


A BIOTECHNOLÓGIA TERMÉSZETTUDOMÁNYI ALAPJAI

M szakai menedzser MSc hallgatók számára
 2 + 0 + 0 óra, félévközi számonkérés
 3 ZH: március 06?, április 10?, május 02?.

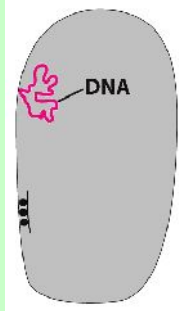
El adó: dr. Pécs Miklós egyetemi docens
 Elérhet ség: F épület, FE lépcs ház fsz 1, tel: 463-4031
pecs@eik.bme.hu

Írásos segédanyag található a:
http://oktatas.ch.bme.hu/oktatas/konyvek/mezgzaz/BiotechManager_cimen

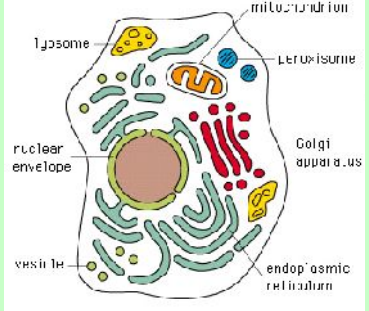


1


Prokarióta és eukarióta sejt



DNA



mitochondrion
 lysosome
 peroxisome
 Golgi apparatus
 endoplasmic reticulum
 vesicle
 nuclear envelope



4

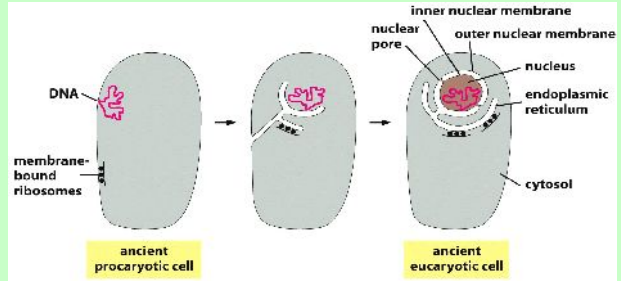
A tananyag felépítése:

<p>Genetikai alapok: a DNS replikációja mutációk, repair operon szabályozás</p> <p>Mikrobiológiai alapok: tulajdonságok, felosztás szaporodás, a mikrobák és környezetük</p> <p>Génmanipulációs módszerek Indukált mutáció + szelekció anyagcsere mérnökség</p>	<p>Protoplaszt fúzió Célzott génbevitel plazmidokkal Génbevitel Agrobacteriumokkal</p> <p>Génmanipulált mikroorganizmusok Bioremékek gyártása Els dleges és másodlagos anyagcseretermékek Génmanipulált növények</p>
--	---



2


Prokarióta sejtek evolúciója eukariótává



inner nuclear membrane
 nuclear pore
 outer nuclear membrane
 nucleus
 endoplasmic reticulum
 cytosol

DNA
 membrane-bound ribosomes

ancient prokaryotic cell ancient eucaryotic cell



5

I. Prokarióták és eukarióták


Karyon = sejtmag pro- = el /els eu- = valódi/jó/igazi

Alapvet különbség: nincs/van valódi, körülhatárolt sejtmagjuk

Evolúcióban: a prokarióták az si, egyszer bb formák, az eukarióták összetettebbek, kés bb jelentek meg

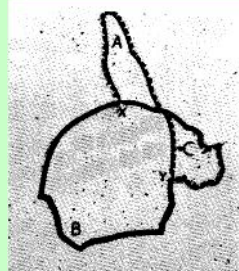
Prokarióták: a baktériumok, beleértve a fonalas szerkezet sugárgombákat (Actinomycetales) is, és a kékoszatok (Cyanobacterales)

Eukarióták: éleszt k, fonalas gombák, protozoák, zöldmoszatok, és az összes többsejt él lény





3

Prokarióta DNS (*E. coli*)
(duplikálódás közben)



Eukarióta DNS
(kromoszómák)





6

1. A DNS molekula szerkezete

Alapegységek: három molekulából tevődnek össze: cukor, foszfát, bázis. A négyféle bázis miatt négyféle egység: A, C, G, T

Lineáris: a cukor-foszfát lánc igen hosszú polimer képez.

Építőkövek
foszfát + cukor + bázis = Nukleotid

DNS szál
Cukor-foszfát + Bázis = Nukleotid

DNS kettős hélix
Cukor-foszfát váz

Hidrogén kötéssel összetartott bázis párok

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A DNS tömörítése

A DNS feltekert és többszörösen összehajtogatott formában tárolódik a kromoszómákban.

A DNS szál kb. 50.000-szer hosszabb, mint a kromoszóma

A DNS szál szélessége: 2 nm

"Nagybuborék" kromoszóma részlete: 11 nm

Hiányzó részletek kromoszóma részlete: 30 nm

"Nagybuborék" kromoszóma részlete: 300 nm

Több százszoros összehajtogatás részlete: 700 nm

Több százszoros összehajtogatás részlete: 1400 nm

Chromosome

A kromoszómákban a DNS 50.000-szer hosszabb, mint a kromoszóma

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A DNS szerkezete

Adenine, Thymine, Guanine, Cytosine

sugar-phosphate backbone

hydrogen bond

5' end, 3' end

bases

phosphodiester bond

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2. A DNS funkciói, m. kódése

- Átírás DNS-ről DNS-re.
 - szétcsavarás
 - komplementer szálak szintézise
 - ellentétes irányú szintézis
 - Okazaki fragmensek
- Átírás DNS-ről mRNS-re: a fehérjeszintézis első lépése (transzkripció)
 - kodogén szál, - néma szál
- Átírás DNS-ről más RNS-re, (riboszóma RNS, transfer RNS) ezek bázissorrendje itt tárolódik, szintézisük direkt átírással történik

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A kromoszómák finomszerkezete

A DNS gömb vagy korong alakú hisztonokra (bázikus fehérjék-re) tekeredik fel

10 nm fiber

30 nm fiber

50 nm

nucleosome core particle

DNA

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A DNS replikációja

parental DNA helix

newly synthesized strands

direction of replication fork movement

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A DNS replikációja

Okazaki fragments

direction of fork movement →

13

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A DNS replikációja

parent DNA double helix

template 5' strand

new 5' strand

new 3' strand

template 5' strand

16

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A DNS replikációs gépezet

VEZET SZÁL mintaként

Utoljára szintetizált szál

VEZET SZÁL

Csúszó gyűrű

DNS polimeráz a vezet szálán

Szülő DNS kettős hélix

DNS helikáz (ez a fehérje tekeri ki a DNS-t)

KÖVET SZÁL

RNS primer

új Okazaki szakasz

Követ szál mintaként

DNS polimeráz a követ szálán (amint éppen befejez egy Okazaki szakaszt)

primáz

Egy szálú DNS-t stabilizáló fehérje

14

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A DNS átírása fehérjékre

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

DNA → Replication → DNA → Transcription → RNA → Translation → Protein

Reverse transcription (in some viruses)

17

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A DNS replikációja

5'

3'

5'

3'

15

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A DNS replikációja

DNA synthesis (replication)

DNA

RNA synthesis (transcription)

RNA

protein synthesis (translation)

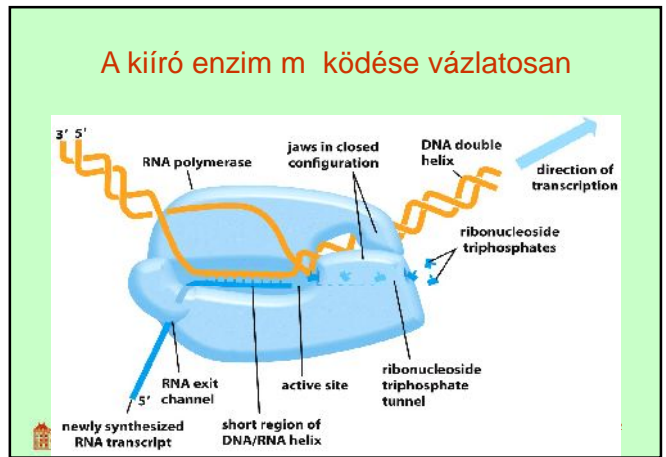
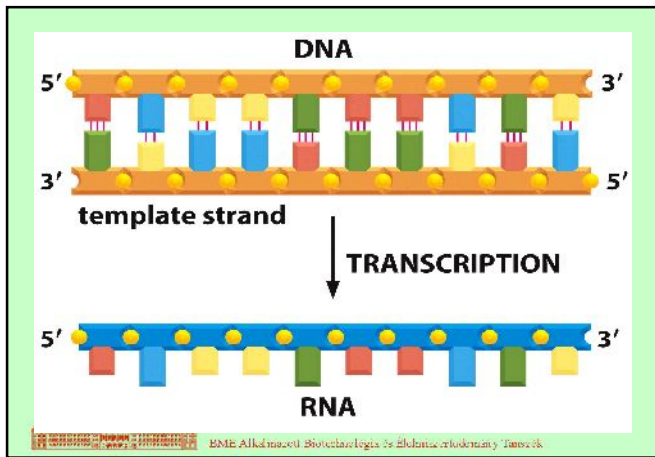
PROTEIN

amino acids

nucleotides

18

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



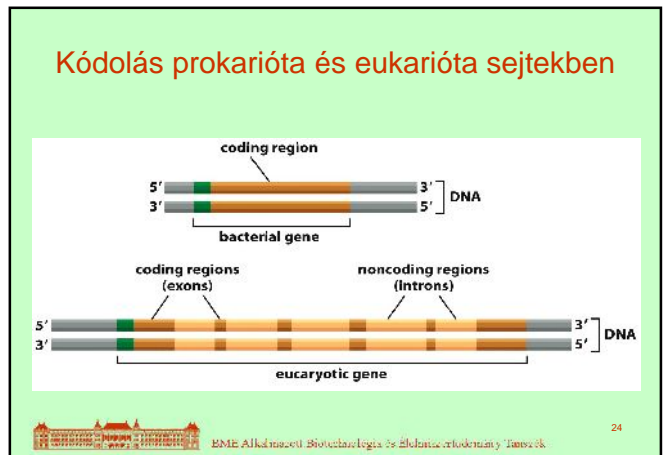
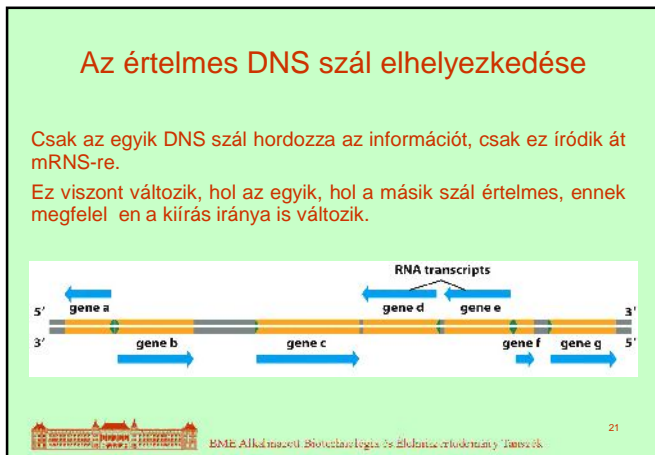
Átírás (transzkripció) DNS-r l mRNS-re

A genetikai kód közös az egész él világban.
A fehérjealkotó aminosavakat (20 féle) bázishármasok (triplették) kódolják (64 féle)
Redundáns (ismétl d) kód.
Csak az egyik DNS szál hordozza az információt, csak ez íródik át mRNS-re

Original DNA	mRNA transcript	Amino acid
		Phenylalanine
		Leucine
		Phenylalanine

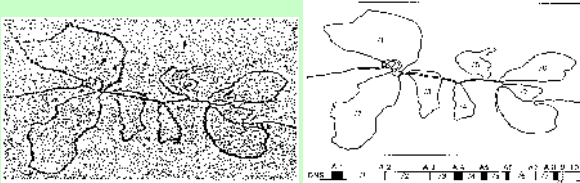
Figure 7-14 Molecular Biology, 6e
© 2008 John Wiley & Sons

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék



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-r l szintetizálódnak a fehérjék.



EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

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 érint kiesés (deléció), áthelyezés (transzpozíció), megfordulás (inverzió)

egyes kromoszómákat érint változás: törés, megkettőzés, számbeli változás (géndózis): xxx, xyy, xxy, Down kór

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



EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

Mutáció

... az örökítőanyagban bekövetkezett ugrásszerű változás, ami átörökölődik az utódokra.

Belső okok: a másolórendszer tökéletlenségéből ered 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, kózetek radioaktív sugárzása, Röntgen) Ezek a nagy energiájú sugárzások kémiai reakciókat idéznek elő a DNS-en.

EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

Mutációs ráta

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

Egészséges mutációs ráta: biztosítja a fajon belüli változathatóságot, 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 eredeti mutációs ráta azonos mindkét helyen.



EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29

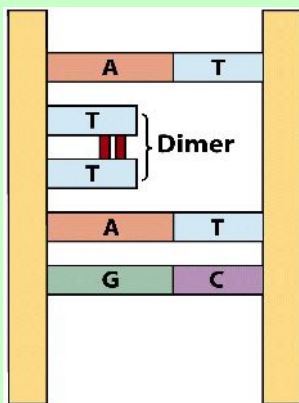


Figure 1-26 Mikrobiológia, 9/e
© 2009 John Wiley & Sons

27

REPAIR (újrapárosító, javító, reparáló) mechanizmusok

olyan enzimszisztémák, amelyek képesek a DNS hibáit kijavítani.

Hibák (mutációk):
- másolási hibák
- környezeti hatások

Egy enzimszisztéma csak egy bizonyos hibát ismer fel és tud kijavítani.

Mivel fejlettebb egy faj, annál többféle repair enzimszisztéma van. Már a prokariótáknál is megjelenik.

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



EME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

30

Genetikai szabályozás


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

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

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

természetes szelekció

Genom (gén) → fehérje → tulajdonság → életképesség




31

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: laktóz hatására megindul a laktóz hasznosításához szükséges enzimek szintézise.

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



34

Operon szabályozás

Operon: közösen szabályozott gének csoportja.

Általában egy anyagcsereúthoz tartozó enzimeket kódol (struktúrgének). 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.



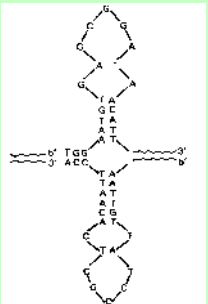


32

Operátor (gén)szakasz

Hogyan találja meg a regulátor fehérje a megfelelő DNS szakaszt?

Kémiai címkék:

- > Metil (CH₃-) csoportok
- > Jellegzetes DNS szakasz, például palindrom (tükörkép) szerkezet. Komplementer, de ugyanakkor a két szálon 3' → 5' irányban is azonos. Spirális hurkot alkot, és ezt a kitérőmögödést könnyen megtalálni.

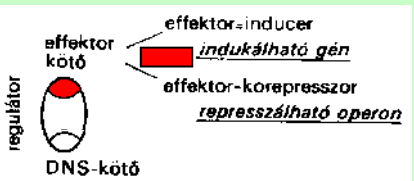



35


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




33

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
- Strukturúrgéneken: a szabályozás működik, egy termelt fehérje lesz hibás szerkezetű



36