

ZH információk

Helyszín: QB. 402., hétfői napok

1. Márcis 4. 8.15 – 10. 00

2. Április 8. 8.15 – 10. 00

3. Május 6. 8.15 – 10. 00

Pót ZH: május 13. 14.15 – 16.00

Pót-pót ZH: időpont egyeztetés a pót ZH-t követően



II. Mikrobiológiai alapok

A biotechnológiai eljárások alanyai és eszközei az esetek nagy többségében mikroorganizmusok. Anyagcseréjük sok hasonlóságot mutat, külső megjelenésük (morfológiájuk) azonban nagyon változatos.

Méretük miatt szabad szemmel egyésével nem láthatók, mikroszkóppal, vagy elektronmikroszkóppal vizsgálhatók.



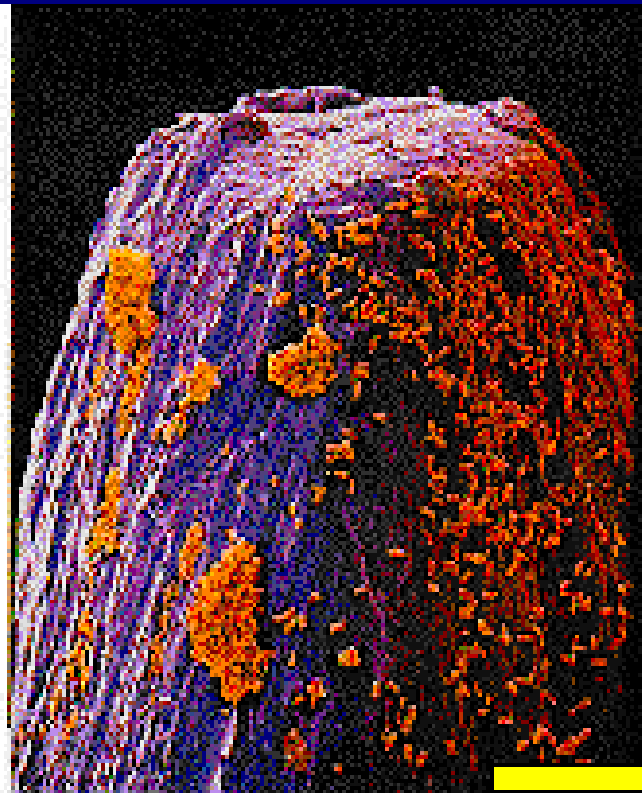
Mekkorák a mikroorganizmusok?

Size of Bacteria

Bacillus cells on the tip of a pin.



100 µm



20 µm



1 µm

Szabad szemmel mit látunk a mikrobákból?

Amikor sok millió mikroba együtt tenyészetet alkot, az már szabad szemmel is látható.

Mi magunk is tenésztethetjük a mikróbákat.

Ezeket laboratóriumi üvegedényekben, pl. Petri csészében, kémcsőben szaporítjuk.

A tápközeg lehet folyadék, vagy szilárd(ított), gélszerű.

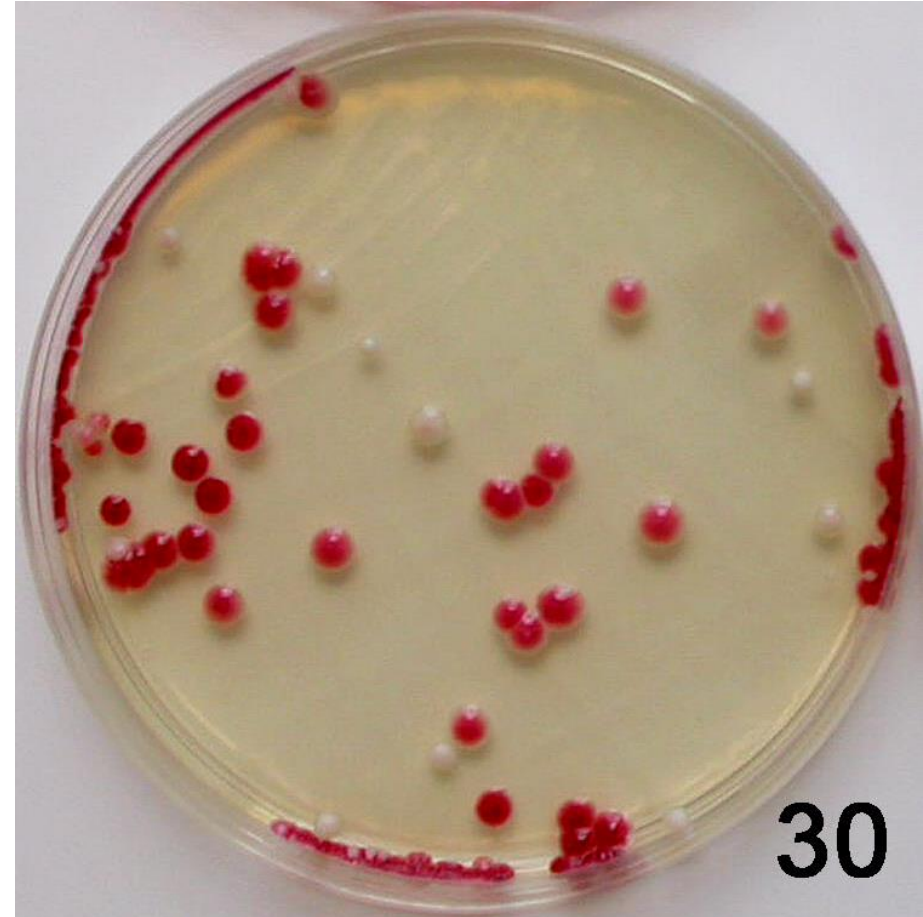
A szilárdításhoz **agar**-t használnak. Jobbra: mikroba tenyészetek „**ferde agaron**”.

Tiszta tenyészet: egyetlen sejt utódait tartalmazó, genetikailag azonos egyedek tömege.



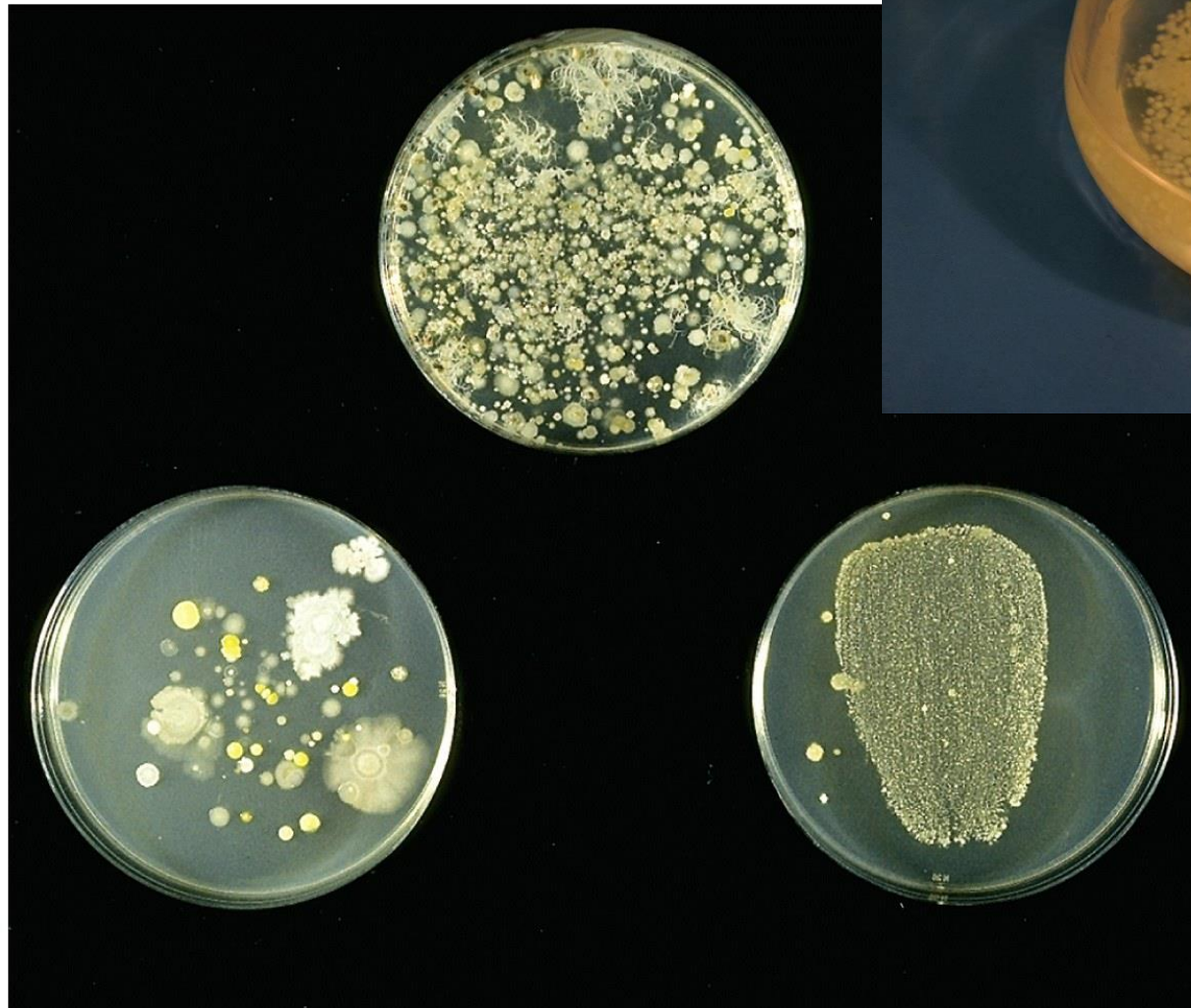
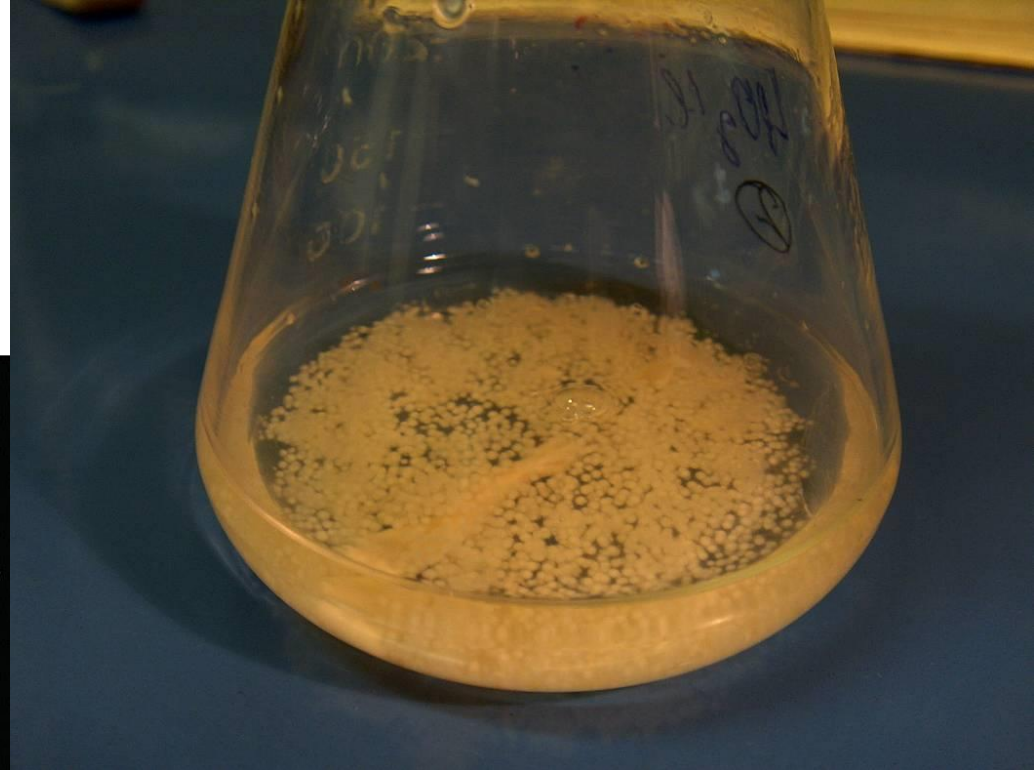
Mikrobatenyészetek

A baktérium szuszpenzióból a megfelelően hígított kultúrát egy szilárd táptalaj felületére szélesztjük. Egy szabad szemmel nem látható baktériumból 1-2 nap múlva sok millió sejtet tartalmazó telep (kolónia) fejlődik. Ahány baktérium volt eredetileg, annyi telep keletkezik.



Mikrobatenyészetek

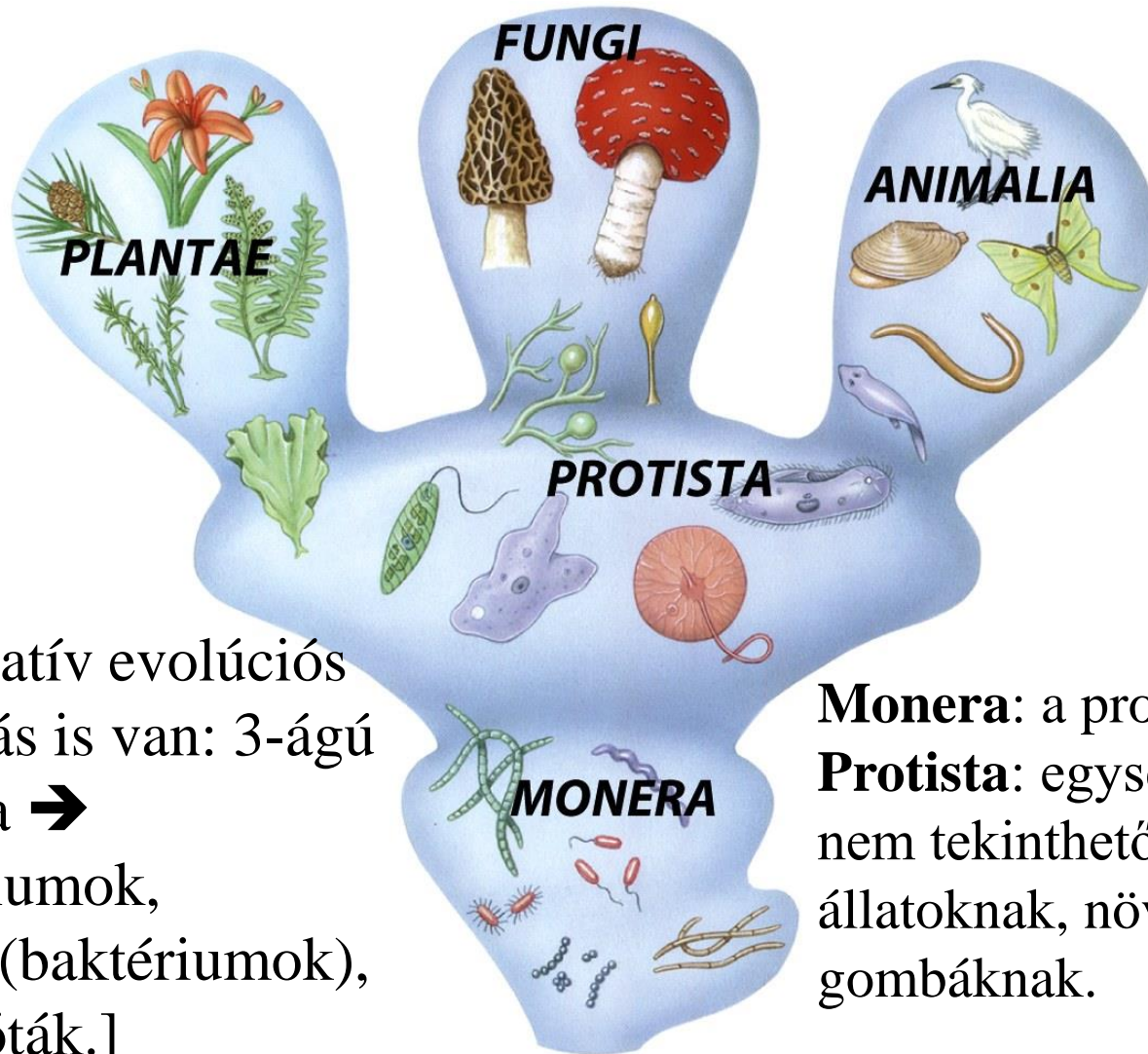
Balra: Petri-csészékben felnőtt
vegyes populációk.



Jobbra fent: Lombikban
tenyésztett penészgombák.
Apró szemcsés szerkezet
→ pellet-ek.

Figure 1-1 Microbiology, 7/e
Courtesy of Jacquelyn G. Black

Az élővilág (evolúciós) felosztása



[Alternatív evolúciós felosztás is van: 3-ágú Törzsfa → Baktériumok, archea (baktériumok), eukarióták.]

Monera: a prokarióták tartoznak ide.
Protista: egysejtű eukarióták, melyek nem tekinthetők egyértelműen állatoknak, növényeknek vagy gombáknak.

Figure 9-5 Microbiology, 7/e
© 2008 John Wiley & Sons



A prokarióták (Monerák) felosztása

Gram-pozitív: sejtmembrán + vastag sejtfal Rickettsiák: eukarióta paraziták

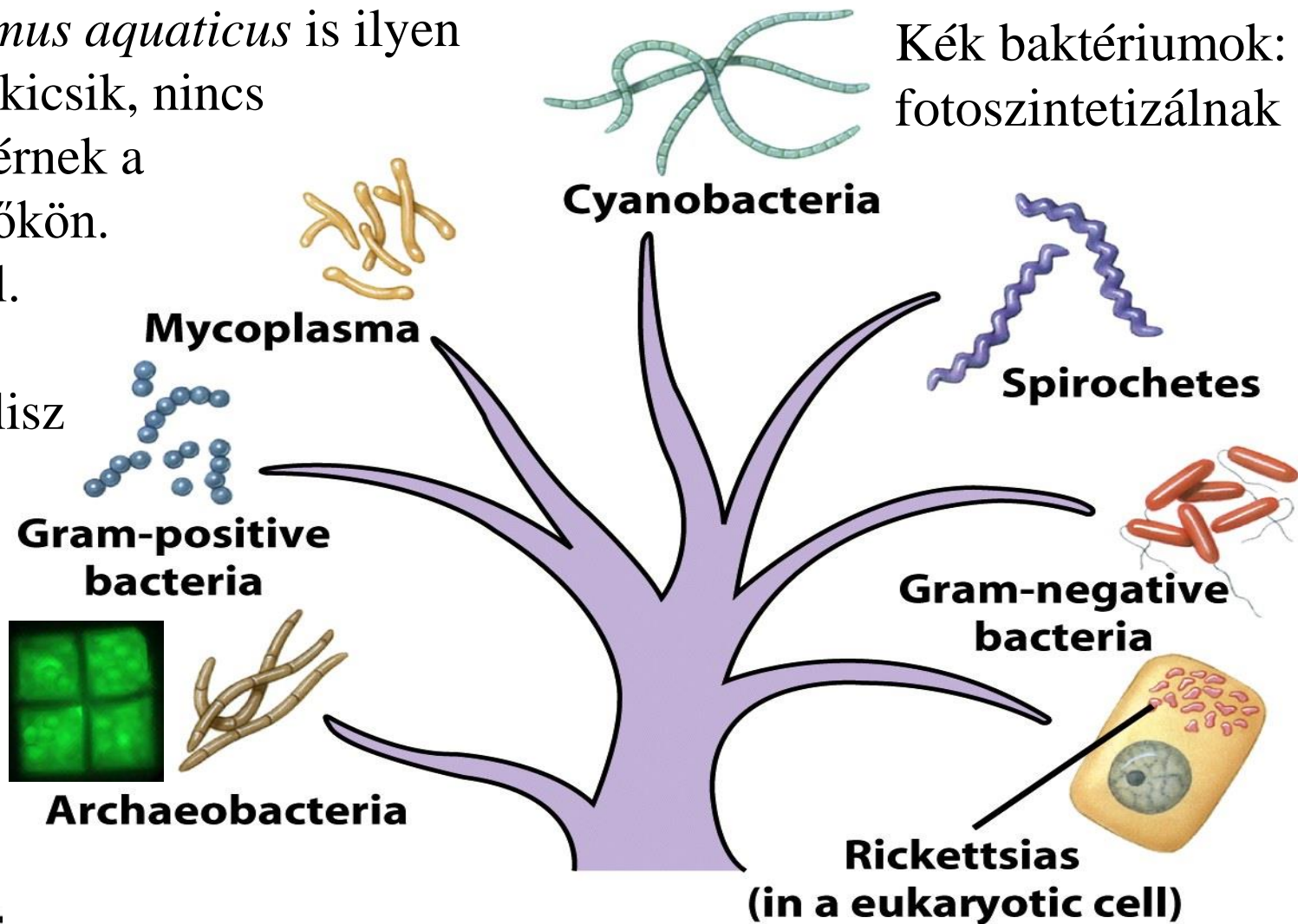
Gram-negatív: sejtmembrán + sejtfal + sejtmembrán

Archea: a *Thermus aquaticus* is ilyen

Mycoplazmák: kicsik, nincs sejtfaluk → átférnek a bakteriális szűrőkön.

Spirocheta-k: pl.

Treponema pallidum - szifilisz

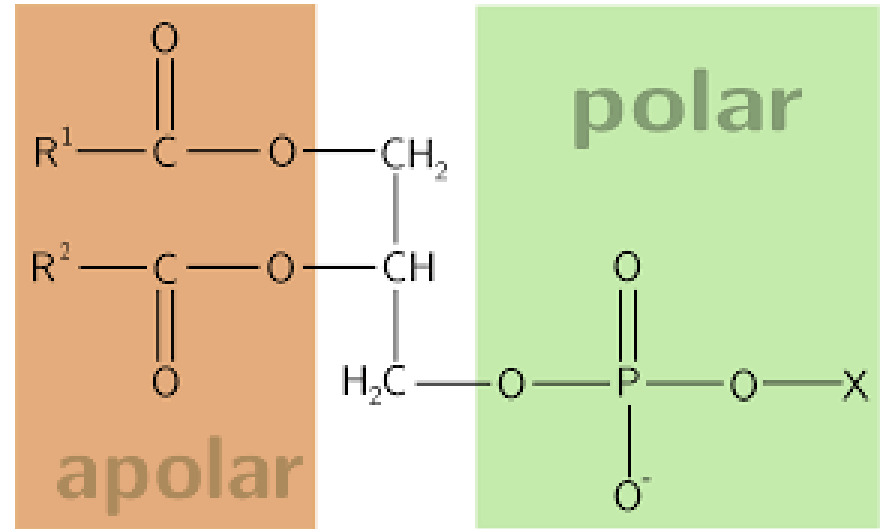
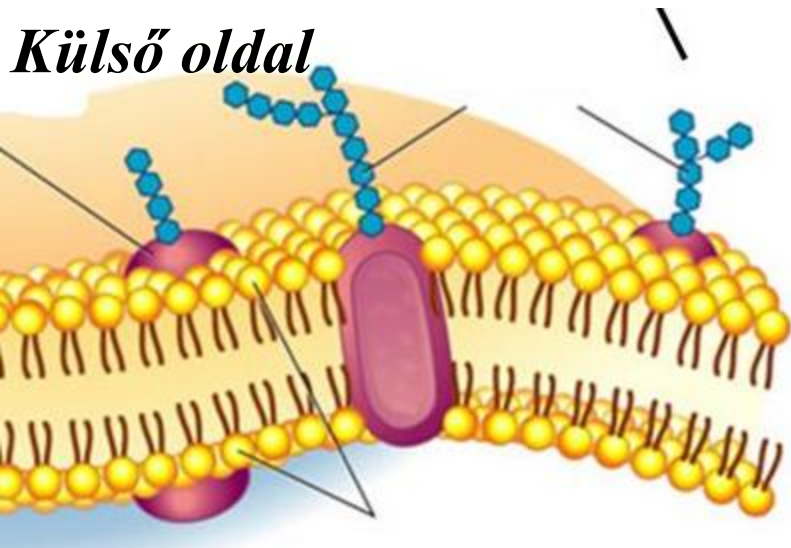


A prokarióták (Monerák) felosztása

1. Archaeobacteria: ősi, egyszerű baktériumok
2. Gram+ baktériumok: egyrétegű, vastag sejtfaluk van
3. Gram – baktériumok: kettős sejtmembránjuk van, közte többrétegű sejtfal
4. Mikoplazmák, Rickettsiák: kis méretű, parazita baktériumok.
5. Cianobaktériumok: kékalgák, nincs zöld színtestük, de fotoszintézisre képesek
6. Spirochéták: spirális, dugóhúzó alakú sejtek



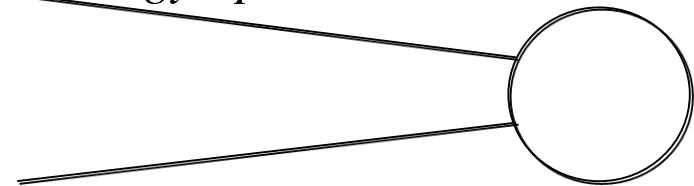
Sejtmembrán (sejthártya)



Belső oldal

- zsírszerű anyagok = lipidek (sárga)
- Membránfehérjék (lila)
- felszíni cukor egységek (kék)
- **Apoláris** lánc és **poláris** „fej”
- Membrán nélkül a sejt elpusztul
- mert „egyensúlyba kerül” a környezetével.
- A membrán tehát egy határoló felület.
- A sejtfal a sejtmembránon *kívül* elhelyezkedő többlet határoló felület.

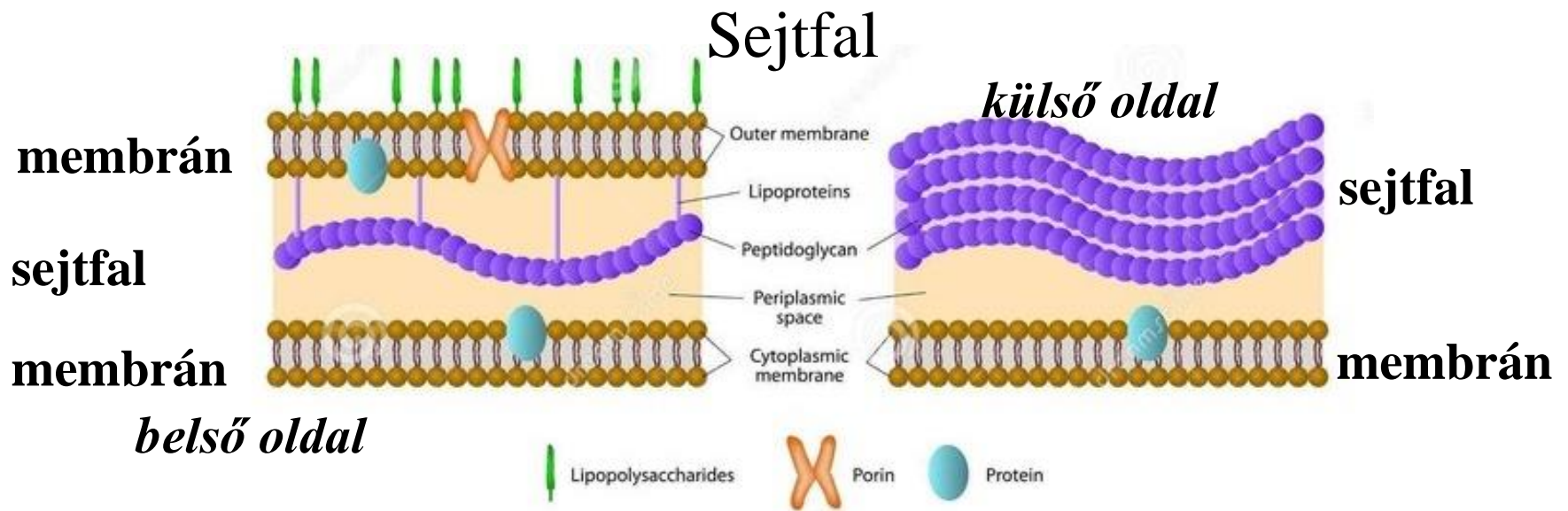
Egy lipid molekula szerkezete



Hosszú apoláris szénlánc

Rövid poláris csoport



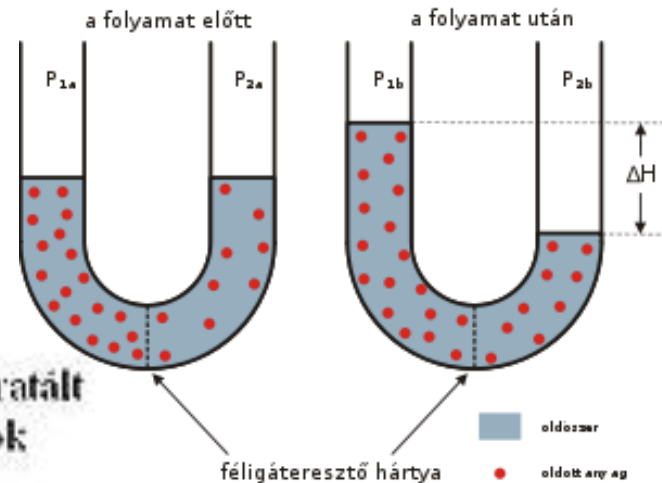
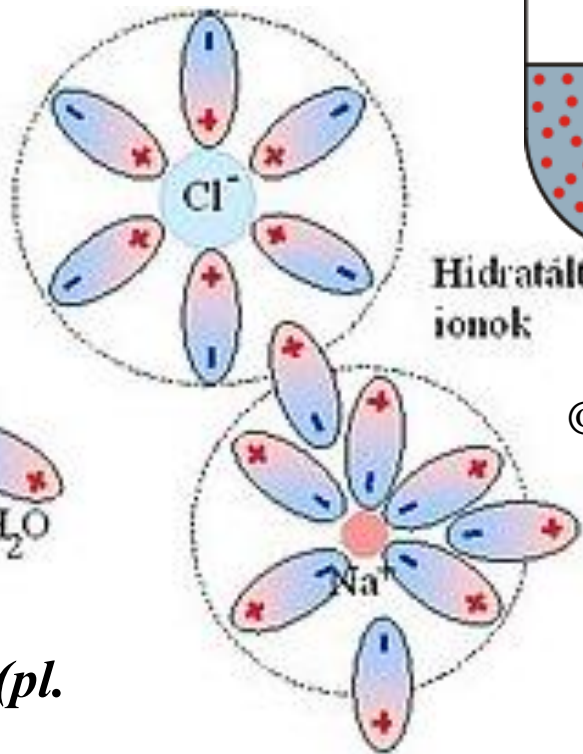
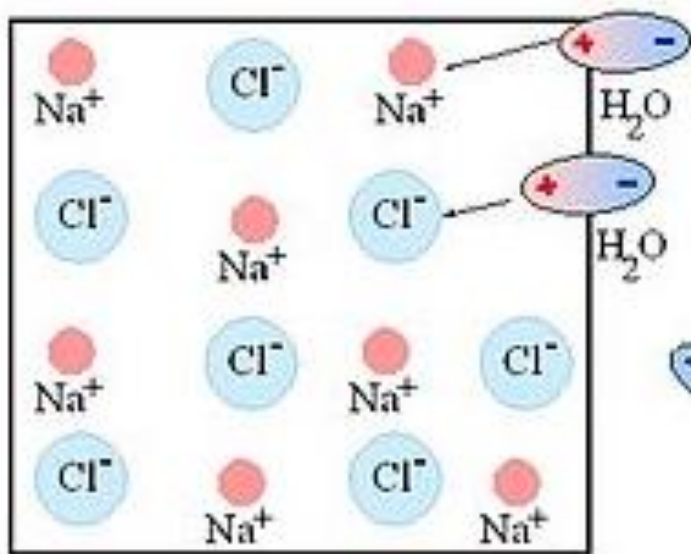


Gram-negatív (balra) és gram-pozitív (jobbra) baktériumok sejtfala

- A sejtfal a sejtmembránon *kívül* elhelyezkedő többlet határoló felület.
- Felépülhet pl. szén-hidrát polimerekből vagy cukor-aminosav óriásmolekulákból.
- Növényeknek, gombáknak, a legtöbb baktériumnak, algáknak van...
- De az állatoknak és állati egysejtűeknek (protista-k) nincsen sejtfaluk.
- Szilárdít, mechanikai védelmet ad, durva szűrőként működik,
- Véd az **ozmotikus stressz** ellen. → sejt+sejtfal ~ „nyomástartó edény”



Az ozmózis



© Hans Hillewaert, osmosis, wikipedia.org

$$P_{\text{ozmózis}} = \rho * g * \Delta H$$

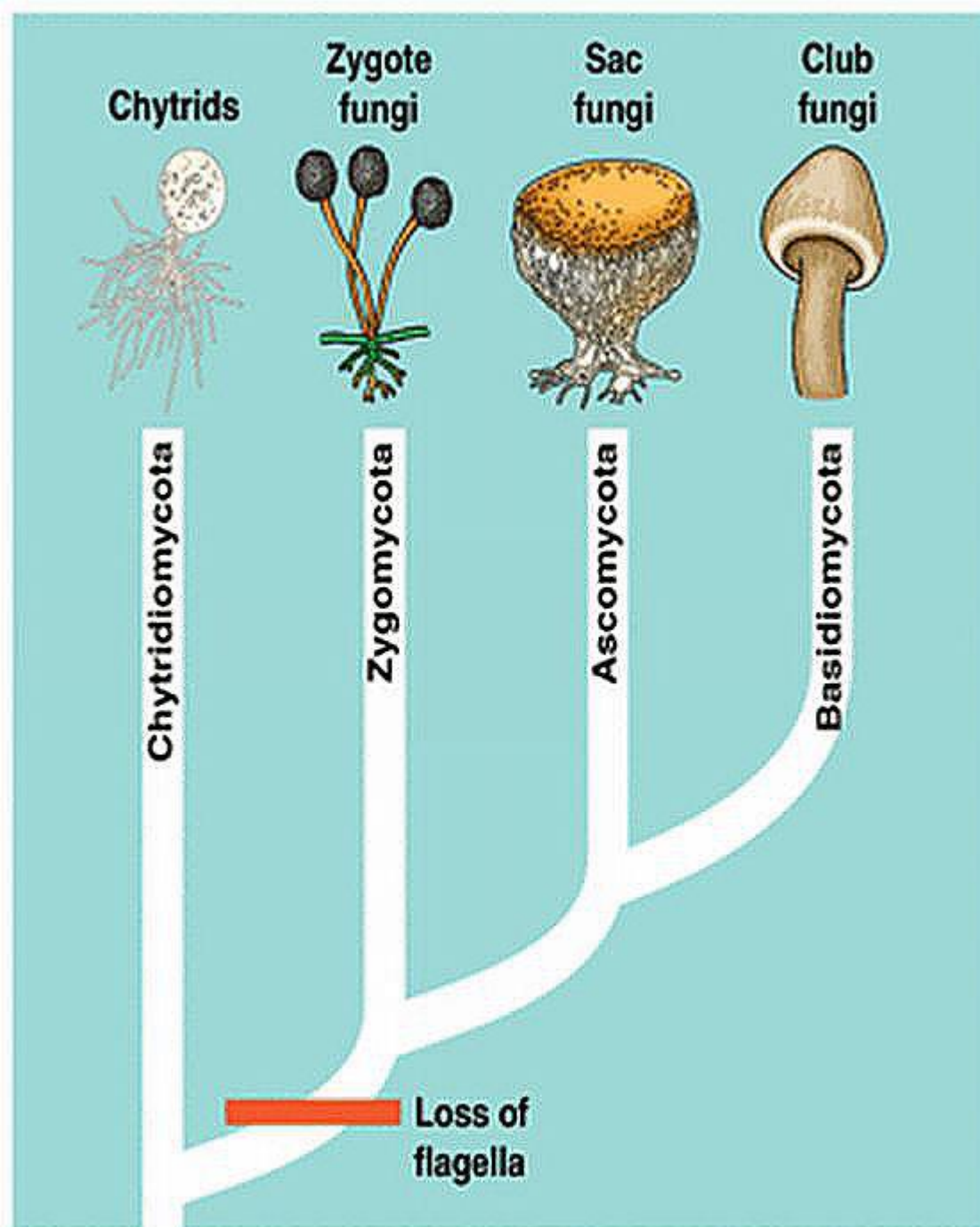
Négyzet: féligáteresztő hártya (pl. sejthártya)

© Dr. Báder Imre, ozmózis, wikipedia.hu

- Az oldószer (itt a víz) átjut a sejthártyán
- De a nagyobb molekulák (pl. fehérjék, RNS) nem tudnak kilépni
- Hajtóerő a belső és külső kémiai potenciál (~ a koncentrációkülönbség) kiegyenlítődéására.
- Ozmózis nyomás fogalma



A gombák felosztása



A gombák felosztása

Milyen termékeket állíthatunk elő gomba sejtek segítségével?

1. *Chytridiomycota* (rajzóspórás gombák): ősi alakok, spóráik ostorral mozognak.
2. *Zygomycota* (járomspórás gombák): csak ivartalan szaporodás, gömb alakú spóratartók. A penészek egy része is ide tartozik.
3. *Ascomycota* (tömlős gombák): fonalszerű sejtjeik vannak, szöveteket (micélium) képeznek, bonyolult szaporodási ciklusok, ivaros és ivartalan lépések. A penészek többi része ebbe a csoportba sorolható. Az élesztők egy része is ide tartozik.
4. *Basidiomycota* (club fungi, kalapos gombák): a jól ismert látható méretű termőtestet fejlesztő gombák, de a spóráik másképpen képződnek. A többi élesztő ide van besorolva.



A baktériumok leggyakoribb formái



Coccus



Coccobacillus



Vibrio



Bacillus



Spirillum

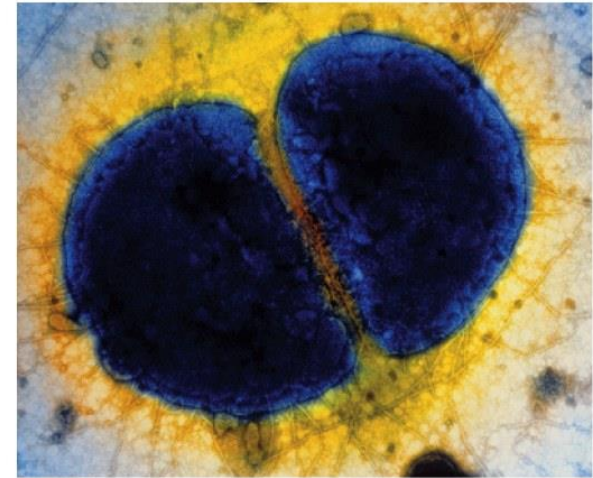
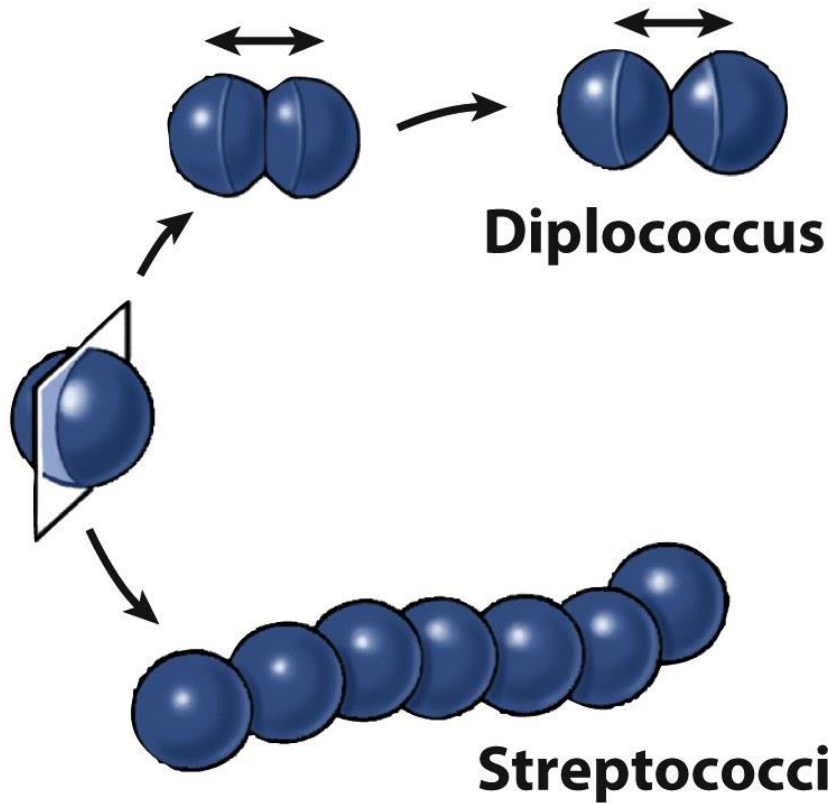


Spirochete

Figure 4-1 Microbiology, 7/e
© 2008 John Wiley & Sons



A kokkuszosok osztódási formái

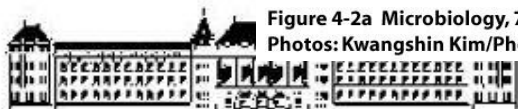


TEM



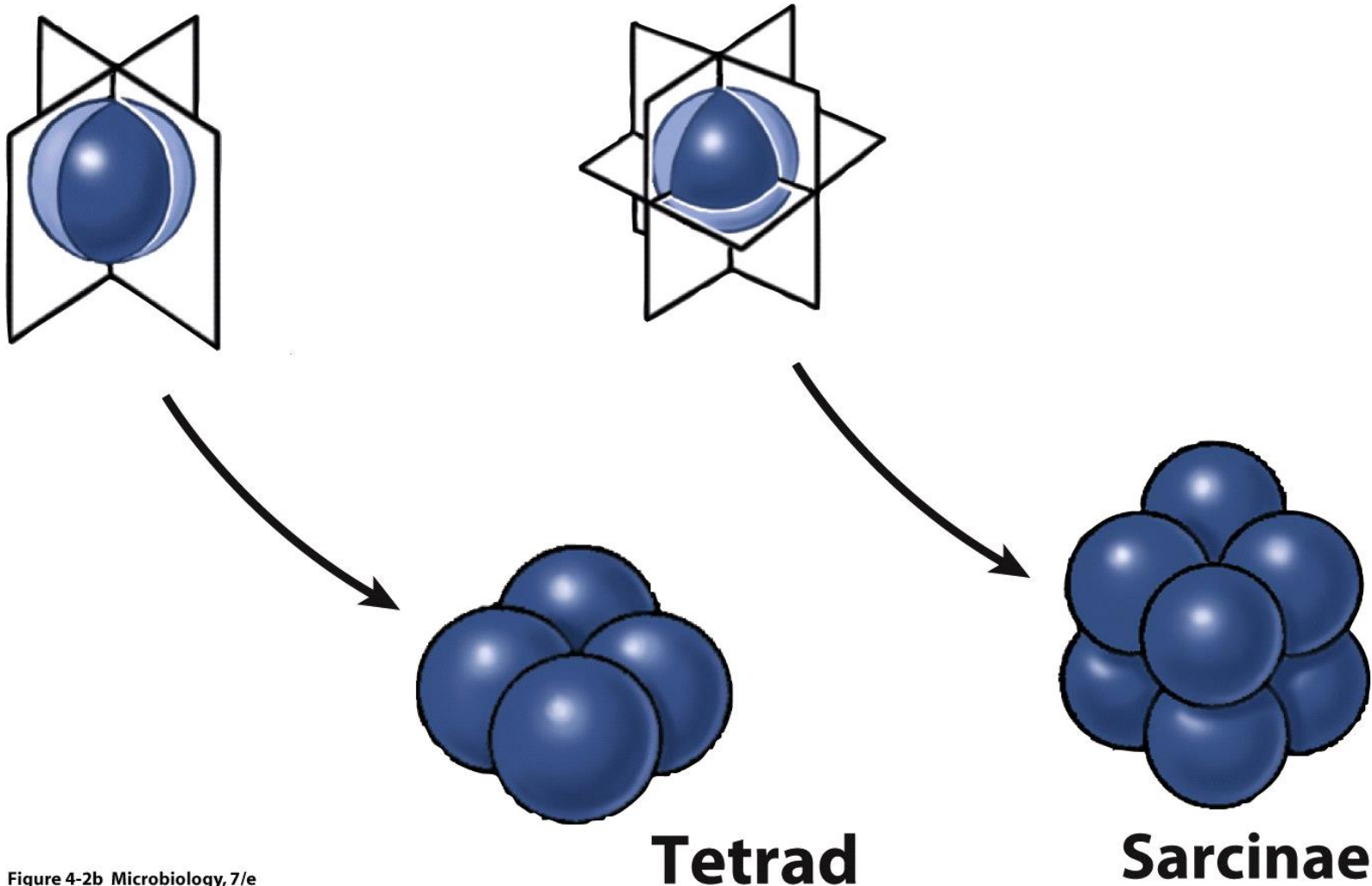
SEM

Aszerint lehet őket legjobban csoportosítani, hogy osztódás után milyen formákat alkotnak. → szimmetria síkok

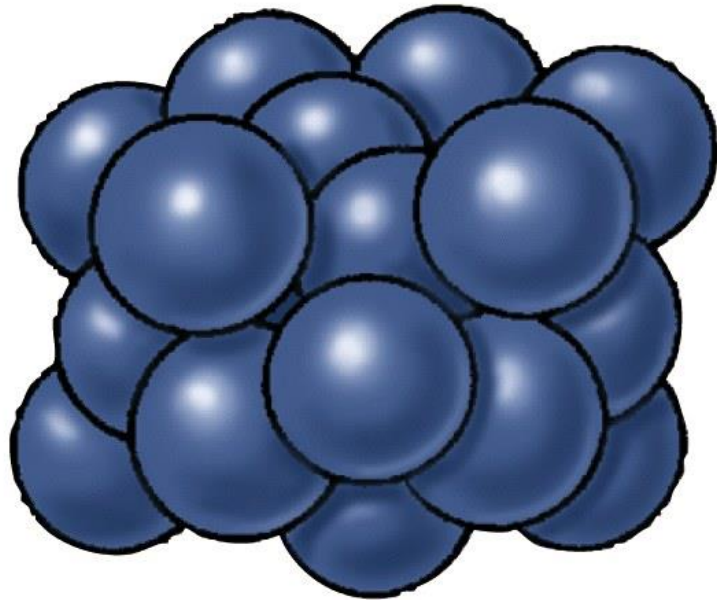


A kokkuszek osztódási formái

Két- és három tengely mentén történő osztódás



Sztafilokokkusok, „szőlőfürt” alakzat



SEM

Staphylococci

Az emberi normál flóra részei lehetnek, de hordozhatnak Toxin fehérjéket kódoló géneket és “multidrug” rezisztenciát (több antibiotikumra is rezisztensek) is

BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



Miért osztódnak a mikroorganizmusok?



Figure 4-2e Microbiology, 7/e
David Scharf/Science Faction

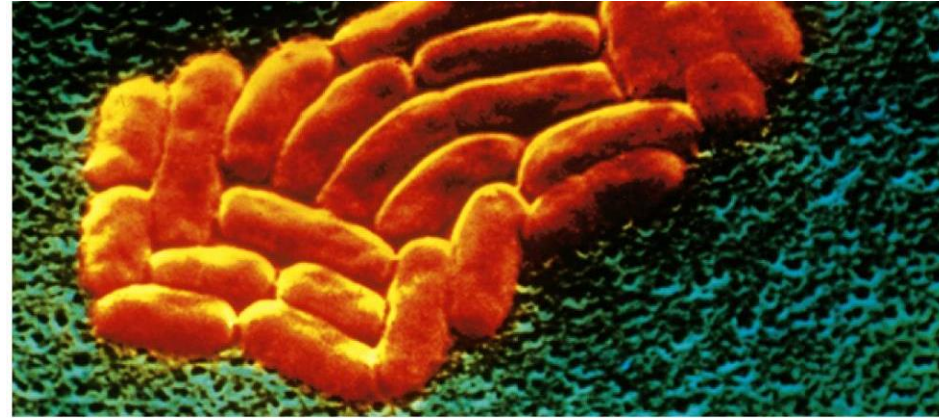


Figure 1-2a Microbiology, 7/e
CNRI/Photo Researchers, Inc.

SEM

Bacillusok, „pálcika” alakúak

A bacillusok a végükön osztódnak (lásd következő dia)

Anyagcsere során tápanyag felvétel > leadás → növekednek → a belső anyagcsere kapacitás a térfogattal (átmérő³) arányos. De az anyagforgalom az átmérő²-ével arányos, mert a sejt felületén át zajlik.

→ *Felborul a sejt optimális felület-térfogat aránya.*

$$V_{gömb} = (4/3) * \pi * r^3$$

$$A_{gömb} = 4 * \pi * r^2$$



Osztódó baktérium, benne a DNS



TEM

Figure 4-9 Microbiology, 7/e
CNRI/Custom Medical Stock Photo, Inc.

Osztódás során derékban befűződik, a DNS-e megkettőződik.

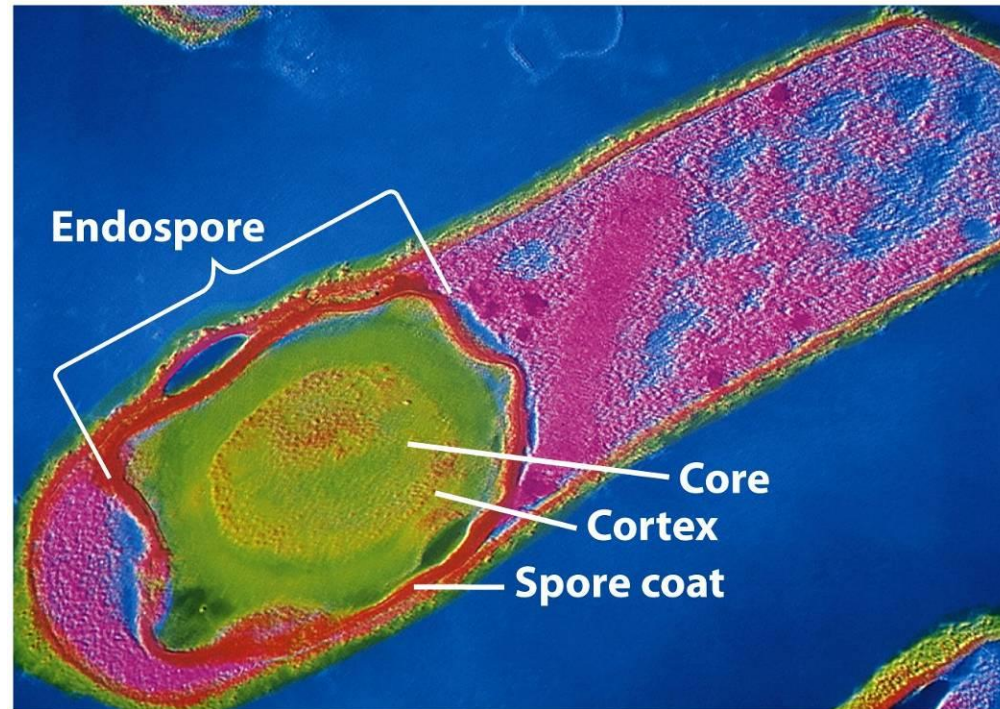
A felület-térfogat arány helyreállítása osztódással és/vagy hosszirányú növekedéssel lehetséges.

Bacillusok további felosztása: spóraképzők és nem spóraképzők.

Spóráképző bacillusok

A spórásodás itt nem szaporodást szolgál, hanem egy túlélési trükk.

Egyes bacillusok képesek endospórárt (belső spórárt) képezni. Ez nem szaporító, hanem túlélő képződmény. Kedvezőtlen körülmények között (kiszáradás, tápanyagok elfogyása, stb) a sejt vastag falat épít a DNS köré, ezen belül lecsökkenti a víztartalmat. A sejt elpusztulhat, de a spóra száraz állapotban évekig, évtizedekig életképes marad. Megfelelő körülmények közé (nedveség, hőmérséklet, tápanyagok) kerülve „feléled”, újra fejleszti a sejtet, osztódik.



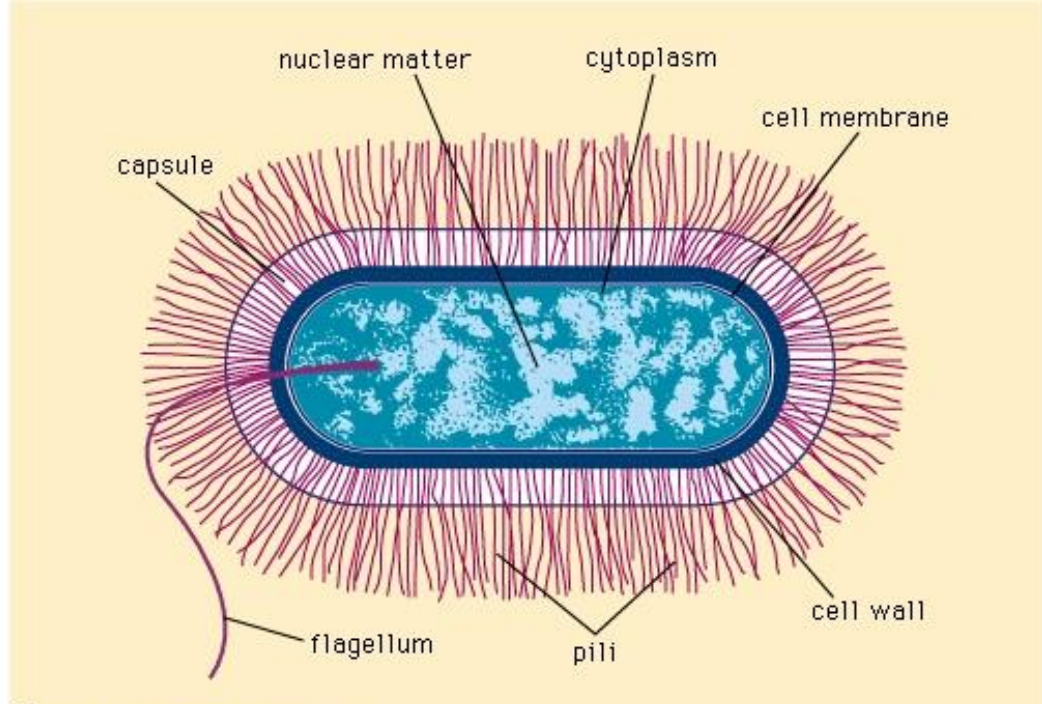
Mivel mozognak a baktériumok?

Csillók, ostorok

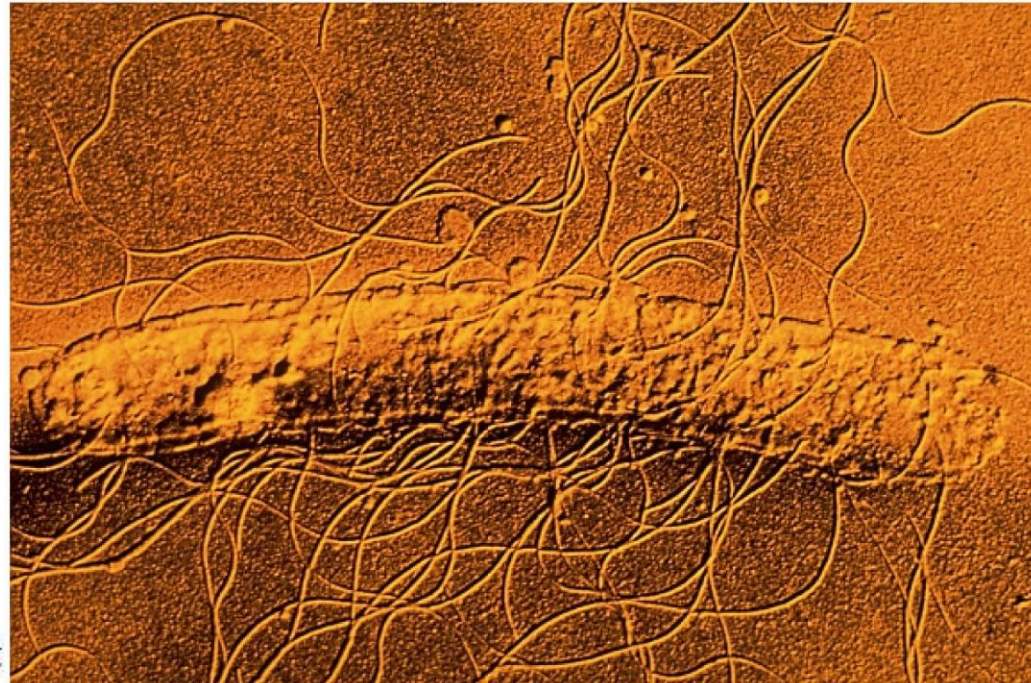
A baktériumok „mozgás-szervei” a csillók és/vagy a ostorok.

Az ostor (flagellum) a pálcák végén helyezkedik el, és körkörös, hajócsavar-szerű mozgással hajtja a sejtet.

A csillók (csillószőrök) beborítják a sejt felületét és csapkodó, „evezésszerű” mozgást végeznek.



©1994 Encyclopaedia Britannica, Inc.



Spirális baktériumok

Nagyon sok humán patogén
van közöttük. (Alább néhány
példa.)



LM

Microbiology, 7/e
© 2004 Sinauer Associates, Inc. and W. H. Freeman & Co.
All rights reserved.

Vibrio cholerae - a kolera
kórokozója

Borrelia burgdorferi –
Lyme kór (kullancs)

Treponema pallidum – a
vérbaj kórokozója

23

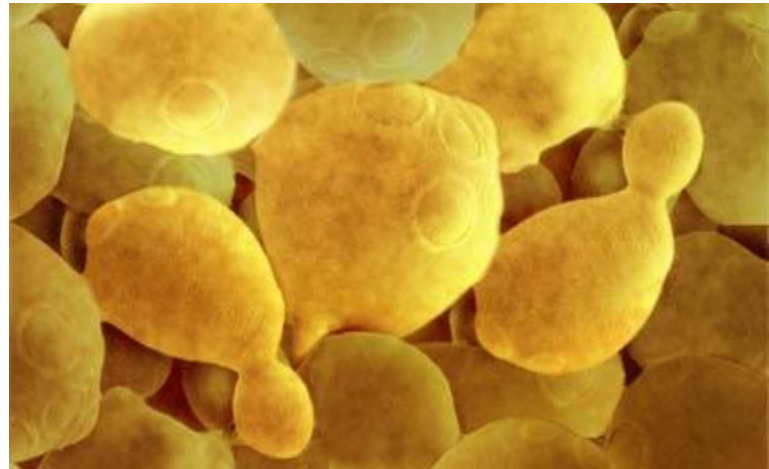
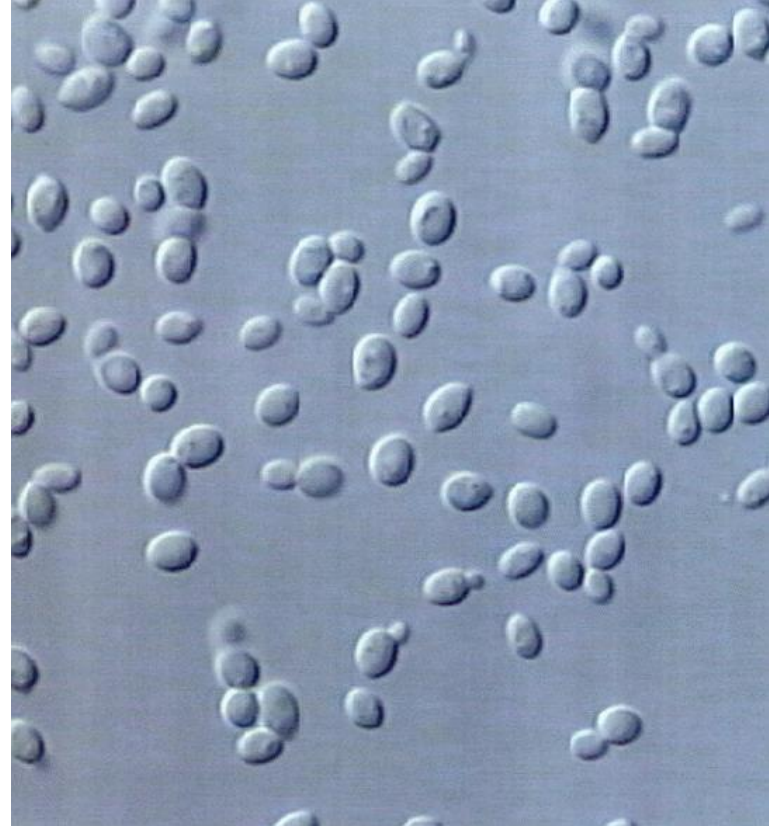
SEM

Biológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Az eukarióta mikróbák (protista-k) Élesztők

A gombák legegyszerűbb formái.
Eukarióták, nagyobb sejtek.
Nem osztódással, hanem sarjad-
zással szaporodnak (aszimmetri-
kus).

Fakultatív anaerobok (= anaerob és aerob anyagcserére egyaránt képesek = oxigén nélkül és oxigén jelenlétében egyaránt képesek növekedni)



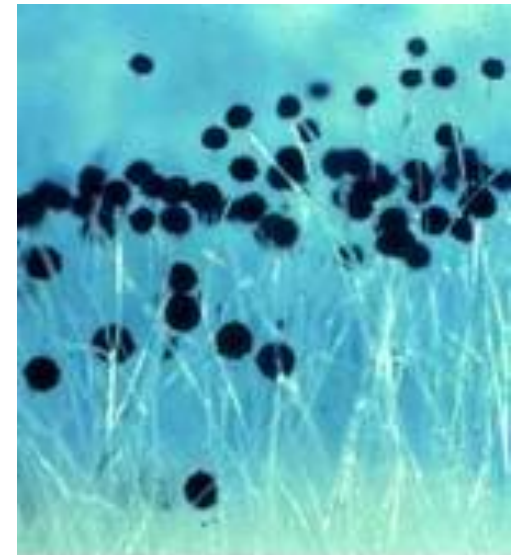
Fonalas gombák (penészek)

Penicillium camemberti, *Penicillium chrysogenum*,
Penicillium roqueforti. a *P. gorgonzolae*

Fonalas növekedésűek, szövedéket (micélium) képeznek.

Szaporodásukhoz jellegzetes alakú spóratartót fejlesztenek (exospórák – szaporodás a cél, nem a túlélés).

Bonyolult anyagcsere, nehezebb genetikailag manipulálni. Jobbra lent: ecsetpenész legyezőszerű spóratartó tokja. Fent: fejespenész.



Rhizopus -black bread mold



Fonalas gombák (penészek)

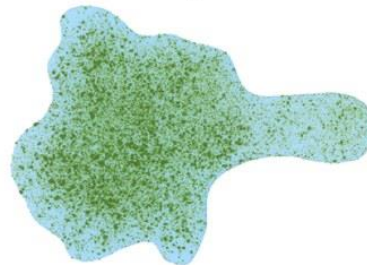
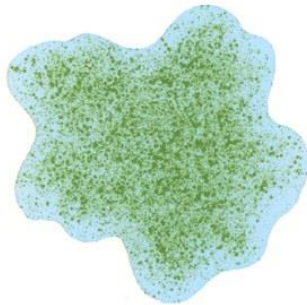


Protozoák (egysejtű állatok)

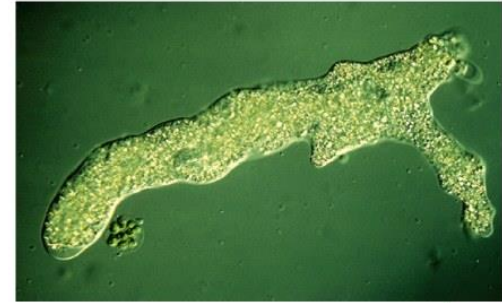
Tipikus képviselőjük az **amőba**.

Állábak kialakítására képes a citoplazma áramoltatásával.

Resting amoeba with cytoplasm distributed evenly.



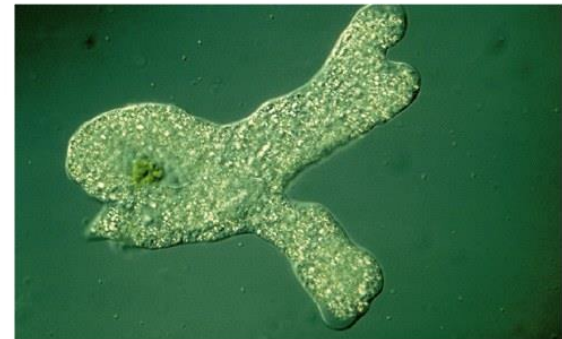
Newly formed pseudopodium with less dense cytoplasm.



LM



LM



LM



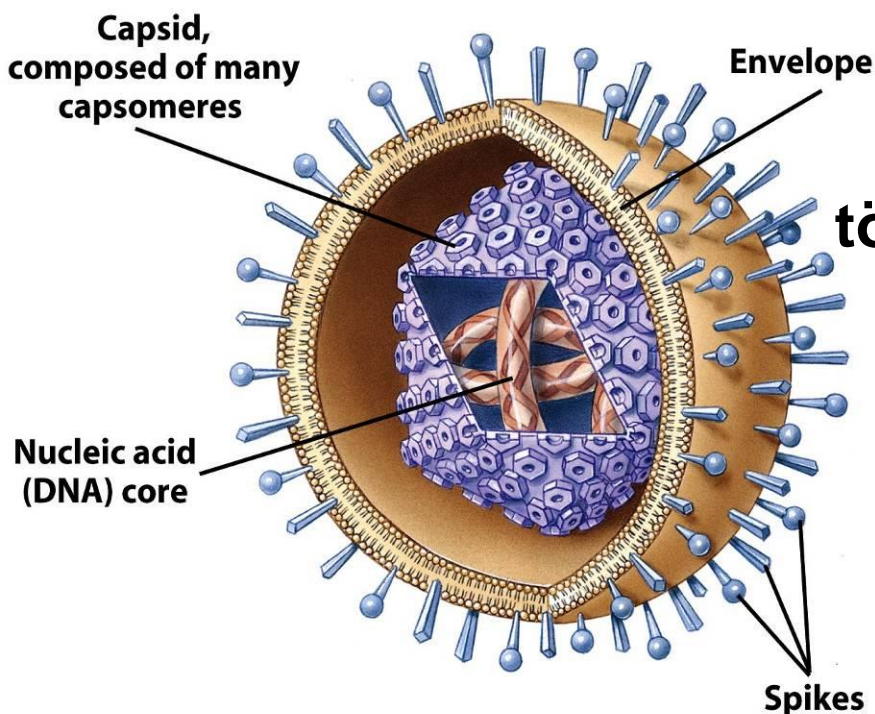


Figure 10-1 Microbiology, 7/e
© 2008 John Wiley & Sons

Vírusok

Miért nincsenek az evolúciós törzsfán? → nem férnek rá, mert az evolúciójuk „ellentétes” → leegyszerűsödtek

A legkisebb és legegyszerűbb szerkezetű „élőlények”. Élő és élettelen anyagra egyaránt jellemző sajátosságokkal rendelkeznek (pl. kristályos szerkezet).

Abszolút paraziták, önmagukban

nem mutatnak életjelenségeket, nincs anyagcseréjük, önálló mozgásra képtelenek. Élő anyagként csak gazdaszervezetben, annak folyamatait felhasználva viselkednek.

A végsőkéig leegyszerűsödtek, az információt hordozó nukleinsavon (DNS vagy RNS!) kívül csak egy fehérje tokjuk van, esetleg néhány enzimfehérje.



A DNS átírása fehérjékre

„A genetika centrális dogmája”

- Két lépésben:
1. Átírás (transzkripció) DNS-ről mRNS-re
 2. Fehérjeszintézis (lefordítás, traszláció) mRNS-ről aminosav láncra

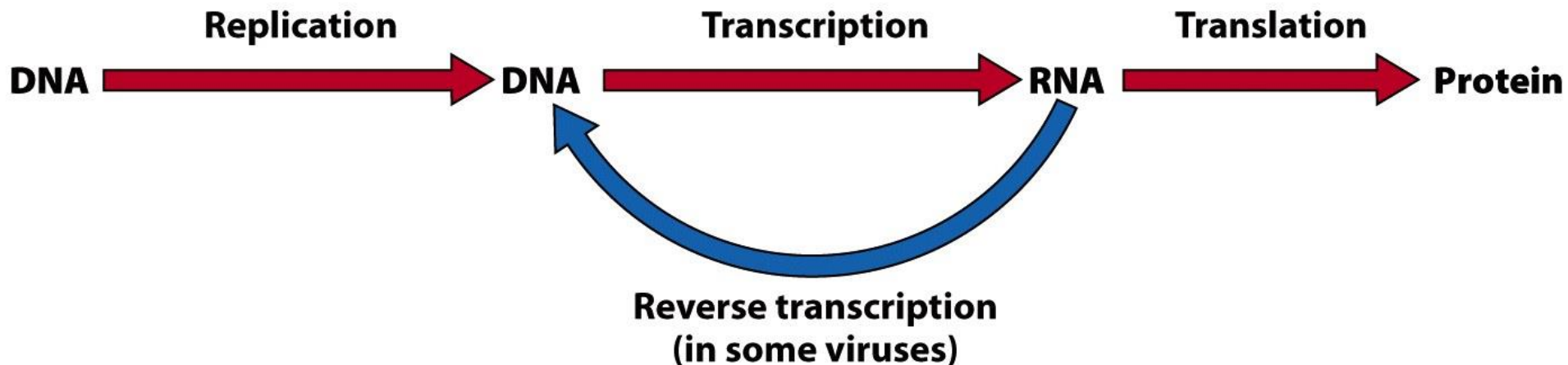


Figure 7-3 Microbiology, 7/e
© 2008 John Wiley & Sons

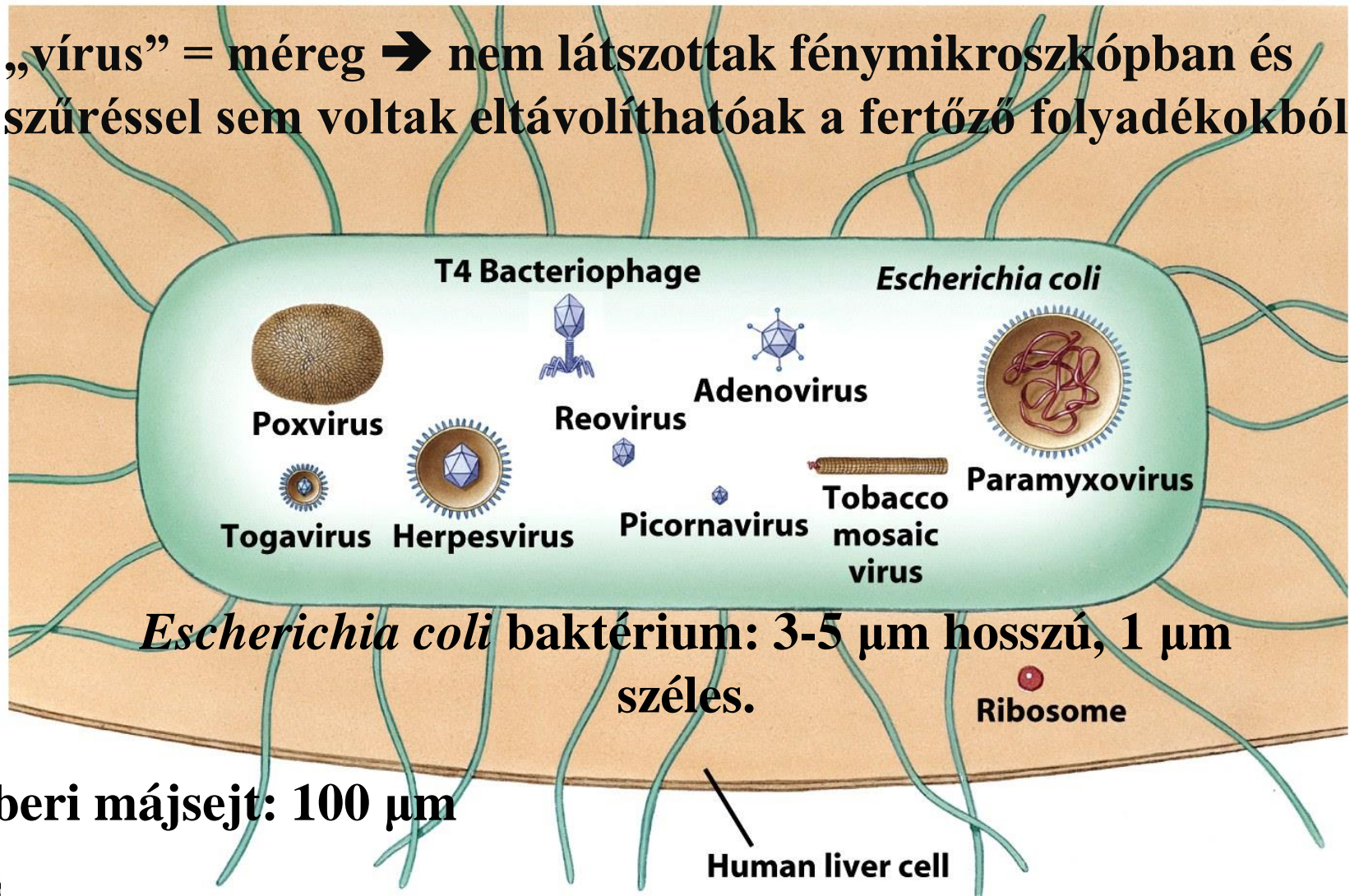
A reverz transzkripció – vagyis az RNS-ről DNS-re történő fordított információ átírás – az „élővilágban” egyedül az RNS vírusokra jellemző. (Kerülő úton történik az információ továbbítás.)



A sejtek és vírusok relatív mérete

A vírusok eltérő méretűek és alakúak (kristály, gömb, rúd, ikozaéder, ...)

„vírus” = mérreg → nem látszóttak fénymikroszkópban és szűréssel sem voltak eltávolíthatóak a fertőző folyadékokból.



Vírusok

Specifikus paraziták, általában csak néhány fajt támadnak meg (kivételek: influenza, veszettség). Vannak:

- fágok: a baktériumok vírusai,
- növényi vírusok (pl. dohány mozaikvírus)
- madár-
- emlős- (pl. veszettség)
- humán vírusok

Patogének, de nagyon eltérően működnek. Lehet:

- gyors lefolyású, akár halálos (himlő)
- hosszan tartó együttélés (HIV, herpesz)
- alig észlelhető (szemölcs)

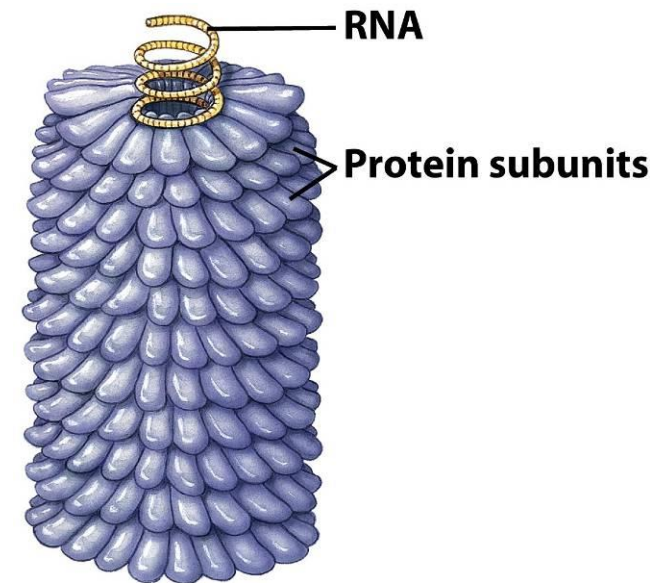


Figure 1-14b Microbiology, 7/e
© 2008 John Wiley & Sons



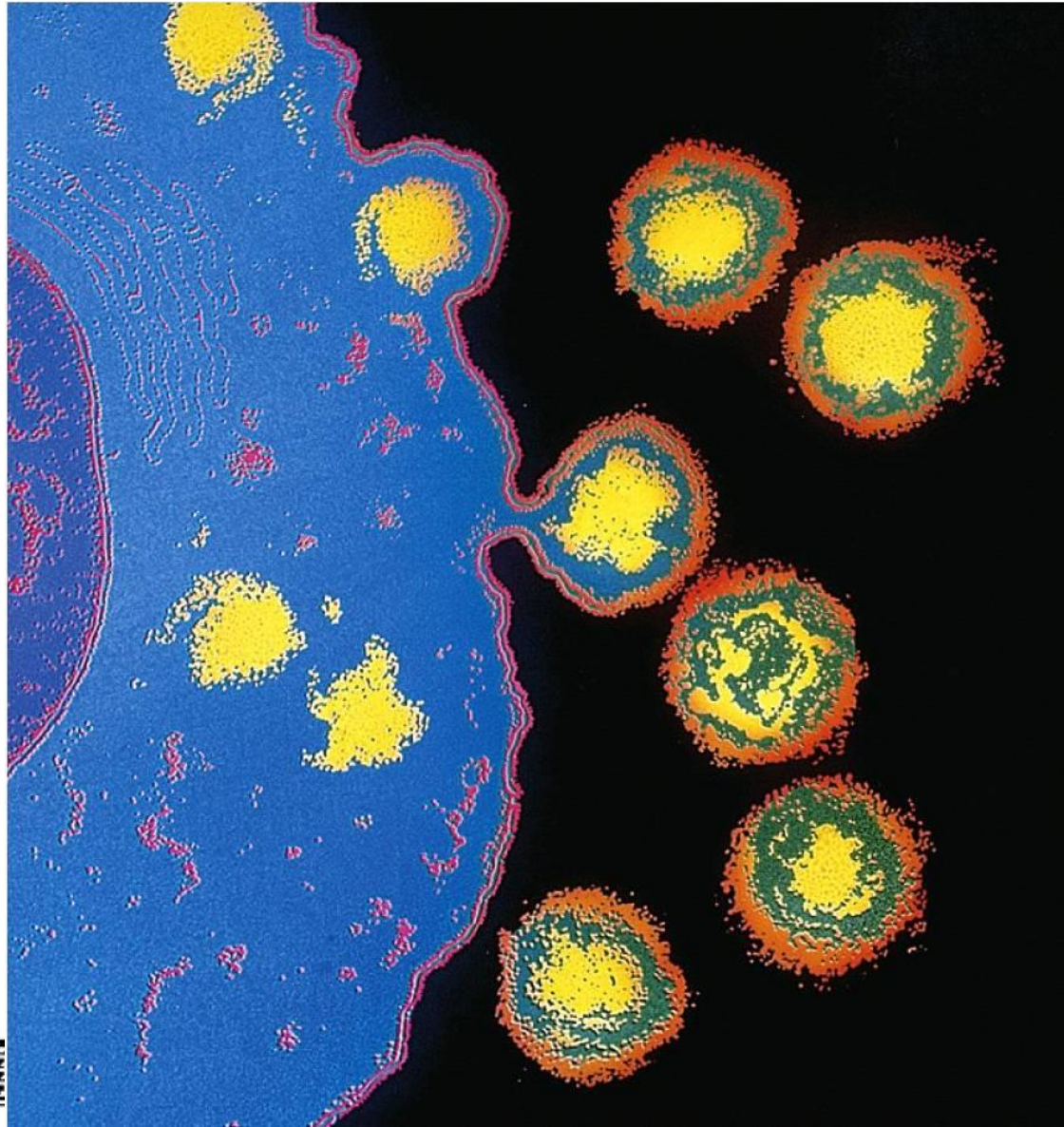
A vírusok szaporodása

A szaporodás fázisai:

1. rátapad a sejtre (csak akkor fertőz, ha megtalál bizonyos, számára specifikus sejtfelszíni **receptorokat**).
2. bejuttatja az örökítőanyagát
3. átprogramozza a gazdasejt működését
4. a gazdasejt a saját enzimeit felhasználva új vírusokat termel
→ a vírus DNS-t sok példányban lemásoltatja
→ a tokfehérjéket is sok példányban legyárttatja
5. a vírus-nukleinsav és tokfehérjék spontán összeépülnek új vírusokká (önösszeszerelés, energia minimum a hajtóerő. A vírus alkatrészei összeállnak egy szabályos geometriai rendszerré.)
6. a gazdasejt elpusztul (néhány kivétel van) és az új vírusok kiszabadulnak, készen a további fertőzésre.



Új vírusok kilépése a fertőzött sejtől



Bakteriofágok

...a baktériumok vírusai. A génmanipulációnál kiválasztott DNS darabok sejtbe való bevitelére használják ezeket.

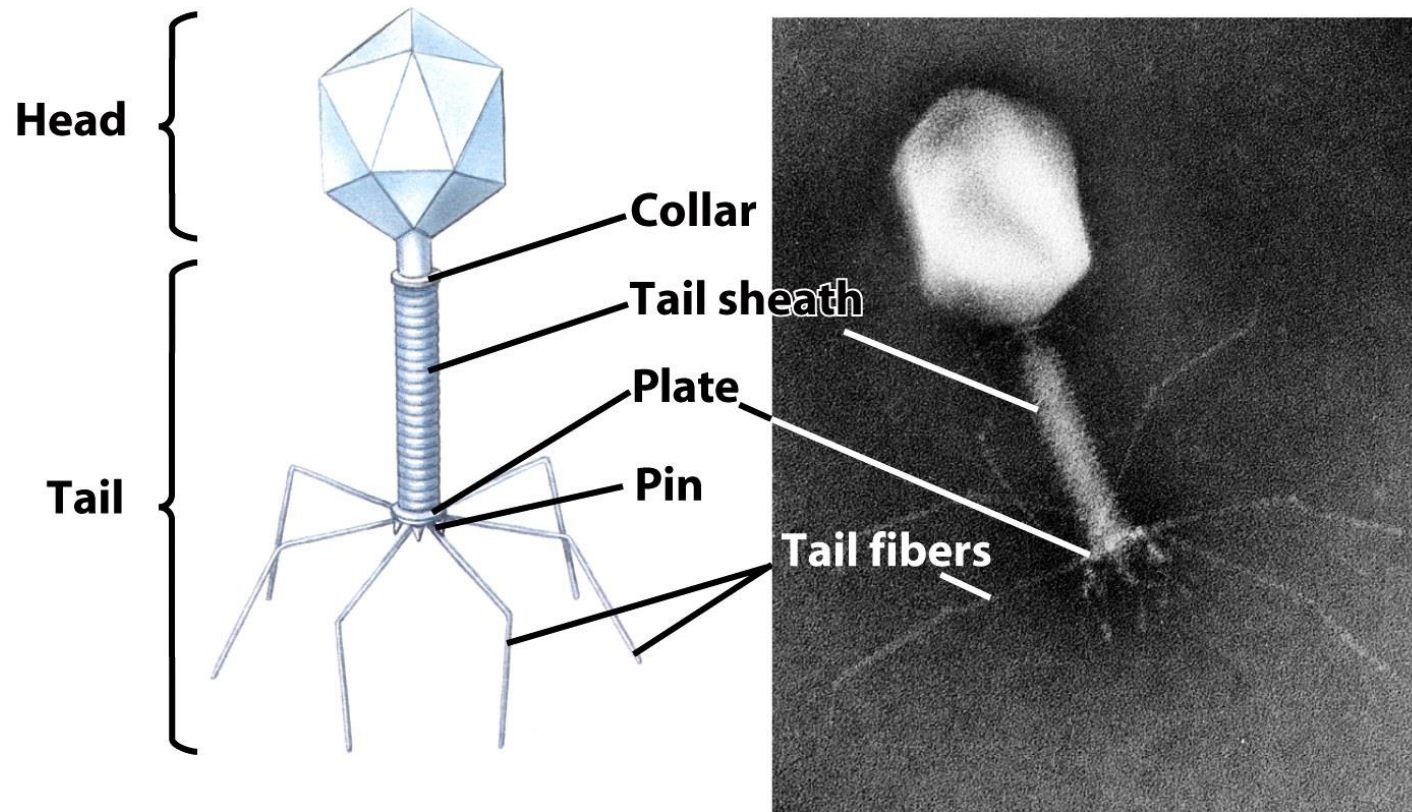


Figure 10-10a Microbiology, 7/e
Courtesy Robley C. Williams, Jr., Vanderbilt University



A T4 fág

A T4 fág a kólibaktérium (*Escherichia coli*) vírusa. A fág a „nyél” végével tapad a baktérium felületére és átlyukasztja azt. A fejében lévő DNS-t a sejtbe injektálja, a jellegzetes alakú tok kívül marad.



A bakteriofágok kimutatása

A bakteriofágokat sejtpusztító hatásuk alapján mutatják ki. Petri csészében szilárd táptalajon sűrű baktérium-tenyészetet hoznak létre (→ fehér felület). Erre öntik rá a fágokat tartalmazó folyadékot. Az egyes fágok megtámadják a baktérium sejteket, és szaporodásukkal egyre nagyobb lyukakat ütnek a baktérium-pázsiton.

A lyukak megszámlálásával a fágok kiindulási számát is megadhatjuk.

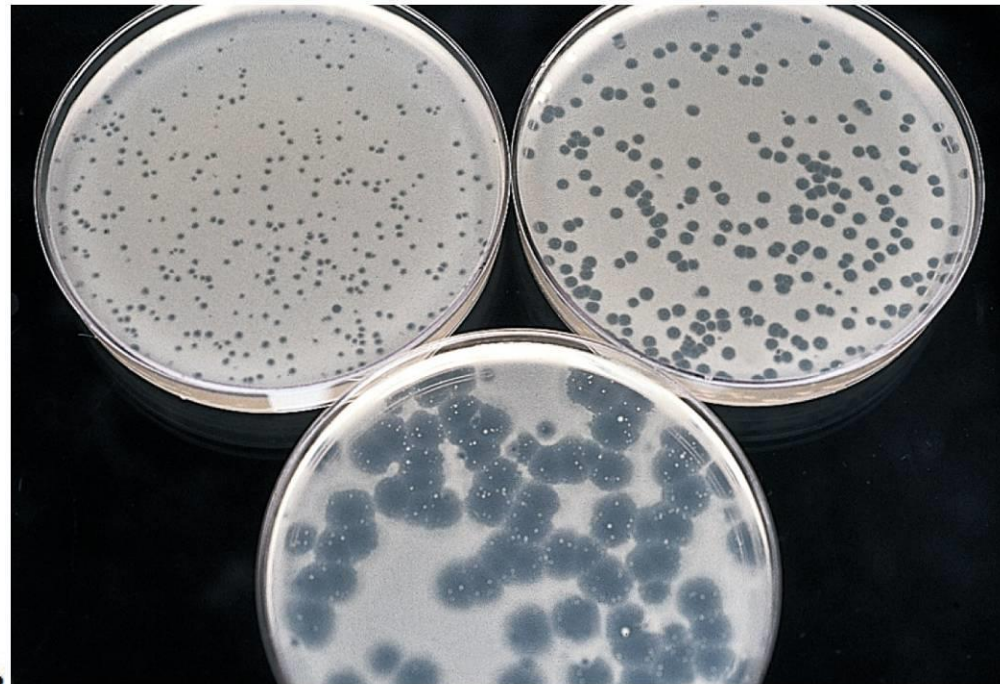


Figure 10-13 Microbiology, 7/e
Bruce Iverson/Bruce Iverson Photomicrography

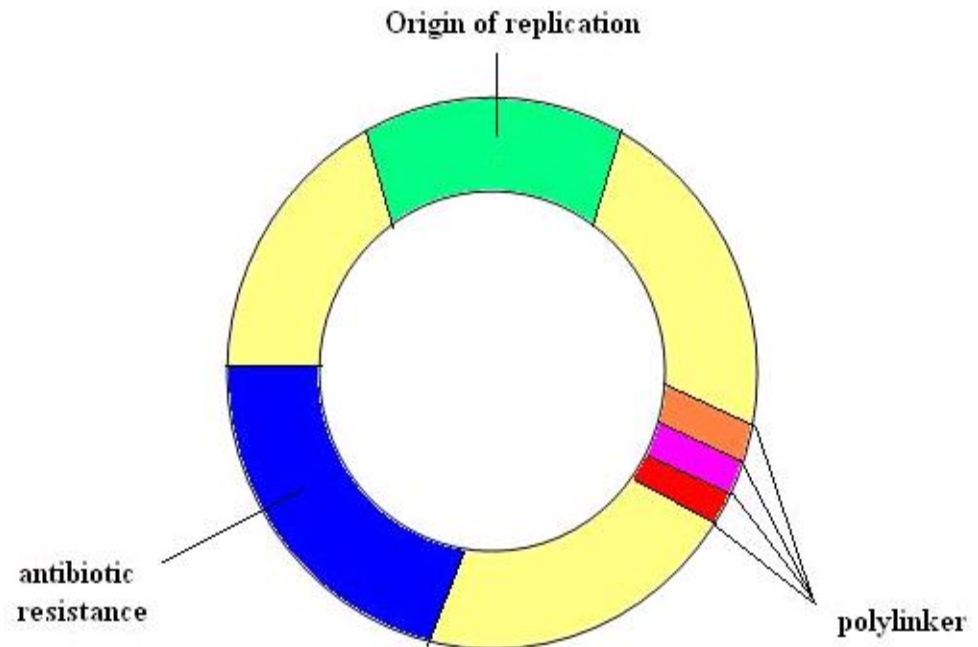


Plazmidok

Plazmidoknak nevezzük a baktériumokban, egyes élesztőkben, algákban és növényfajokban található, a kromoszómáktól független DNS darabokat. A plazmidok általában gyűrű alakú és kettősszalú DNS-molekulák.

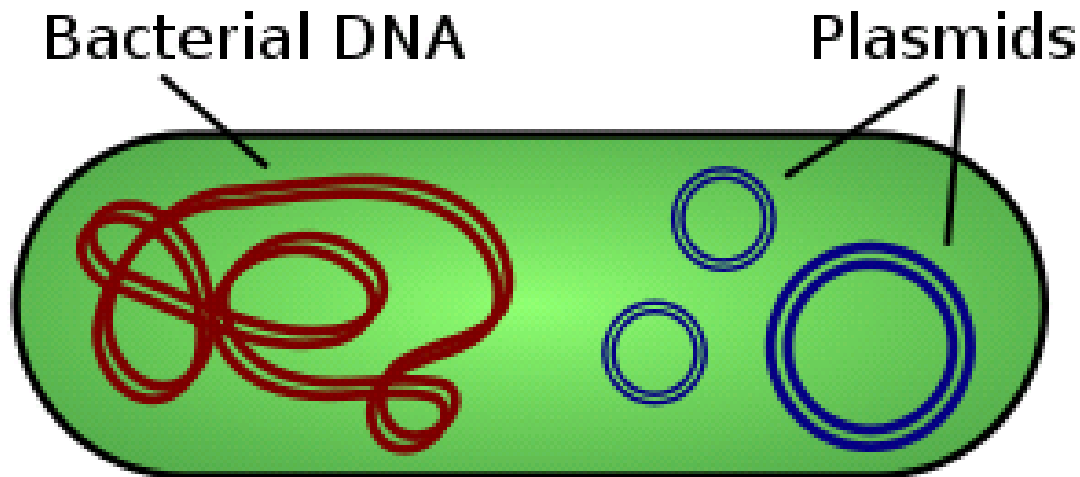
A plazmidokban található gének a kromoszómáktól eltérő tulajdonságokat hordoznak.

Génmanipulációnál ezt használják ki: egyszerűbb egy kis plazmid génjeit „átszabni”, mint a teljes kromoszómát.



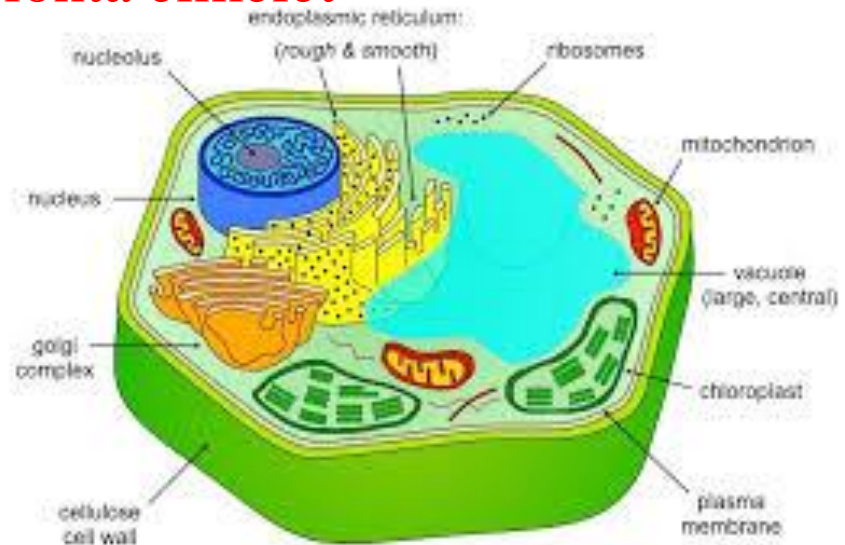
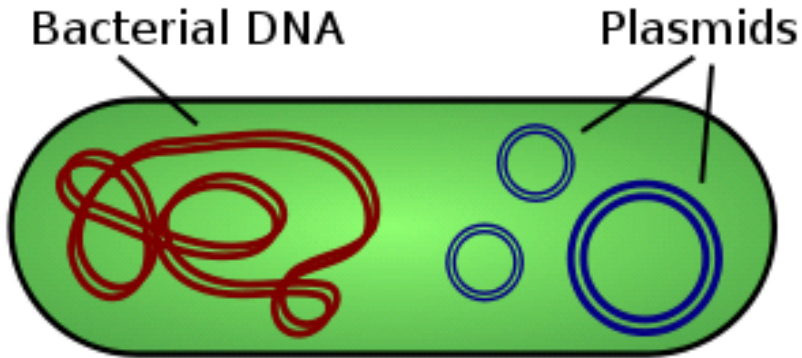
Plazmidok

A plazmidok a kromoszómáktól függetlenül másolódhatnak (szaporodhatnak), és egyik sejtől a másikba átadódhatnak. Egy sejtben több, gyakran tízes nagyságrendű plazmid is lehet. Sejtosztódásnál ezek a citoplazmával együtt kerülnek a leánysejtekbe. Sok plazmid esetén biztosan jut plazmid mindkét utódba, kevés plazmid kópia esetén előfordulhat plazmid-mentes utód is.



Hol találhatóunk DNS-t egy sejtben?

*** endoszimbióta elmélet**



Prokarióták:

- *Genomi DNS*
- *Lehetnek ielen plazmidok*

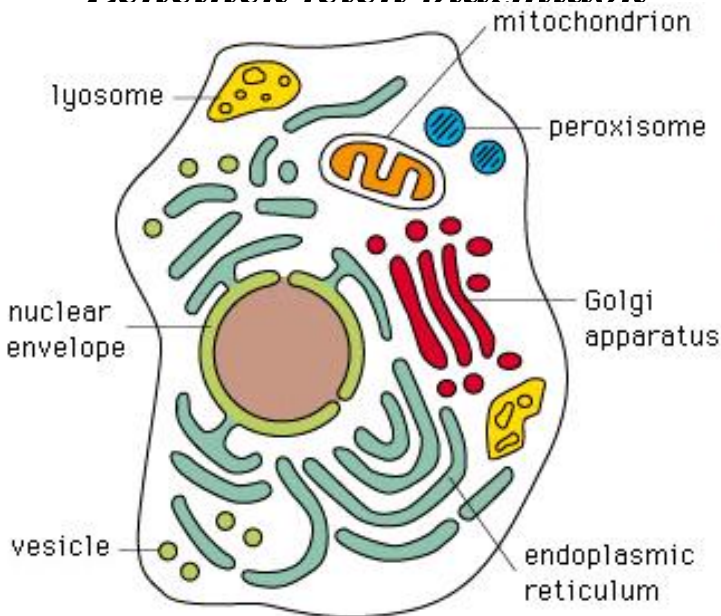
Forrás: bioninja.com.au

Növényi eukarióták:

- *Genomi DNS a sejtmagban*
- *Mitokondriális DNS**
- *Színtest DNS**
- *Esetenként plazmidok*

Nem növényi eukarióták:

- *Genomi DNS a sejtmagban*
 - *Mitokondriális DNS**
 - *Gombákban létezhetnek plazmidok*
- almazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

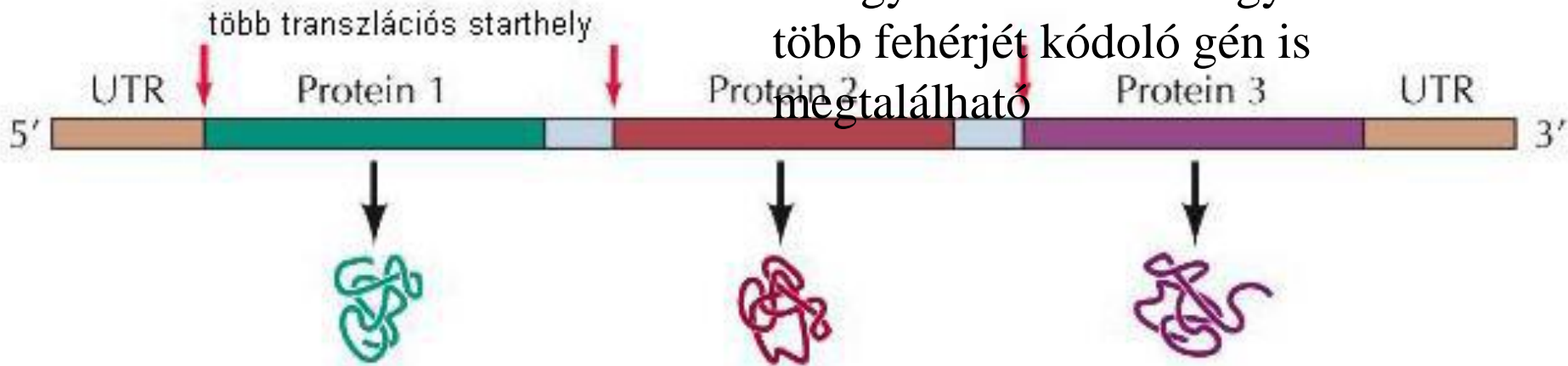


Ismétlés és kiegészítő információ a mutációs rátával kapcsolatban



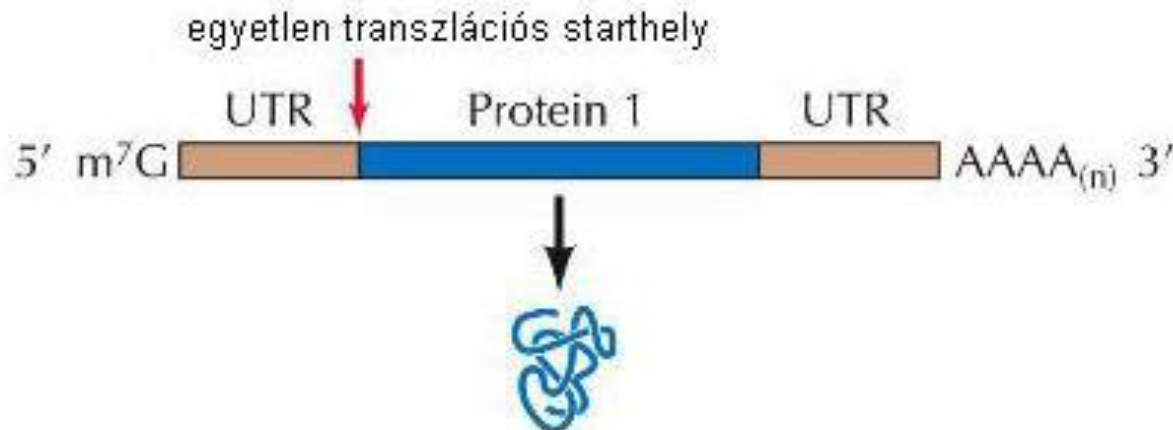
Eltérések a prokarióta és az eukarióta mRNS felépítésében

Prokarióta mRNS szerkezete



A prokarióta mRNS policisztronos
→ egy mRNS száom egymás után
több fehérjét kódoló gén is
megtalálható

Eukarióta mRNS szerkezete

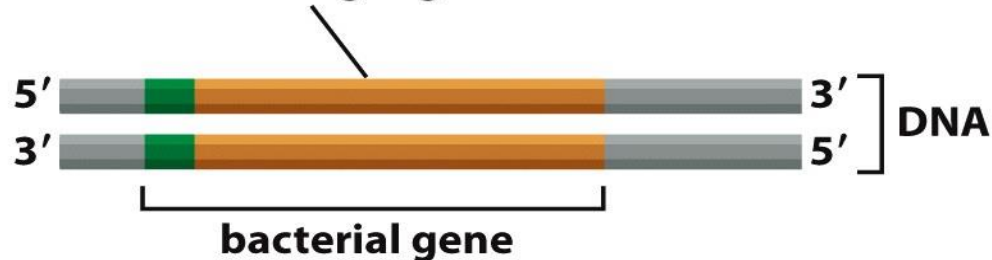


Eltérések a prokarióta és az eukarióta mRNS felépítésében

Kódolás prokarióta és eukarióta sejtekben

A frissen átíródott eukarióta mRNS-en kódoló és nem kódoló szakaszok (exonok és intronok) váltják egymást.

coding region



**coding regions
(exons)**

**noncoding regions
(introns)**



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 (kozmikus sugárzás, UV sugárzás, közetek radioaktív sugárzása, Röntgen)
Ezek a nagy energiájú sugárzások kémiai reakciókat idéznek elő a DNS-en.



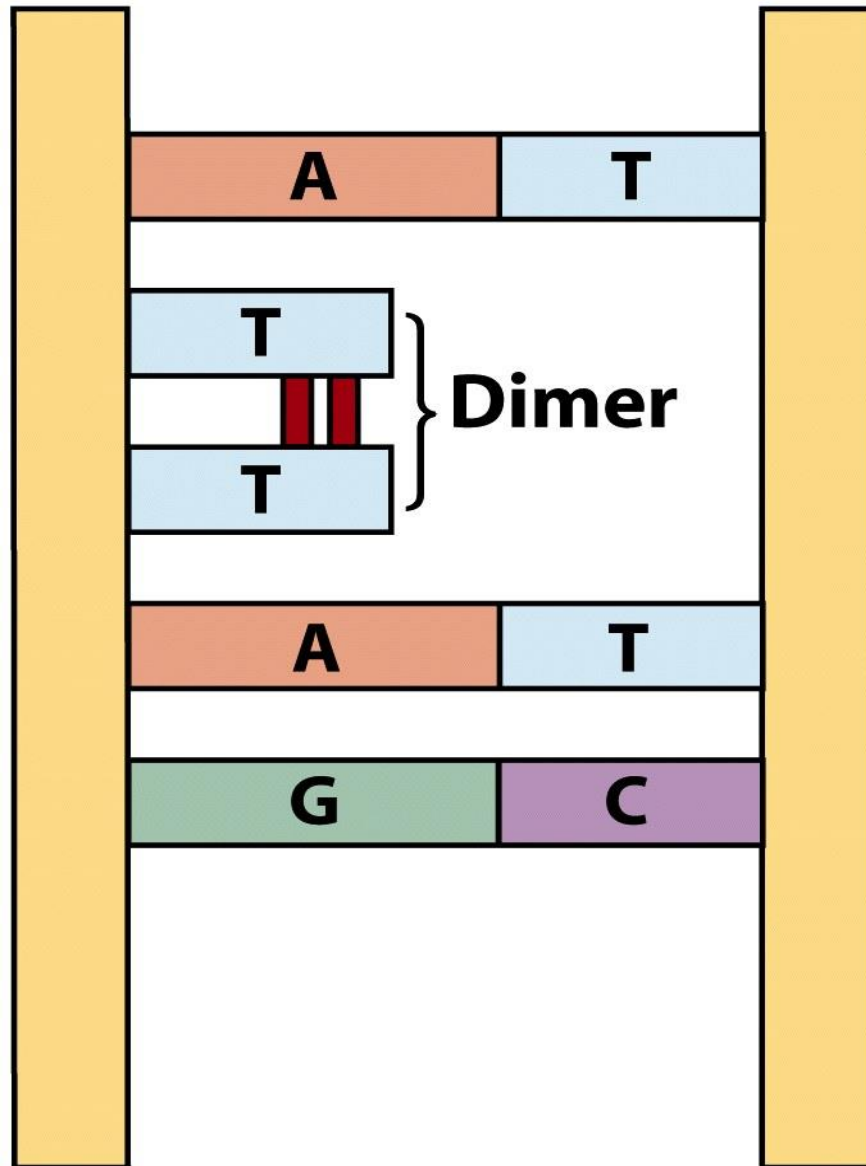


Figure 7-20 Microbiology, 7/e
© 2008 John Wiley & Sons



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

egész kromoszómaszerelvényt érintő megsokszorozódás: pl.: xn (ploiditás)



REPAIR (újrapárosító, javító, reparáló) mechanizmusok

olyan enzimrendszerek, amelyek képesek a DNS hibáit kijavítani.

Hibák (mutációk):

- másolási hibák
- környezeti hatások

Egy enzimkomplex csak egy bizonyos hibát ismer fel és tud kija-vítani.

Minél fejlettebb egy faj, annál többféle repair enzimrendszere van. Már a prokariótáknál is megjelenik.

A repair hatékonysága szabályozás alatt áll, állandó a mutációs ráta. (klíma – hőmérséklet)



Mutációs ráta

Új mutációk előfordulásának gyakorisága egy adott génben vagy élőlényben, adott időintervallumra vizsgálva.

(Pl. mutáció/gén/generáció)

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

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

Értéke az adott fajra jellemző, bár a környezeti hatások ezt befolyásolhatják.

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.

