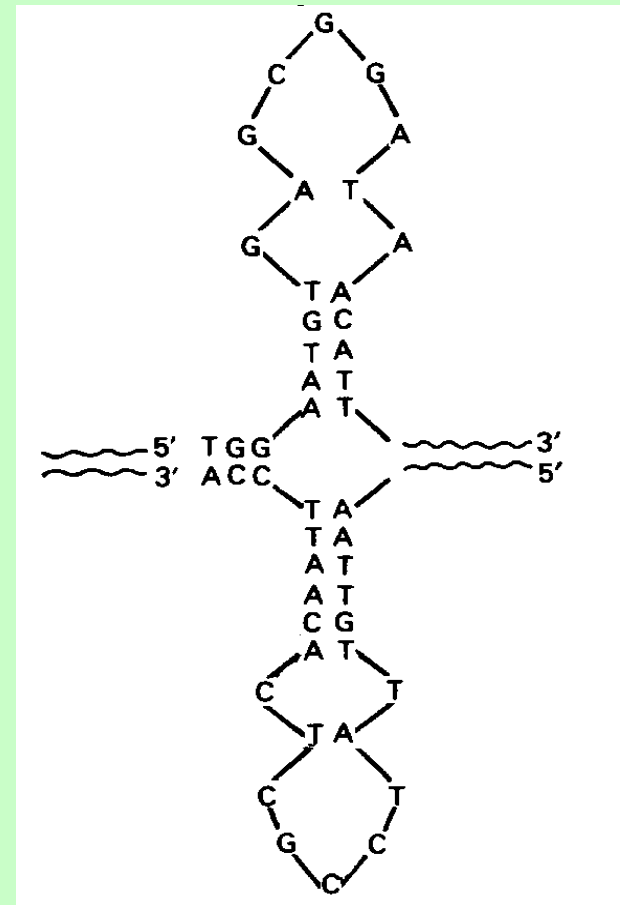


Operátor (gén)szakasz

Hogyan találja meg a regulátor fehérje a megfelelő DNS szakaszt?

Itt a DNS palindrom (tükörkép) szerkezetű. Komplementer, de ugyanakkor a két szálon 3' → 5' irányban is azonos.

Spirális hurkot alkot, és ezt a ki-türemkedést könnyű megtalálni.



Mutációk az operonon

A különböző gének károsodása más-más hatású:

Regulátor génen: szabályozási hiba, vagy állandó a kiírás, vagy egyáltalán nem folyik.

Operátor génen: megszűnik a gátlás lehetősége, állandó a kiírás.

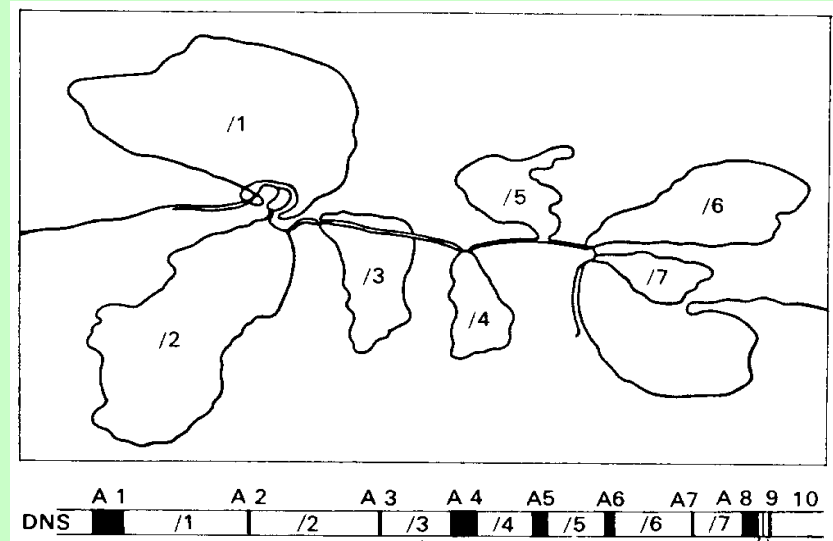
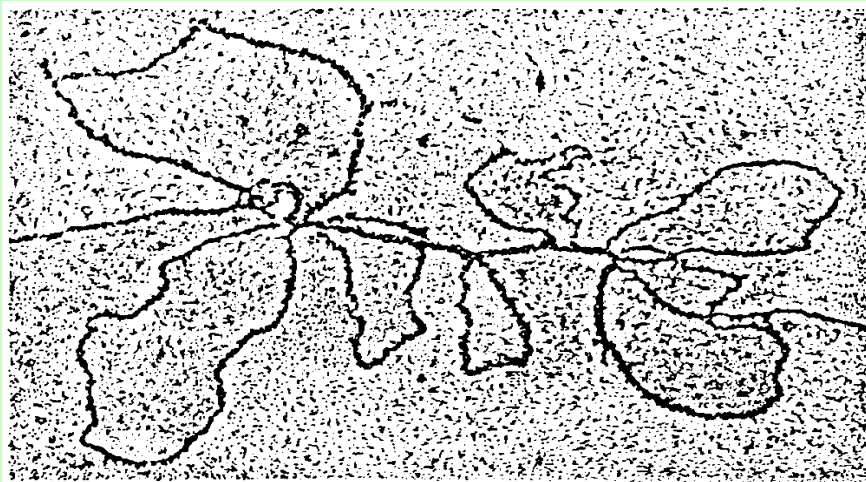
Promoter génen: nincs kiírás

Struktúrgénen: a szabályozás működik, egy termelt fehérje lesz hibás szerkezetű (hibás aminosavsorrend / STOP kód: csonka lánc



Átírás humán sejtekben

Nincsenek operonok, bonyolultabb. A humán DNS nagyon sok felesleges szakaszt tartalmaz, amelyek a mRNS-en hurkokat képeznek. Ezeket a szakaszokat (intron) egy enzimszisztéma kivágja, a maradék mRNS-ről szintetizálódnak a fehérjék.



A transzláció szabályozása

Az elkészült mRNS működése (transzlációja) is szabályozott.

- Átszabás (intronok kivágása), kémiai markerezés
- Chaperon (dajkafehérje): „megtámasztja” a harmadlagos szerkezetet stabilizál,
 - élettartam nőhet,
 - lefedi, ezzel gátolja a fehérjeszintézist

Élettartam szabályozás (percek – napok):

Fehérjék eltakarják a lebontó enzimek elől a lánc elejét.



ENZIMEK

1833.: Sörfőzés kapcsán kezdtek el vele foglalkozni (csírázó árpa vizsgálata) – valamilyen anyag katalizátorként működik... (Berzelius, 1835.)

1850. körül: ez valamilyen N-tartalmú szervesanyag

1874.: első enzimgyártó cég (rennin – borjú gyomor enzimmel sav nélkül ki lehet csapni a tejfehérjét) – nem tudták, de csinálták.

1878.: Kühne először használja az „enzim” fogalmat

1897.: Buchner megdönti Pasteur vitalisztikus elméletét (kvarchomokkal kivonta a „sejtlevet” az élesztőből, és működött az erjesztés)

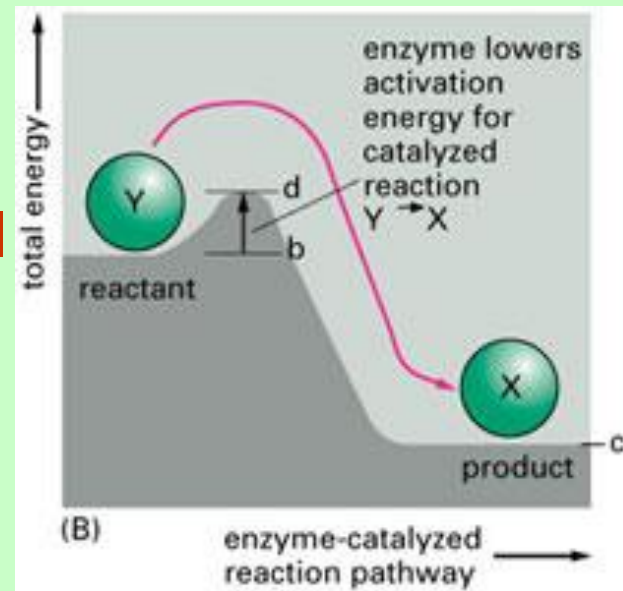


ENZIMSZINTŰ SZABÁLYOZÁS

Enzimek = biokatalizátorok

Katalizátor:

- az aktiválási energia csökkentésével meggyorsítja kémiai reakciót.
- Csak termodinamikailag lehetséges reakciót gyorsít
- Az egyensúlyt nem befolyásolja
- Kis mennyiségben is hatékony, mert a reakció után változatlan formába visszaalakul



Anyaguk: fehérje, bonyolult szerkezet (harmad-, negyedleges)



Enzimes reakciók

A reakció általános leírása:



Fogalmak:

Szubsztrát (S): a reakcióban átalakuló molekula.

Termék (P): a reakcióban keletkező molekula.

Koenzim: olyan reakciópartner molekula, amely egyes enzimes reakcióhoz nélkülözhetetlen.

Kötőhely, aktív centrum: az enzim felületének az a része, ahol a szubsztrát megkötődik, ill. átalakul (kb. 4-10 aminosavnyi régió)

Egy enzim csak egyféle típusú reakciót katalizál.

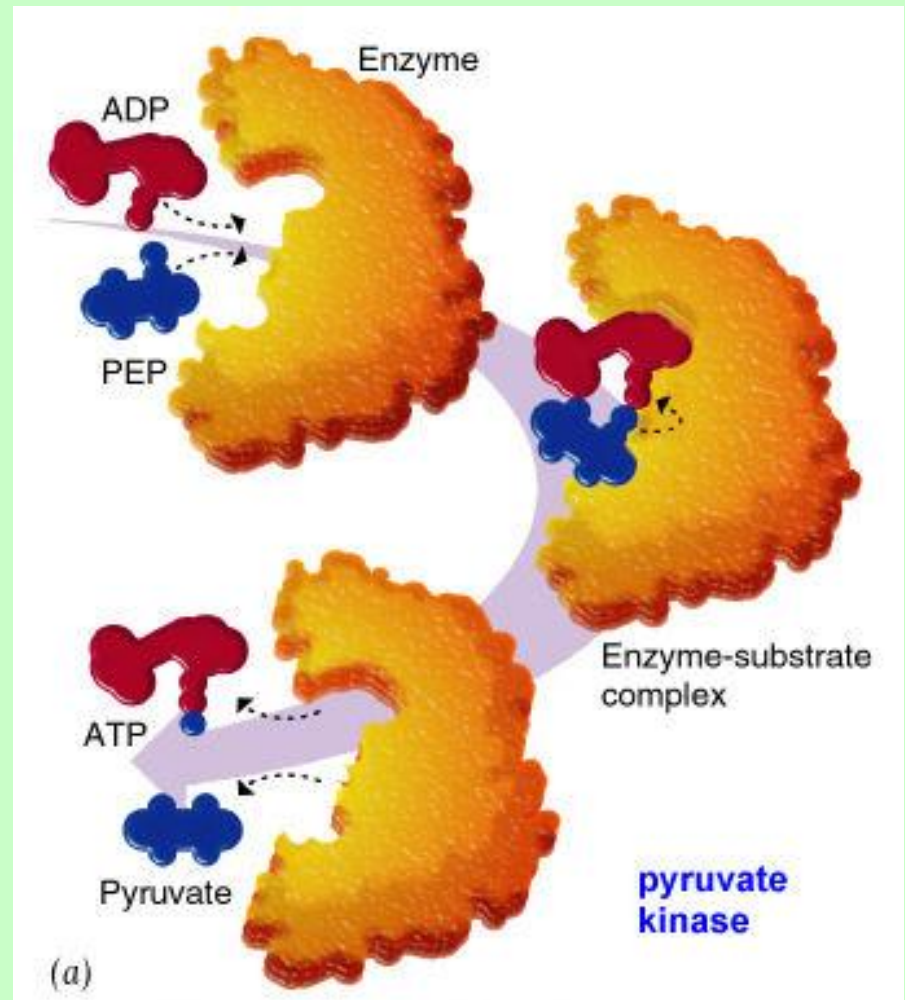


Enzimes reakciók 2.

A kötőhely specifikus: csak bizonyos molekulákat köt meg. A két molekula felülete (alakja, töltése) komplementer módon illeszkedik egymáshoz.

(KULCS - ZÁR)

Az enzim felületét az aminosav oldalláncok adják → egy aminosav eltérés is elronthatja.



Enzimes reakciók 3.

A specifitás szintjei:

- Csoportspecifitás: a szubsztrát egy bizonyos funkciós cso-portját köti meg és alakítja át, a molekula többi részét nem ismeri fel. (pl. lipáz: észterkötések)
- Régió-specifitás: molekula részletre specifikus
- Szubsztrát-specifitás: a teljes molekulát felismeri, csak egy-féle szubsztrátot alakít át
- Sztereo-specifitás: a királis (tükörkép) molekulák között is különbséget tesz, csak az egyik forma reakcióját katalizálja (az előző három mellett lehetséges)

Az enzimes reakció sebessége függ:

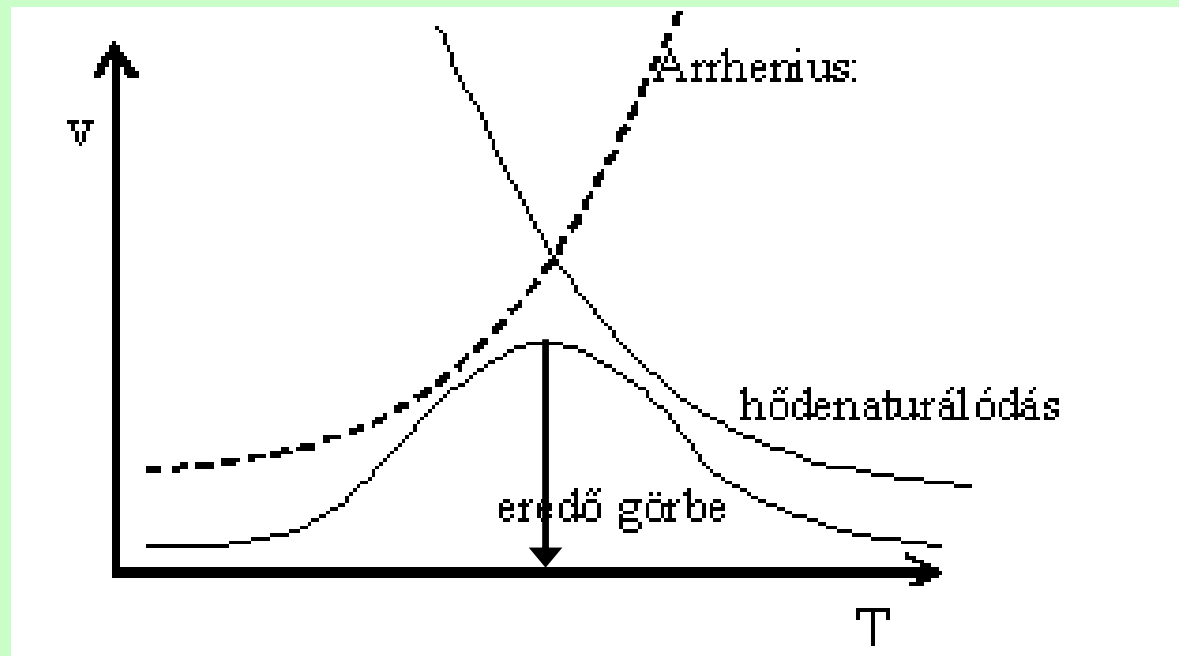
- hőmérséklet
- pH
- szubsztrát koncentráció
- enzim koncentráció
- inhibitorok



A hőmérséklet hatása

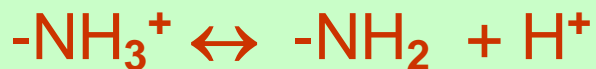
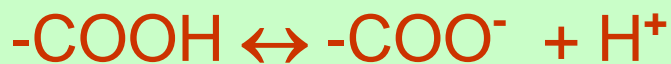
A reakciósebesség exponenciális kapcsolatban van a hőmérséklettel (Arrhenius), tehát gyorsul a reakció.

Magasabb hőmérsékleten viszont a fehérje denaturálódik, a reakció lassul. A két ellentétes folyamat eredőjeként az enzimes reakcióknak vagy egy optimális hőmérséklete, ahol a reakciósebesség a legnagyobb.

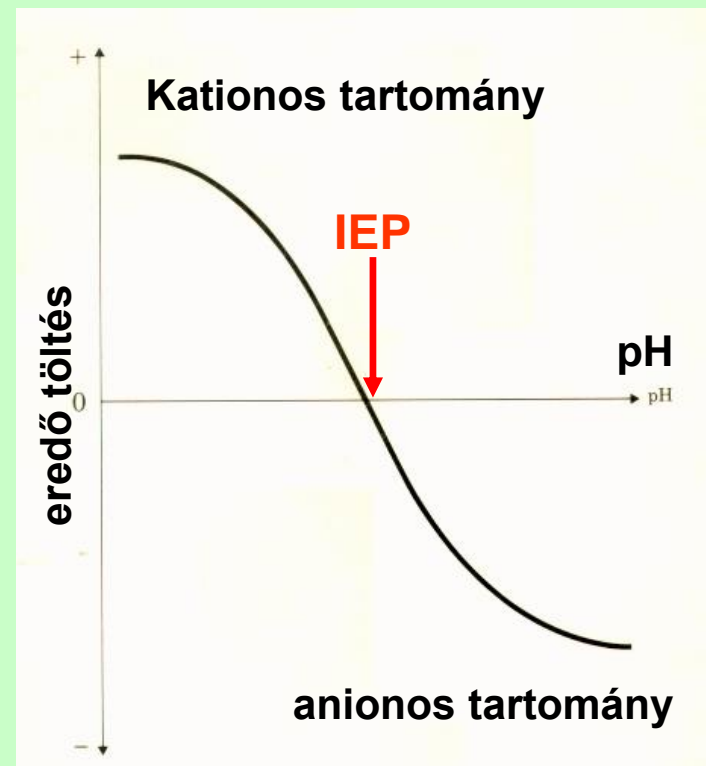


A pH hatása az enzimaktivitásra

A fehérjéken jó néhány karbonsav- és aminoszoprotot tartalmazó oldallánc van. Ezek disszociáció-foka változik a pH-val:



Izoelektromos pont (IEP): az a pH érték, ahol a fehérje molekula eredő töltése nulla, kifelé semleges. (oldatból kicsaphatom a fehérjét)



A pH hatása az enzimaktivitásra 2.

Az aktív centrumban a felületi töltésmintázat komplementer a szubsztrátéval. Ha ez megváltozik – rosszabbul köti a szubsztrátot – lassul a reakció.

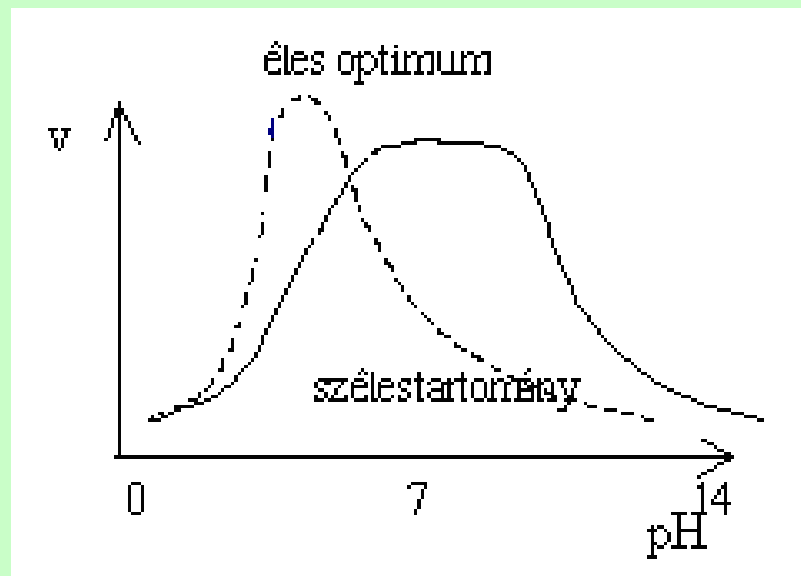
Szélsőséges pH-nál kicsi lesz a reakciósebesség (denaturálódás).

Optimális pH érték/tartomány

Eltérő pH a sejten belül:

mitokondrium terei

A szervezetben: gyomor



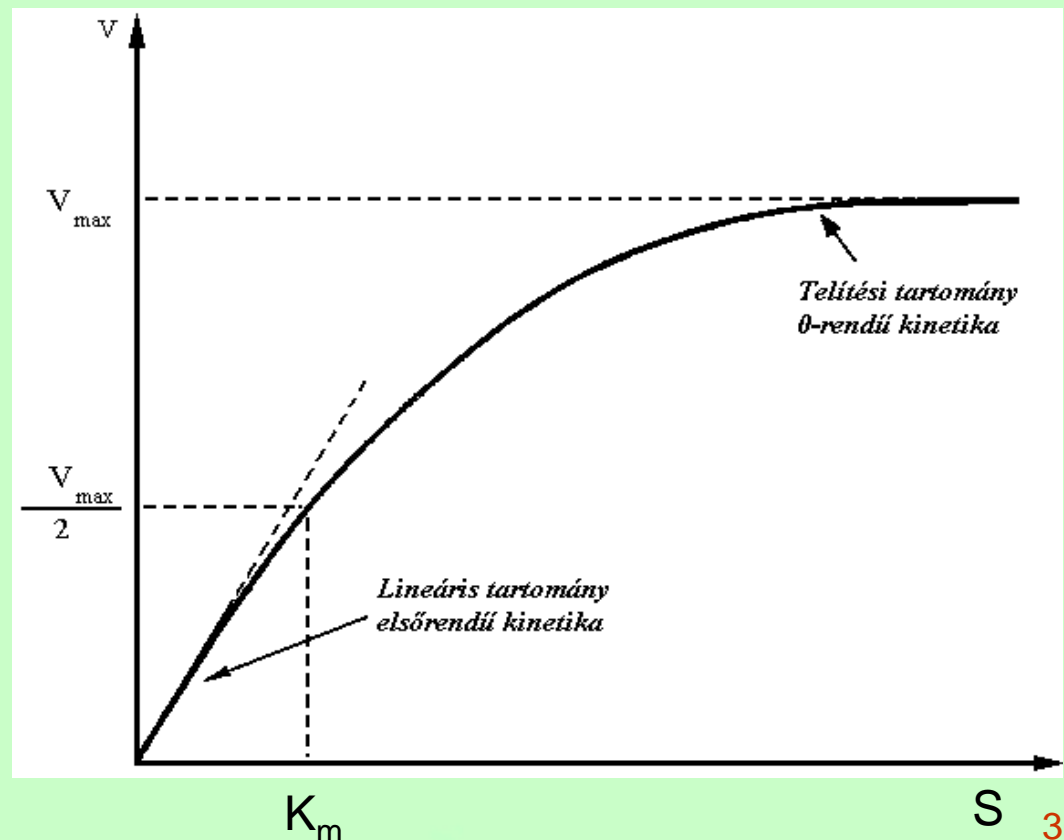
A szubsztrát koncentráció hatása

Ha több a szubsztrát → nagyobb valószínűséggel találkoznak az enzimmal → több alakul át → nagyobb reakciósebesség.

De van ennek egy felső határa → telítés

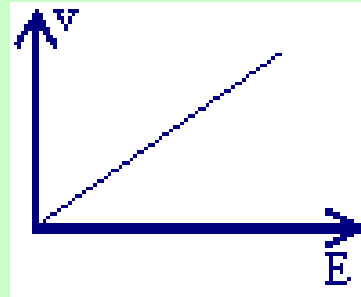
$$v = \frac{V_{\max} (S)}{K_m + (S)}$$

Michaelis-Menten egyenlet (1913.)



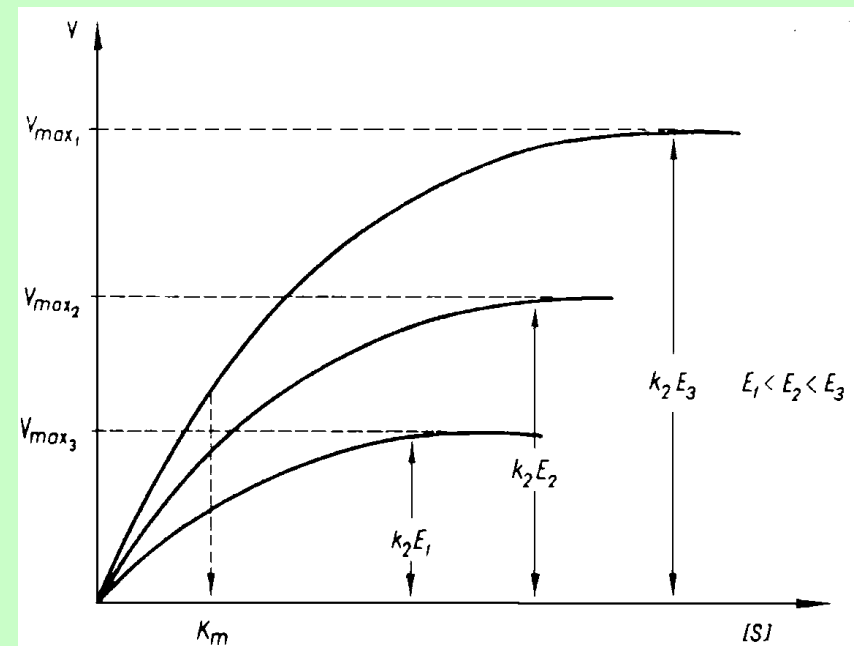
Enzim koncentráció hatása

Lineáris kapcsolat – $n \times$ több enzim – $n \times$ nagyobb v_{\max}



Ha nagy szubsztrátkoncentrációnál mérjük a reakció-sebességet, akkor a mért reakciósebesség (v_{\max}) arányos lesz az enzimkoncentrációval:

$$V = V_{\max} = k_2 (E)_t$$



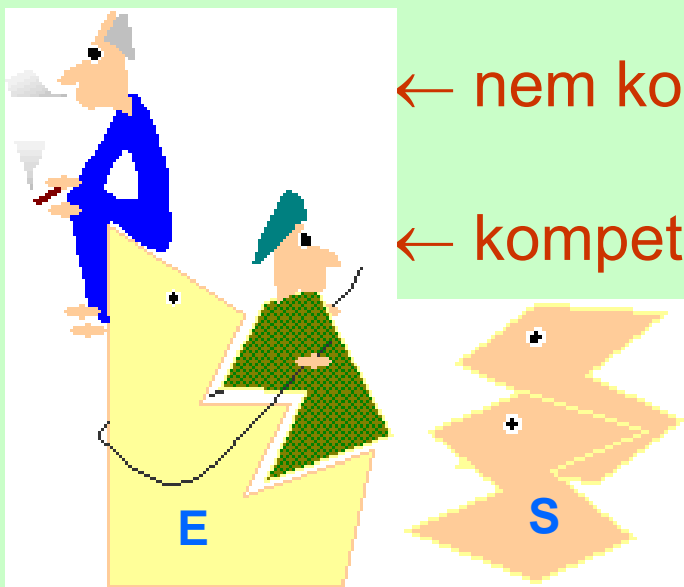
ENZIMMODULÁTOROK

Az enzimes reakció sebességét befolyásoló kémiai anyagok. Lehetnek:

Inhibitorok: reakciósebességet csökkentő, gátlóanyagok

Aktivátorok: reakciósebességet növelő anyagok

Az inhibitorok hatásmechanizmusa eltérő lehet:

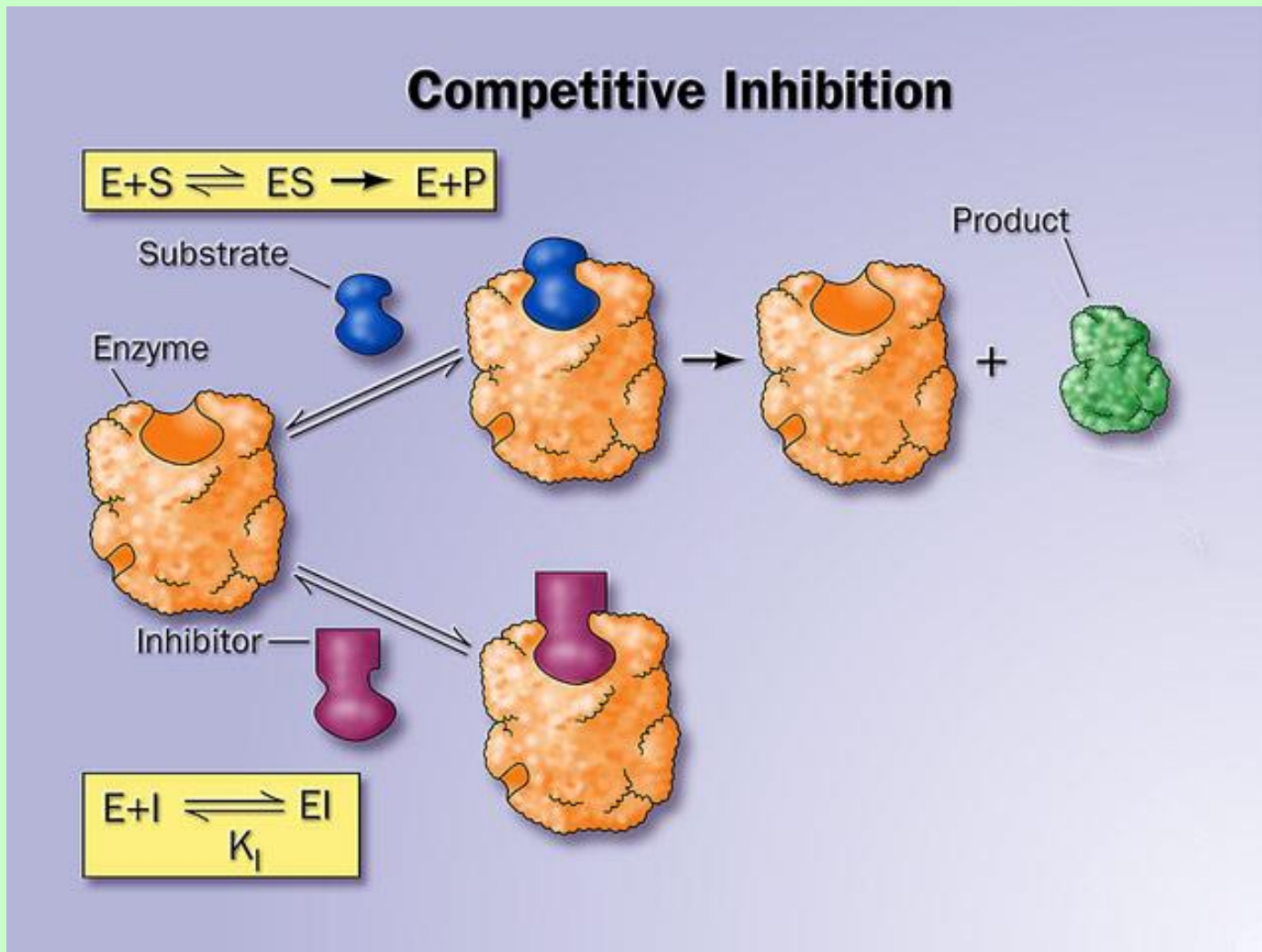


← nem kompetitív inhibitor

← kompetitív inhibitor (a szubsztrát helyére kötődik)



Kompetitív inhibítorok



Kompetitív inhibitorok

Ezek a molekulák nagyon hasonlítanak a szubsztráthoz, bekötődnek a helyére.

Ezt a vegyületcsoportot kompetitív inhibitoroknak nevezzük, mivel az I és S egymással verseng az enzim aktív centrumához történő kapcsolódásban. Ezen belül lehet:

Alternatív szubsztrát: az enzimes reakció végbemegy, alternatív termék keletkezik (Pl. alkohol-dehidrogenáz)

Valódi (dead end) inhibitor: a szubsztráthoz hasonló szerkezetű molekula, ami bekötődik az enzim aktív centrumába, de a reakció nem játszódik le. Lehet: - reverzibilis, - irreverzibilis

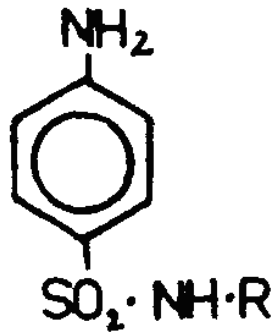


Kompetitív inhibitorok 2.

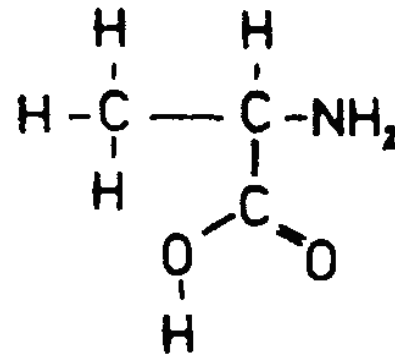
A gyógyszerek nagy része kompetitív inhibitoroként hat:



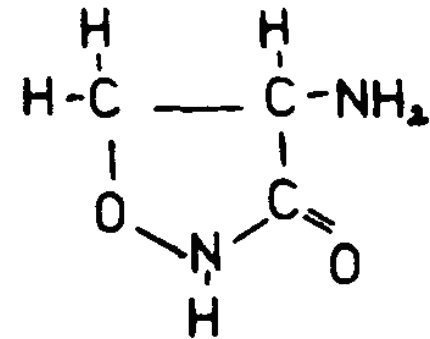
p-amino-
benzoésav
(metabolit)



szulfonamid
(gyógyszer)



Alanin
(metabolit)



Cikloszerin
(gyógyszer)



NEM KOMPETITÍV INHIBÍTOROK

Nem az aktív centrumban kapcsolódik, hanem valahol az enzim egy másik részén.

Az inhibitor nemcsak a szabad enzimmel, hanem az ES komplexszel is képes kombinálódni, ESI hármas komplexet hoz létre.

Megváltoztatja a fehérjemolekula-láncok térszerkezetét → megváltozik az aktív centrum szerkezete → a szubsztrát nem tud elreagálni → a reakció lelassul vagy leáll.

„Mérgezi” az enzimet, mintha kevesebb enzim lenne jelen.

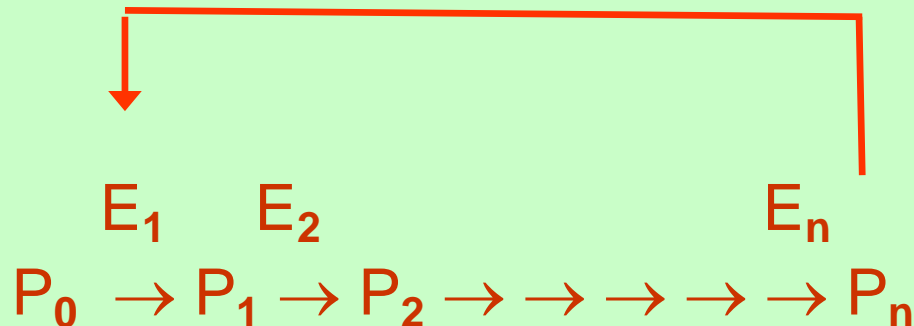
Pl.: nehézfémek



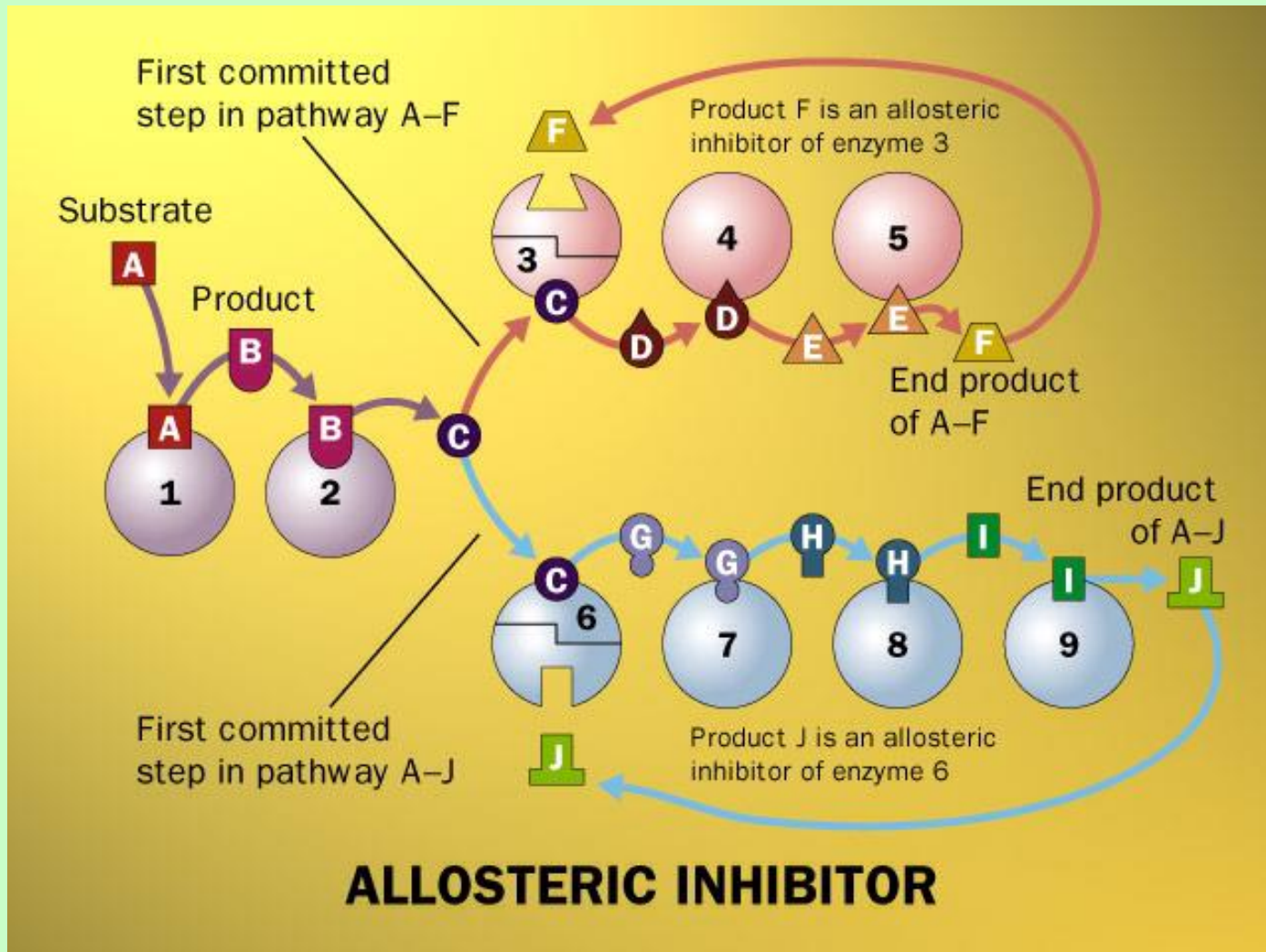
ALLOSZTÉRIKUS SZABÁLYOZÁS

Egyes enzim molekuláknak két, vagy több különböző aktivitású alakja lehetséges. Ezek reverzibilisen átalakulhatnak egymásba. Az „átkapcsolást” egy (vagy több) modulátor molekula kötődése hozza létre (harmadlagos, negyedleges szerkezet megváltoztatása) – pozitív ill. negatív effektorok.

Végtermék-gátlás (feed back inhibíció): egy reakciólánc végterméke visszahat és lefékezi saját termelődését, a legelső enzim működését:



Elágazó reakcióláncok szabályozása



Enzimek szabályozása kémiai módosítással

Aktiválás a fehérjelánc hasításával:

pepszinogén → pepszin tripszinogén → tripszin
fibrinogén → fibrin protrombin → trombin

Foszforilezés: aktivál és inaktivál – ellentétes folyamatok

GLÜKÓZ $\xrightleftharpoons[E_2]{E_1}$ GLIKOGÉN (állati keményítő, májban)

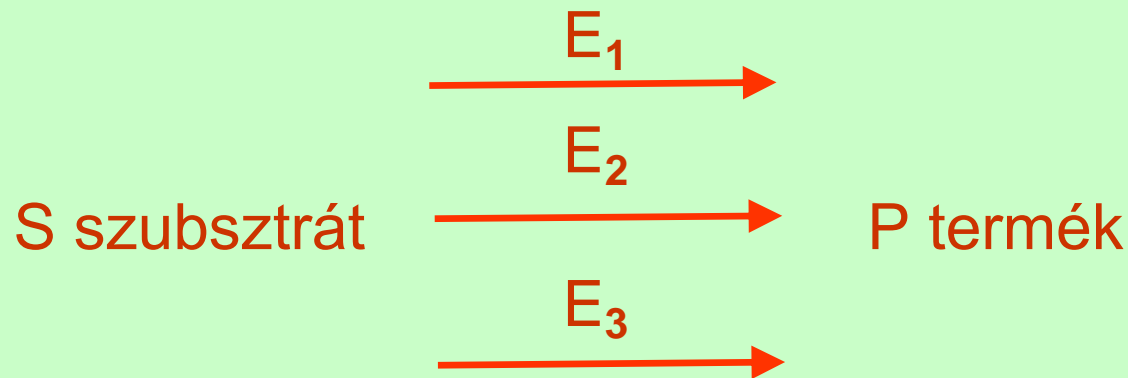
	Aktív enzim	Inaktív enzim
E_1 - glikogén–szintetáz	-OH	-O-P
E_2 - glikogén–foszforiláz	-O-P	-OH



IZOENZIMES SZABÁLYOZÁS

Izoenzimek: azonos funkciójú, de eltérő szerkezetű enzimek.

Mindegyik külön szabályozás alatt áll, így az eredő aktivitás finoman, fokozatmentesen szabályozható.



KOMPARTMENTÁCIÓ

= térbeli szétválasztás, bezárás

Az ellentétes biokémiai folyamatokat el kell választani, hogy ne használják el egymás intermedierjeit.

Biológiai membránok, sejtorganellumok, vakuolumok.

Pl.:

Glikolízis



glüko-neogenezis

Zsírsavak lebontása



zsírsav bioszintézis



KOENZIMEK 1.

Az enzimek jelentős hányada összetett fehérje. A fehérjék mellett nem fehérje alkotórészt is tartalmaznak, ezeket koenzimeknek nevezzük.

Az enzimaktiváshoz általában a koenzimek sztöchiometrikus jelenlétére is szükség van.

A koenzimek általában kisebb molekulatömegű szerves vegyületek, amelyek egyes esetekben fém atomot (iont) is tartalmaznak. A koenzimeket a sejt önmaga állítja elő (néhány esetben a táplálékkal felvett vitaminok segítségével).

Általában gyenge kémiai kölcsönhatással (ritkán kovalens kötéssel) kapcsolódnak az enzimek aktív centrumához – reverzibilisen disszociálisan.



KOENZIMEK 2.

Közvetlenül részt vesznek a katalitikus folyamatokban (elektronokat, atomokat, atomcsoportokat, gyököket képesek átvenni valamely S molekulától, amit ugyanazon vagy más E aktív centrumába kötöttek átadnak más S molekuláknak).

Csoportosításuk a katalizált enzimreakció típusa szerint történik (mint az E esetében is):

- Oxidoreduktázokhoz tartozó koenzimek
- Transzferázokhoz
- Liázokhoz
- Izomerázokhoz
- Ligázokhoz



KOENZIMEK 3.

Oxidoreduktázokhoz tartozó koenzimek pl.:

- Nikotinsavamid-adenin-dinukleotid (foszfát) NAD^+ , NADP^+
- Flavin-mononukleotid (FMN)
- Flavin-adenin-dinukleotid (FAD)

Transzferázokhoz tartozó koenzimek pl.:

- Koenzim-A (CoA)
- Biotin (H-vitamin)
- Adenozin-trifoszfát (ATP)

Ligázokhoz tartozó koenzimek pl.:

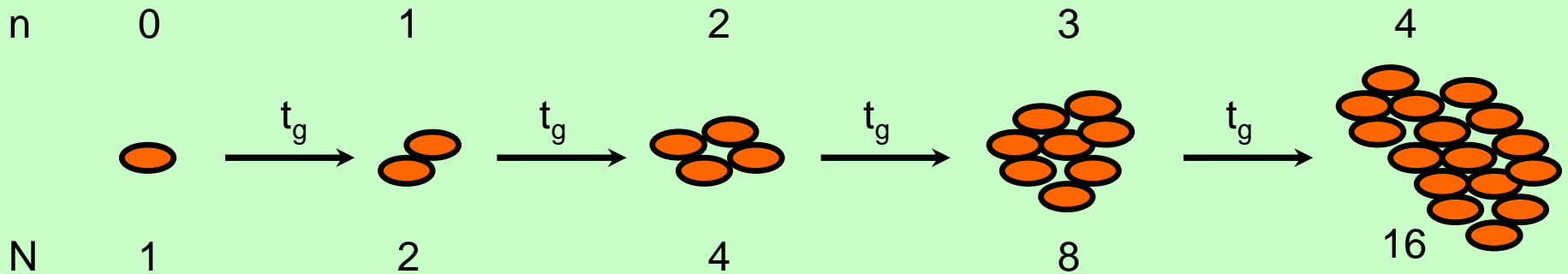
- NAD^+
- ATP



MIKROORGANIZMUSOK NÖVEKEDÉSE

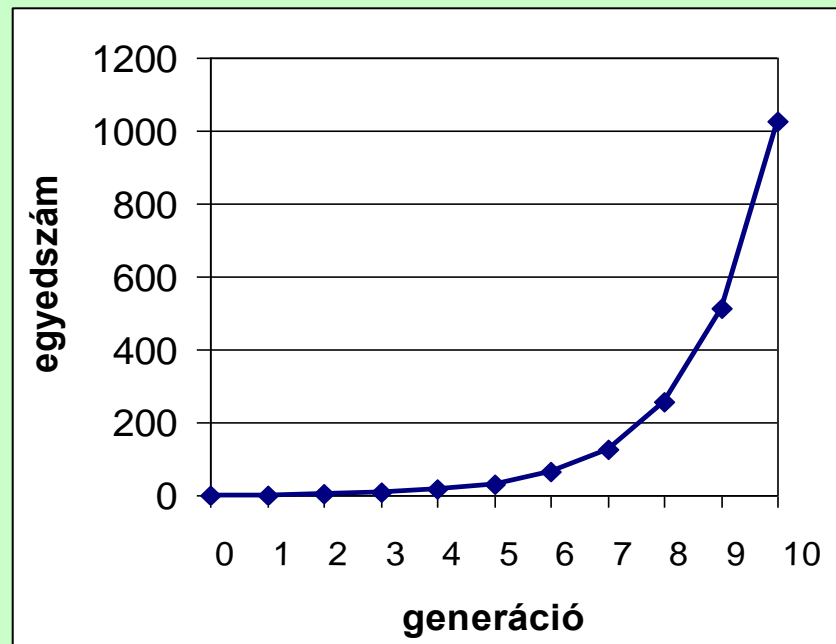


Exponenciális növekedés

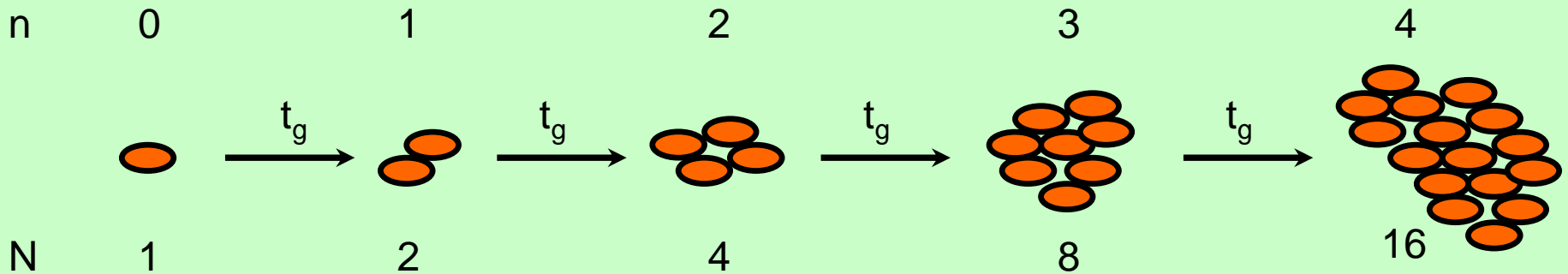


$$N = N_0 \cdot 2^n$$

$$N = N_0 \cdot 2^{\frac{t}{t_g}}$$



Exponenciális növekedés



$$N = N_0 \cdot 2^n$$

$$N = N_0 \cdot 2^{\frac{t}{t_g}}$$



$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X$$

Egyedsűrűség/koncentráció
[M/V]

Fajlagos növekedési
Sebesség [1/T]



Monod kinetika

(érvényes: biodegradálható, de nem toxikus anyagokra)

$$\frac{dx}{dt} = \mu \cdot x$$

ahol : x – mikroorganizmusok koncentrációja [g/l]

μ – fajlagos növekedési sebesség [d⁻¹]

Fajlagos szaporodási sebesség:

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K_S + S}$$

ahol : μ_{\max} – maximális fajlagos növekedési sebesség [d⁻¹]

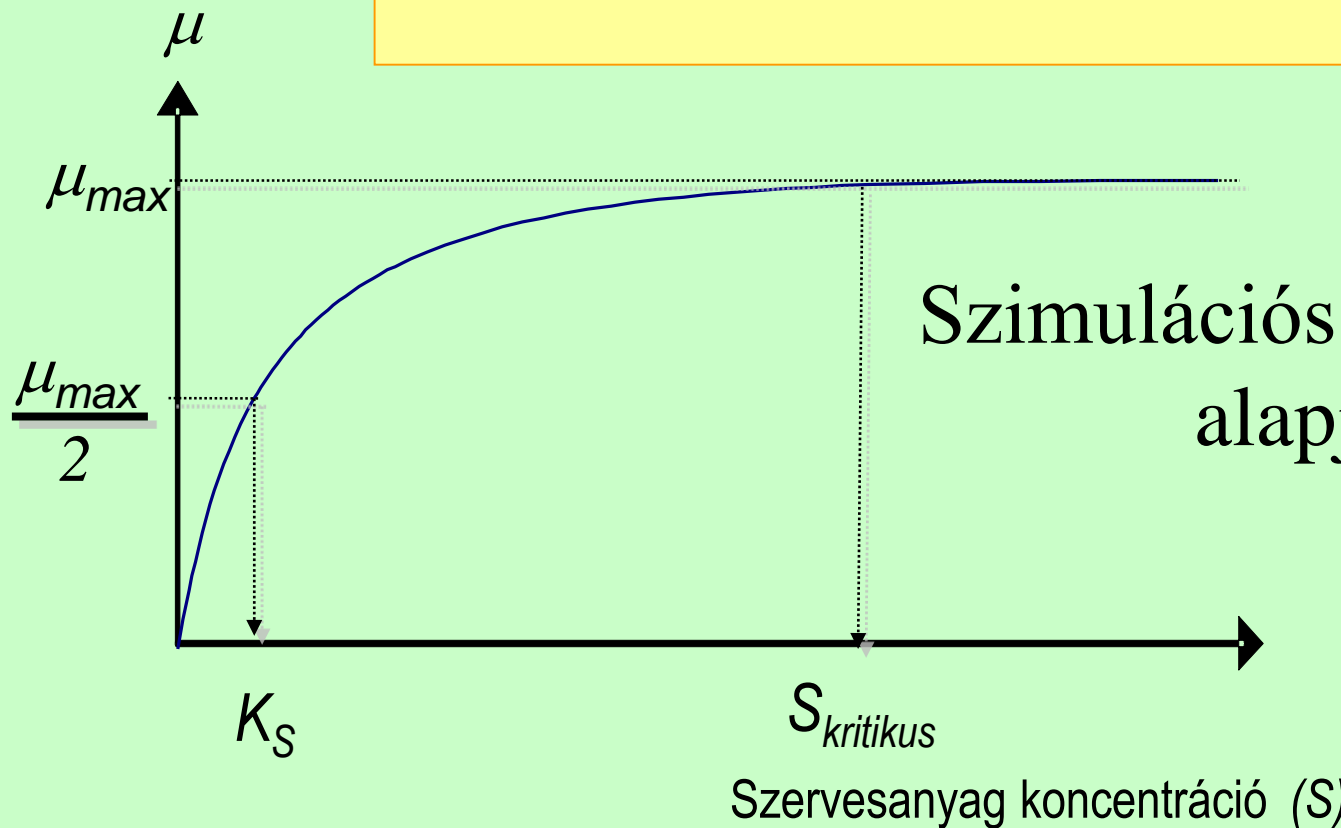
S – szubsztrát koncentráció [mg/l]

K_S – féltelítési állandó [mg/l]



Monod kinetika a nem toxikus anyagokra

$$\text{Növekedési sebesség: } \mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K_S + S}$$



Szimulációs modellek
alapja

