

Figyelem: jövő hétfőtől az óráink a QB402-es teremben lesznek,
ahol több ülőhely van.



A BIOTECHNOLÓGIA TERMÉSZETTUDOMÁNYI ALAPJAI

Műszaki menedzser MSc hallgatók számára

2 + 0 + 0 óra, félévközi számonkérés

3 ZH: március 4.?, április 8.?, május 6.?

Pót ZH: május 13.? Pót-pót ZH: május 20.

Előadók: Benedek András doktorjelölt

Dr. Pécs Miklós egyetemi docens

Elérhetőség: MTA TTK (Q2 épület) 3. emelet, É. 3.23-24A

abenedek@mail.bme.hu

Írásos segédanyag található a:

<http://oktatas.ch.bme.hu/oktatas/konyvek/mezgaz/BiotechManager>

címen

Katalógust nem tartunk.



A tananyag felépítése:

Genetikai alapok:

a DNS szerkezete, lemásolása
RNS és fehérje szerkezet
mutációk, hibajavítás
operon szabályozás

Mikrobiológiai alapok:

tulajdonságok, felosztás
szaporodás,
a mikrobák és környezetük

Génmanipulációs módszerek

Indukált mutáció + szelekció
anyagcsere mérnökség

Protoplaszt fúzió

Célzott génbevitel plazmidokkal

Génbevitel Agrobacteriumokkal

Génmanipulált mikroorganizmusok

Bi termékek gyártása

Elsődleges és másodlagos
anyagcsere termékek

Génmanipulált növények

+1 választható téma





Mit neveznek biotechnológiának?

- **Erekly Károly** alkotta meg a **biotechnológia** fogalmát (1919) [1]
- A BME-n (Királyi József Műegyetemen) szerzett 1900-ban gépészmérnöki diplomát [1].
- Budapest határában korának legnagyobb sertéshizlaldáját tervezte meg, majd építette fel 1912-ben. A vállalkozását részvénytársaság formájában működtette [1]. ➔ ~ **műszaki menedzser lett** 😊

- Gondolatait „a Magyar Mérnök- és Építész Egylet Közlönyének 1918. október 13-i számában, Biotechnológia című dolgozatában publikálta” [1].
- „Felhívta a figyelmet arra a fontos körülményre, hogy **a nukleinsavak és fehérjék kémiai építőkövei az állatokban és a növényekben azonosak**” [1].
- „**Az élőlény az összetett molekulákat, az építőköveket a „saját szervezetében előírt üzemterv szerint” ... „szétszedi és összerakja, ... átalakítja saját szervezete alkotórészévé**” [1].
- Erekly Károly biotechnológia alatt azt a folyamatot értette, amelynek során **a nyersanyagok biológiai úton** (a növénytermesztés, az állatok takarmányozása és felhasználása révén) **a társadalom szempontjából hasznos termékekké alakíthatók.**

[1] Prof. Fári Miklós Gábor, Innotéka, 2011. aug. – szept.

A „biotechnológia” fogalom megalkotójának munkássága

http://www.innoteka.hu/cikk/a_biotechnologia_fogalom_megalkotojanak_munkassaga.113.html

Mit neveznek ma biotechnológiának?

- “Bármilyen műszaki alkalmazást, amely biológiai rendszereket, élő szervezeteket vagy ezek részeit hasznosítja termékek vagy folyamatok előállítása vagy módosítása érdekében.”

/Rio de Janeiro-i egyezmény a biológiai sokféleségről/

A biotechnológia alkalmazási területei

Legalább 4 fő ipari alkalmazási területe van (ezek között vannak átfedések):

- Gyógyászati („piros”) biotechnológia

Pl. vakcinagyártás, immunfehérjék gyógyszerként való felhasználása és előállítása, mesterséges szervek, diagnosztikai eszközök.

- Mezőgazdasági („zöld”) biotechnológia

Pl. sejtkultúrából történő növény regenerálás, genetikailag módosított növények

- Ipari (nem mezőgazdasági) biotechnológia („fehér” ~)

Pl. mikrobák anyagcsere termékeinek ipari alkalmazása, bioüzemanyagok, fermentált élelmiszerek, biológiailag lebomló műanyagok

- Környezeti biotechnológia („szürke” ~) → pl. bioremediáció mikrobák segítségével

Min lehet biotechnológiát alkalmazni?

- Ereky Károly még élő állatokra és növényekre alapozta a biotechnológiát (Ez alapján akár a tejet és a tojást is tekinthetjük biotechnológiai terméknek).
- Mi azonban már használhatunk egysejtű élőlényeket
- Vagy többsejtű élőlényekből származó, sejt kultúrában mesterségesen fenntartott sejteket (Pl. őssejtek, „halhatatlanná tett” = immortalizált sejt vonalak.)
- De dolgozhatunk az élő sejtek részeivel (sejtalkotókkal) is
Pl. DNS-sel, RNS-sel, fehérjékkel, mitokondriumokkal, színtestekkel

A biotechnológiai rálátás megszerzéséhez meg kell ismernünk azokat az élőlényeket és sejtalkotókat, amiket genetikailag módosítani akarunk.

Lássuk először a sejtek alapvető felépítését és működését.



Sejt: önfenntartó és önmagát sokszorozó „gépezet”

DNS: „könyvtár”, a sejt felépítésére vonatkozó információt tárolja

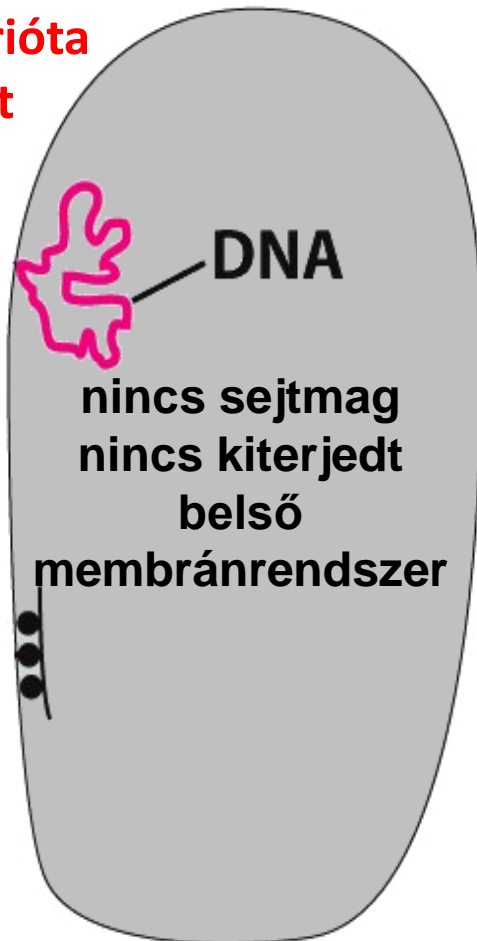
RNS: az információ szállításában és feldolgozásában vesz részt

Fehérjék: a DNS-ben kódolt információ alapján felépülő gépezetek, a sejtben zajló folyamatok motorjai.

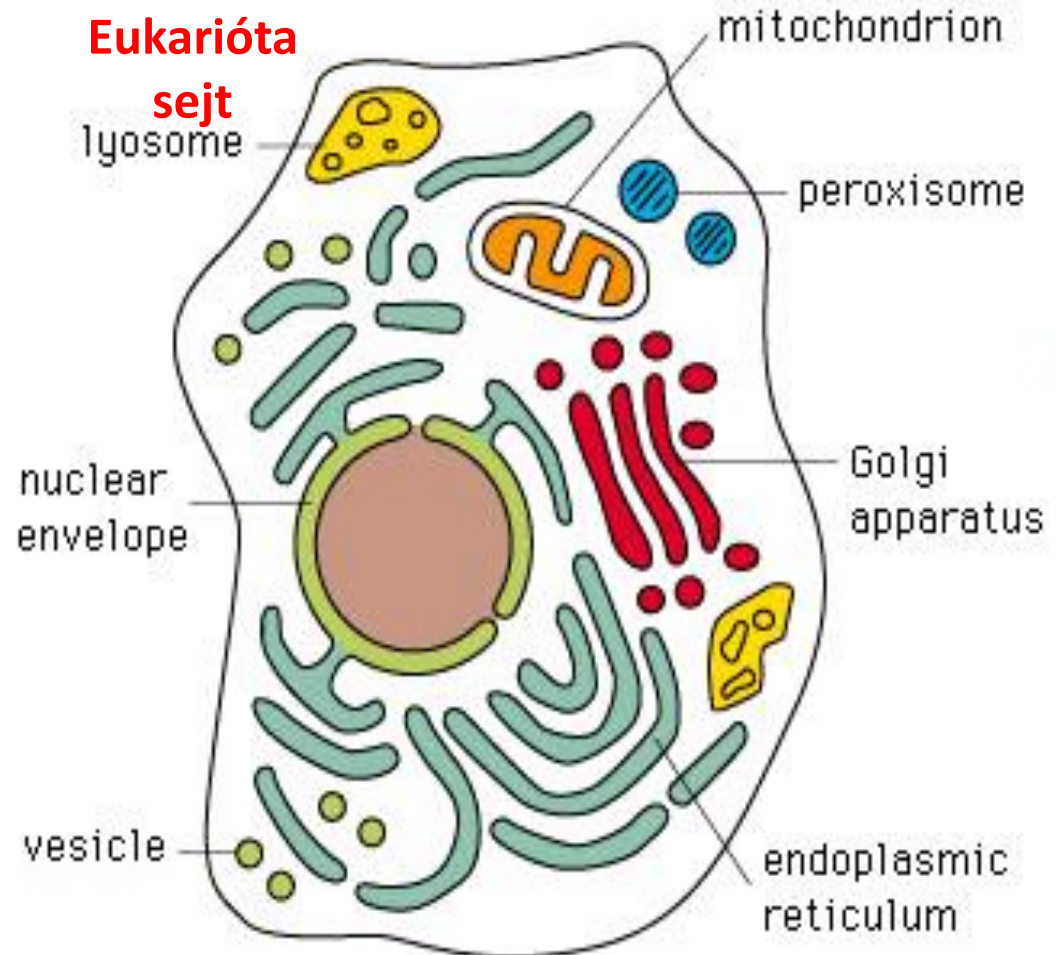
Membránok: határoló- és „munkafelületek” (lipidek ~ zsírszerű anyagok)

A sejtek nem egyformák → eltérő bánásmódot igényelnek

**Prokarióta
sejt**



**Eukarióta
sejt**



I. A két alapvető sejtípus: prokarióták és eukarióták

Karyon = sejtmag pro- = elő/első eu- = valódi/jó/igazi

Alapvető különbség: nincs/van valódi, körülhatárolt sejtmagjuk

Ebből következően különbség a fehérje szintézis helyében, a fehérje átírás módjában, a kiterjedt belső membránhálózat miatt a párhuzamosan lezajló anyagcserefolyamatok számában.

Evolúcióban: a prokarióták az ősi, egyszerűbb formák, az eukarióták összetettebbek, később jelentek meg

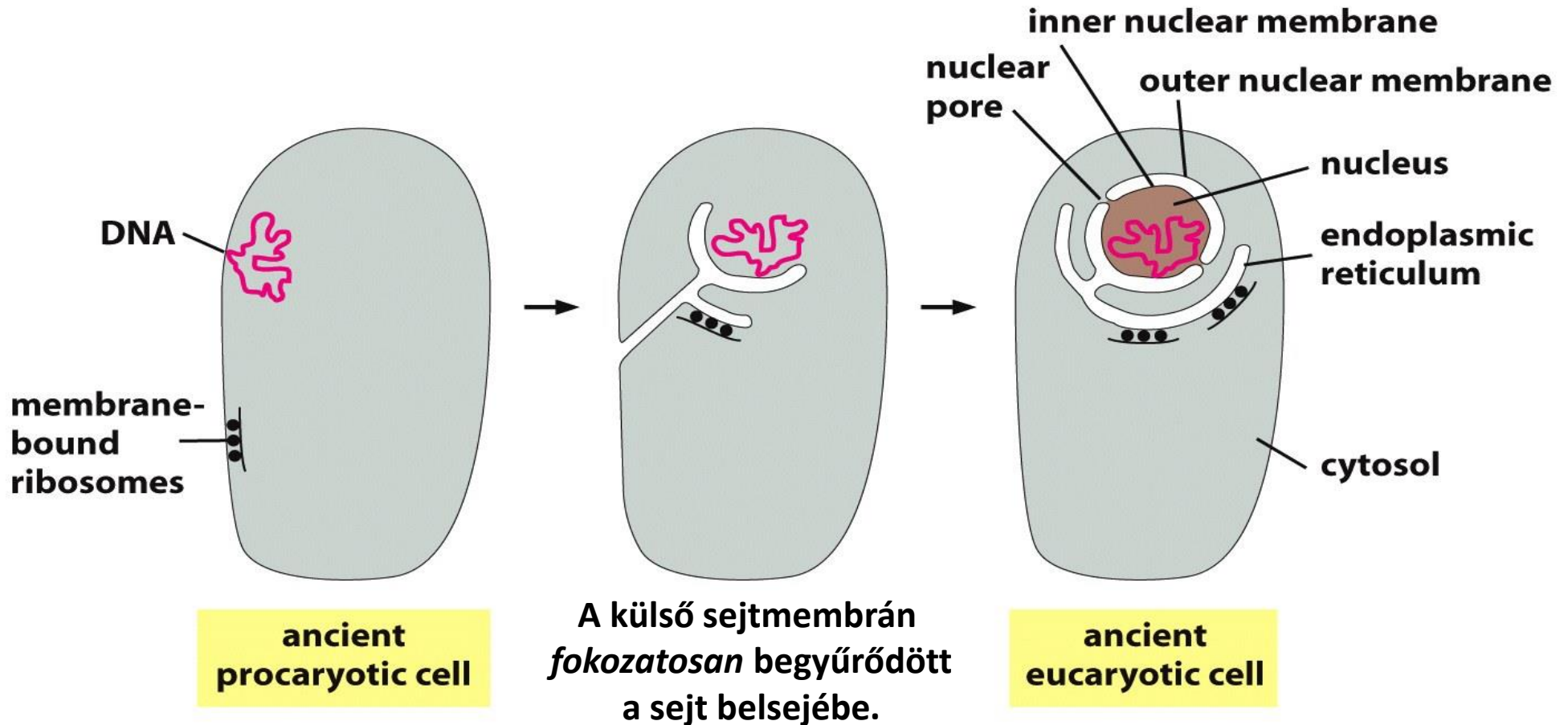
Prokarióták: a baktériumok, beleértve a fonalas szerkezetű sugárgombákat (Actinomycetales) is, és a kékmoszatok (Cyanobacteriales)

Eukarióták: élesztők, fonalas gombák, protozoák, zöldmoszatok, és az összes többsejtű élőlény

Ugyanazok a molekulák (DNS, RNS, fehérjék) találhatóak meg a prokariótákban és az eukariótákban is, csak nincs meg az elkülönült membránszerkezet.

A pro- és az eukarióta DNS, RNS, fehérjék ugyanazokból az alapvető építőkövekből állnak (lásd Ereky Károly meglátását a 4. dián)

Az eukarióta sejtek a prokariótákból alakultak ki az evolúció során



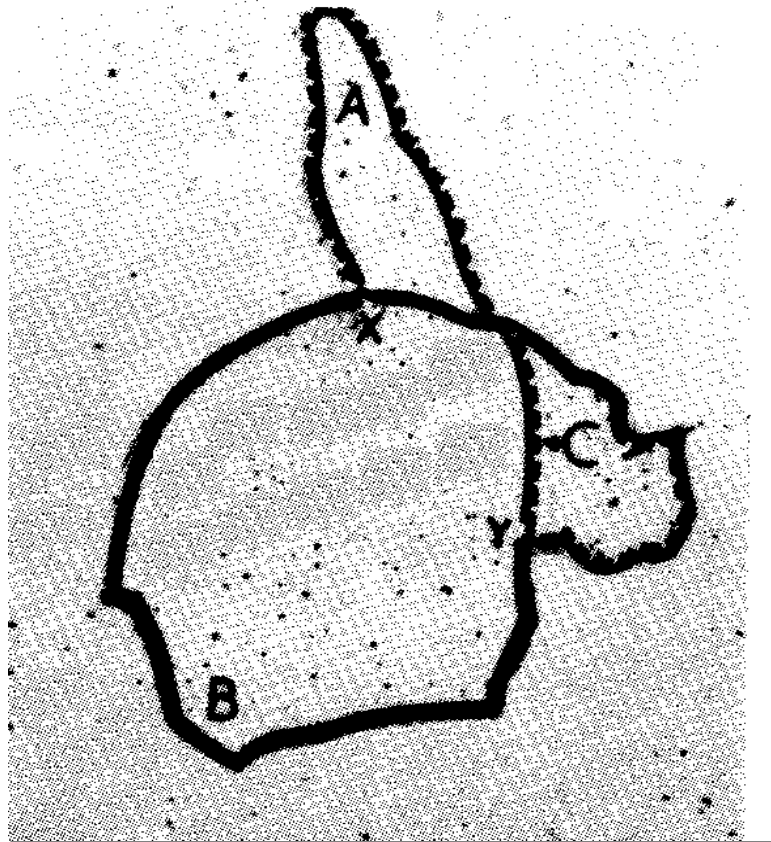
Az ősi eukarióra sejt még nem tartalmazott mitokondriumot és/vagy a növényi sejtekre jellemző színtestet.



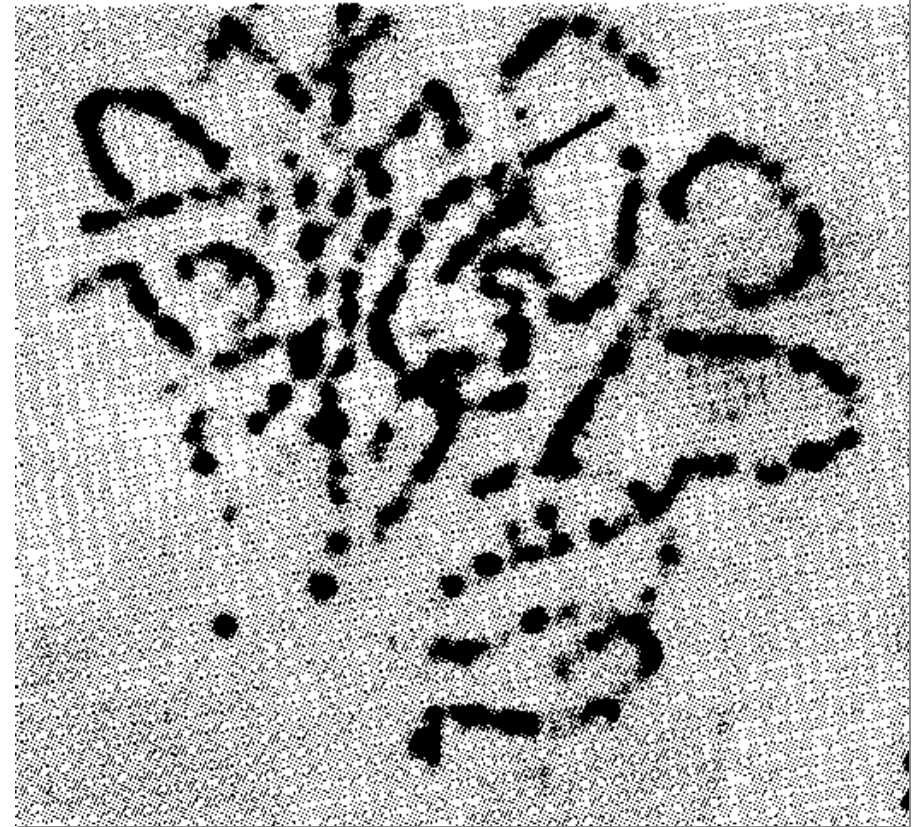
A két sejttípus közötti különbség a DNS méretében is megnyilvánul

És a fehérje átírás módjában is (lásd később)

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



Eukarióta DNS
(kromoszómák)



1. Mire szolgál a DNS és hogyan épül fel a szerkezete

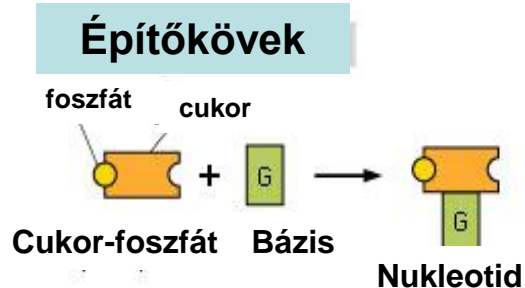
DNS: a fehérjék felépítését kódoló „könyvtár”.

4-féle bázis (G, C, A, T) kódolja a tényleges információt, de a bázisokon kívül még van két fő alapegység.

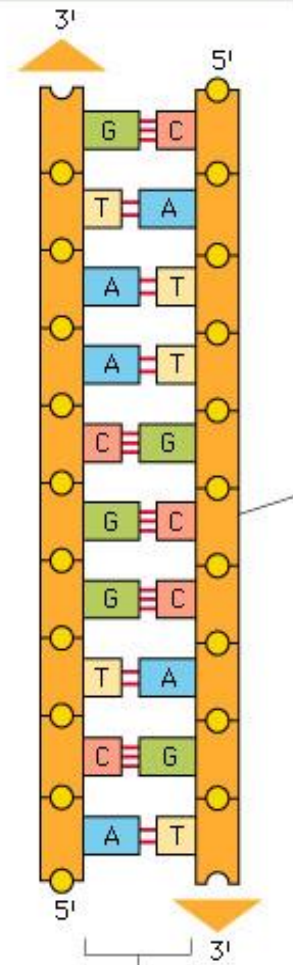
Alapegységek: három molekulából tevődnek össze: cukor, foszfát, bázis. A négyféle bázis miatt négyféle egység: A, C, G, T.

Nukleotid = Cukor+Foszfát+[A,G,C,T]

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



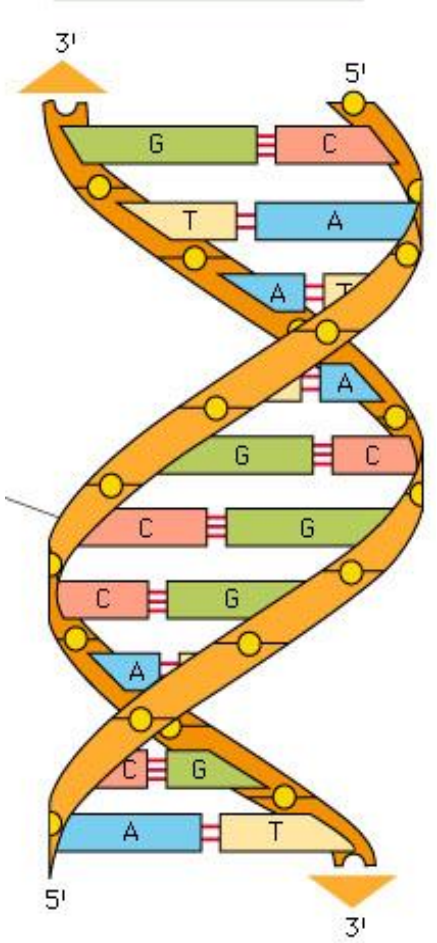
Dupla DNS szál



Hidrogén kötéssel összetartott bázis párok

DNS szál

DNS kettős hélix

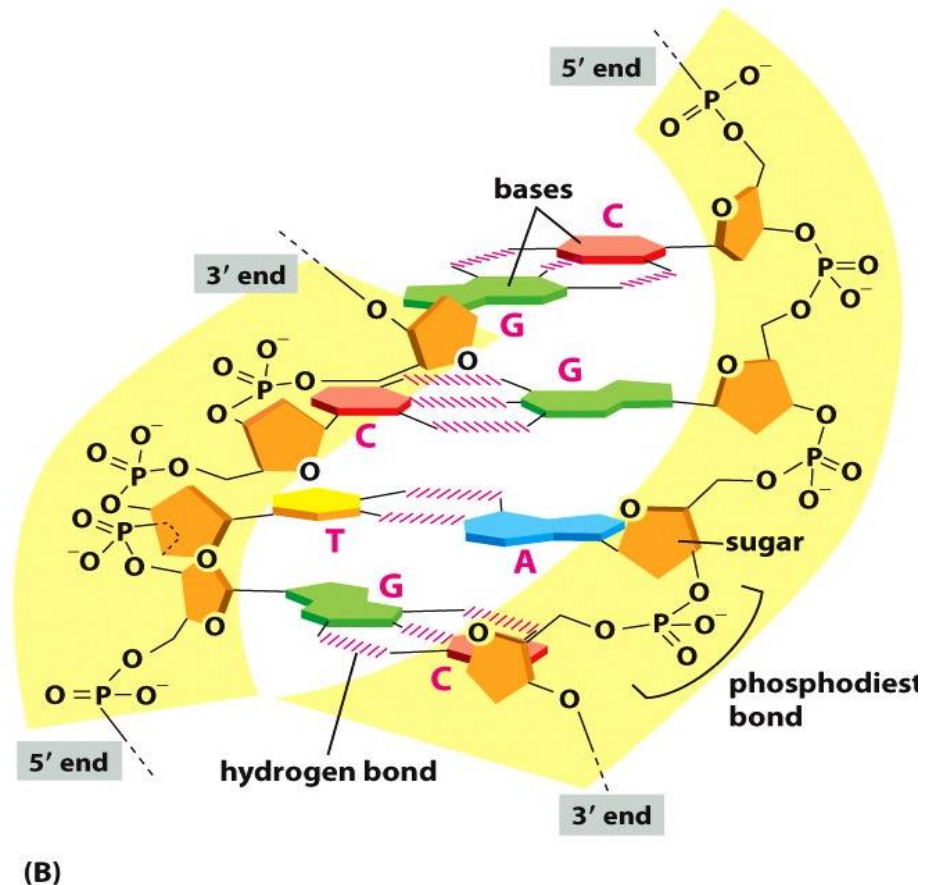
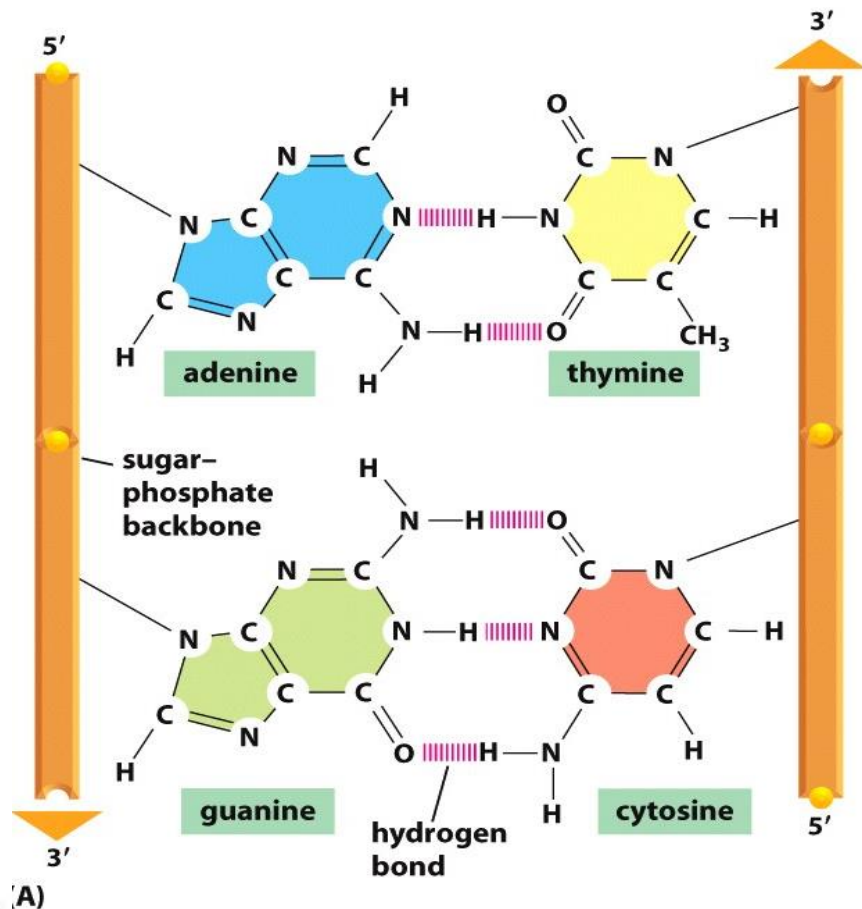


1. Mire szolgál a DNS és hogy épül fel a szerkezete

DNS: a fehérjék felépítését kódoló „könyvtár”. Az információt **4 bázis** sorrendje kódolja. 4 “betűből” formál **3 betűs kódokat** (kodonokat), amik a fehérjék (és RNS-ek) felépítésére vonatkoznak. Nem kölcsönöz, csak helyben olvasást biztosít.

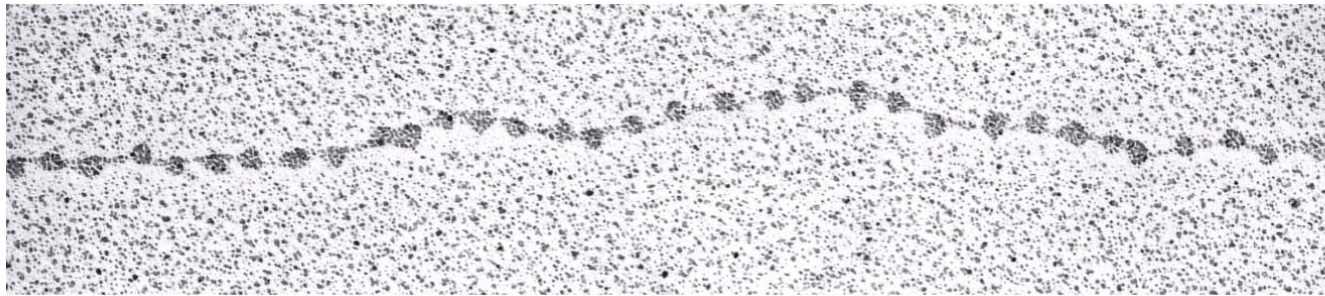
A könyvek be vannak csukva → kettős szál hidrogén – kötésekkel összetartva.

Lemásolásához vagy leolvasásához a könyvet „ki kell nyitni”. → a két szálát szét kell választani.

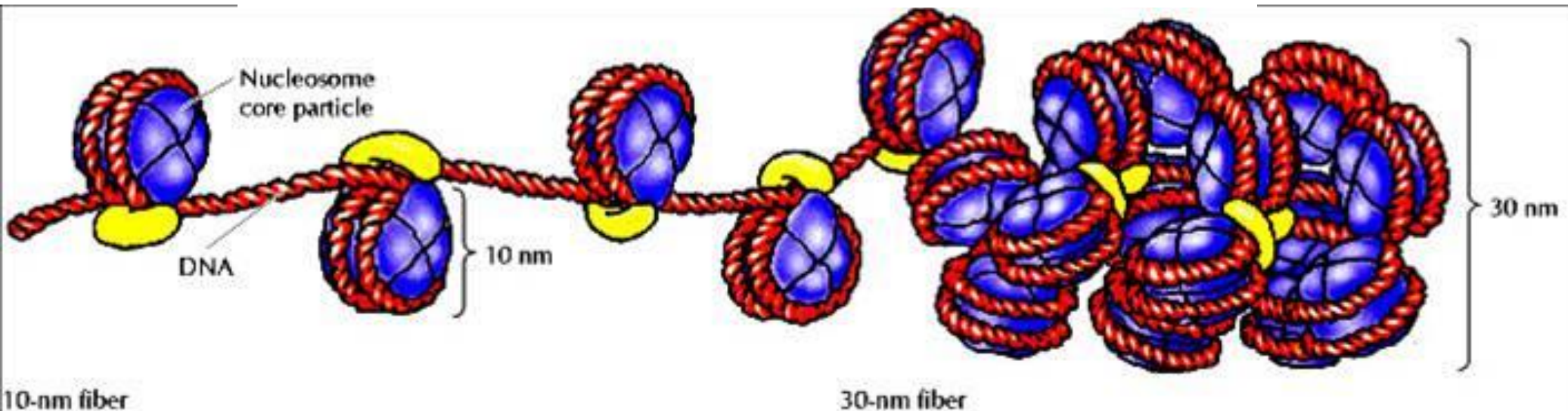


A kromoszómák finomszerkezete

A DNS gömb vagy korong alakú hisztonokra (bázikus fehérjékre) tekeredik fel



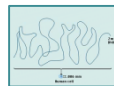
50 nm



A DNS tömörítése

A DNS feltekert és többszörösen összehajtogatott formában tárolódik a kromoszómákban.

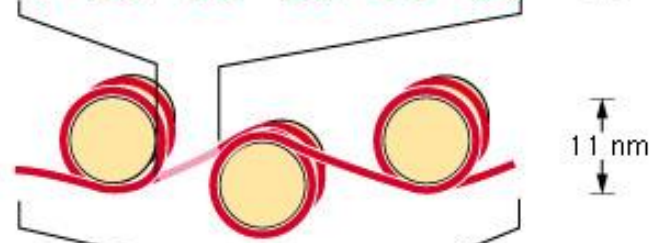
A DNS szál kb. 50.000-szer hosszabb, mint a kromoszóma



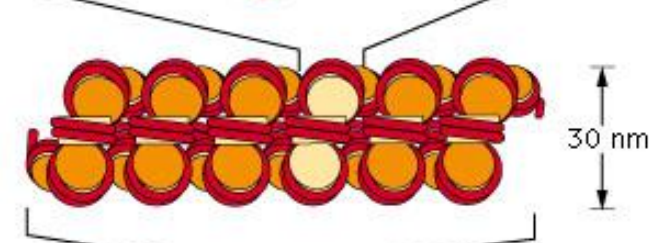
A DNS kettős spirálja



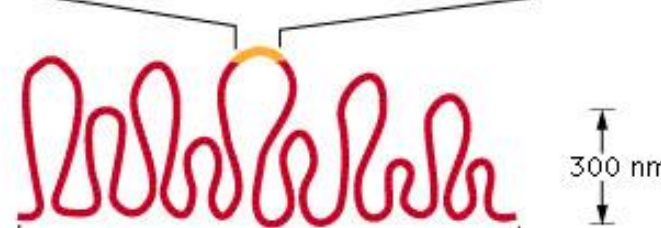
"Gyöngysor" kromatin



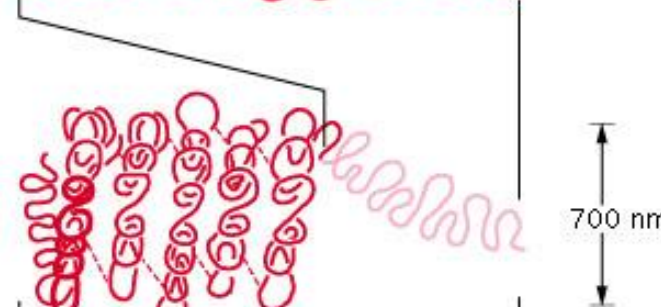
Párhuzamos nukleosóma láncok



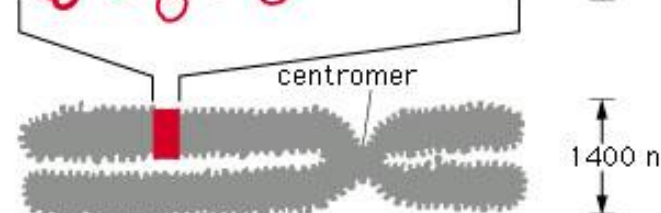
"Kigombolyított" kromoszóma részlet



Tömör szerkezetű kromoszóma részlete



Teljes diploid kromoszóma



2. A DNS funkciói, működése

Mit lehet csinálni a DNS-sel?

1. **Megőrizni = időről időre lemásolni (replikáció)**

2a. **Felhasználni = a DNS-ről RNS átírásán (transzkripción) keresztül fehérjéket előállítani (transzláció).**

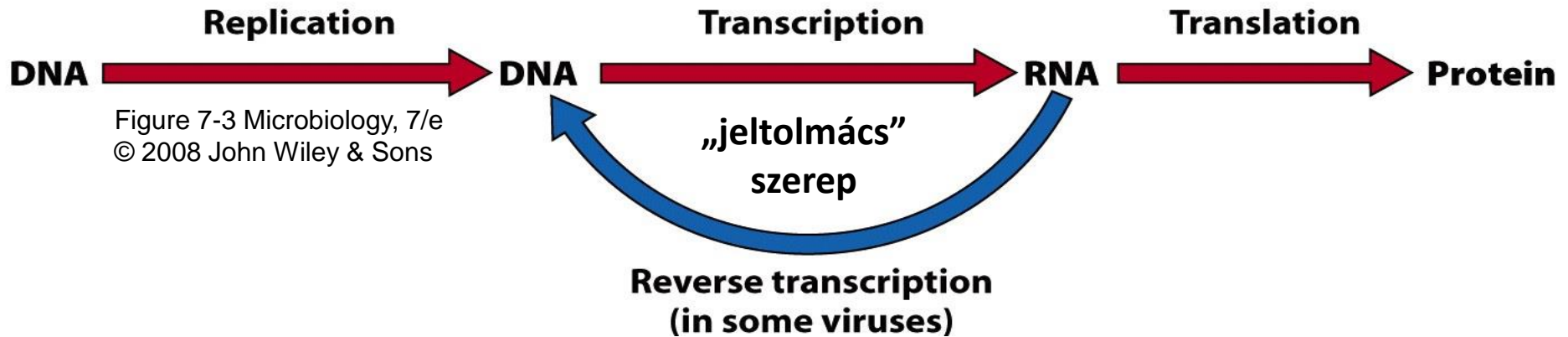
2b. **Felhasználni = a DNS-ről tRNS-t és rRNS-t átírni (ez is transzkripció), amelyek a fehérjék előállításában segítenek.**

Transzkripció: RNS átirat készítése a DNS-ről.

A DNS-ben kódolt információ kiolvasása fehérje előállítás (fehérje szintézis) céljából.



A DNS lemásolása (replikáció) és átírása (transzkripció)



A fehérjék előállítása két lépésben történik:

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

Az mRNsek közvetítő molekulák a DNS leolvasás és a fehérje felépítés között.

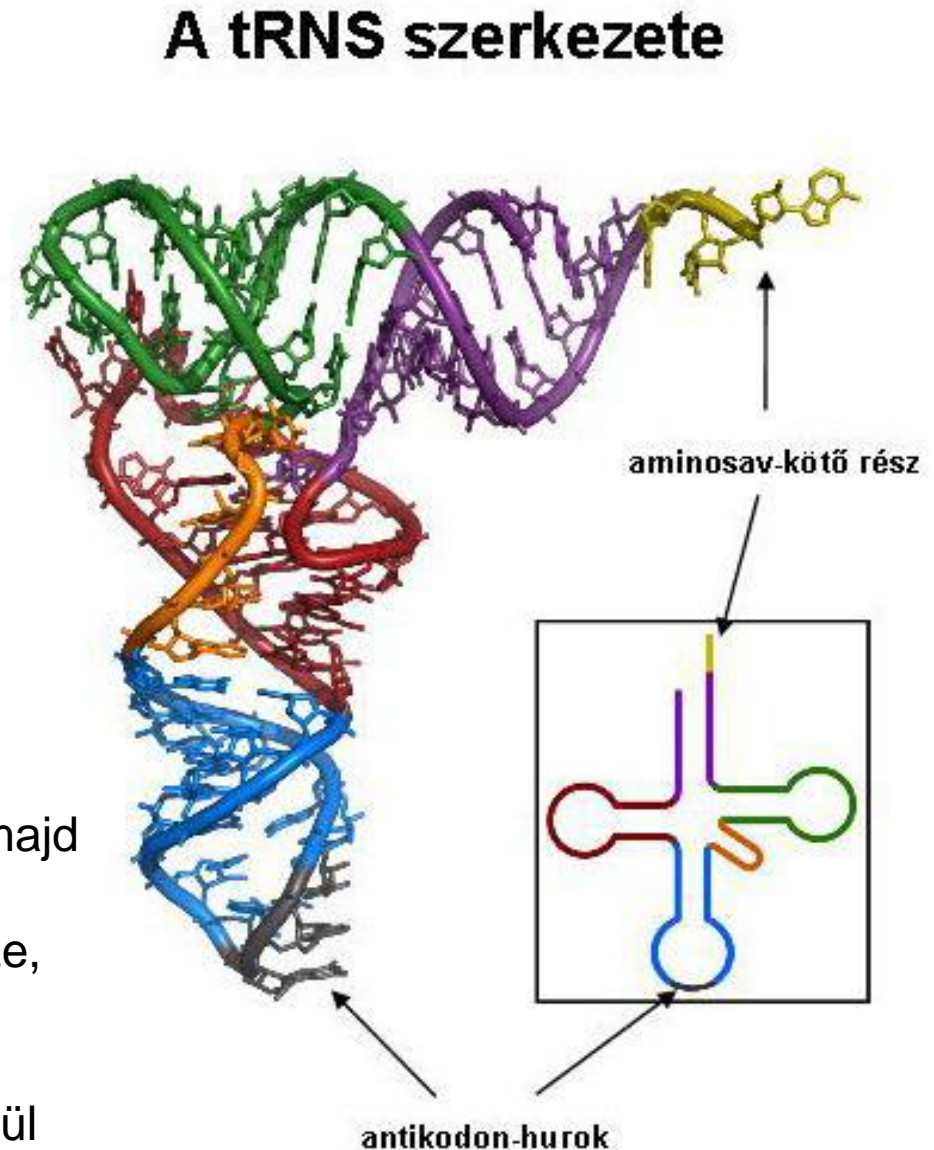
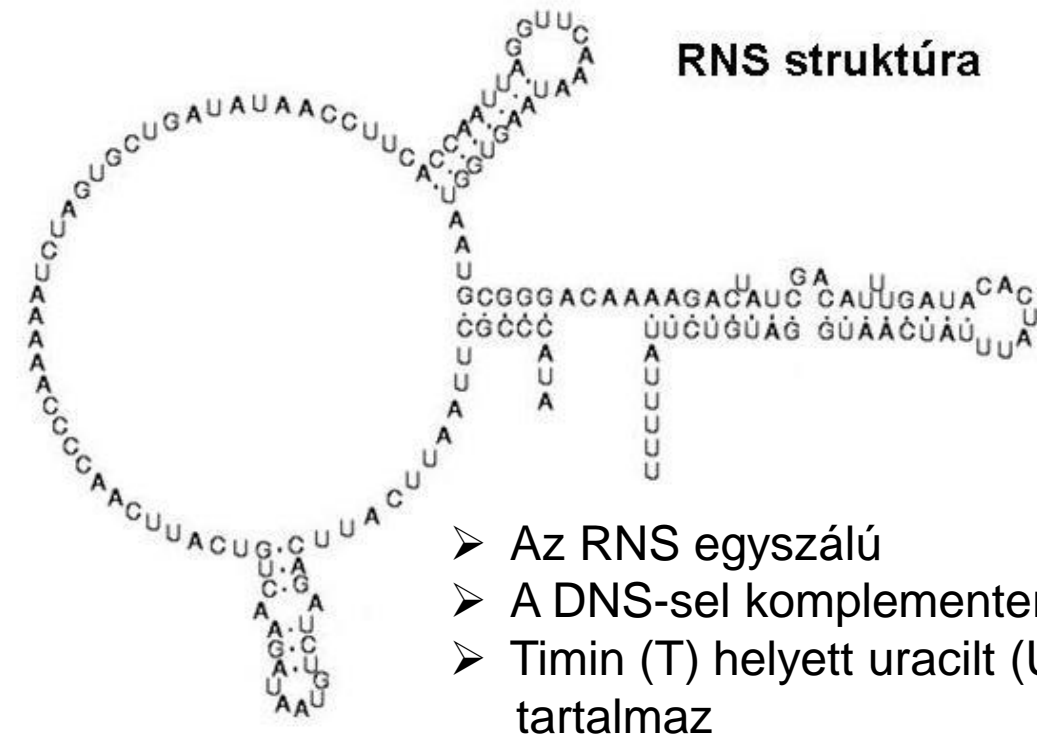
A genetika centrális dogmája (az ábrán piros nyilakkal jelezve):

Az információ mindig csak egy irányban, a DNS-ről kerül továbbításra az RNS-re, és az RNS-ek közvetítésével valósul meg a fehérjék szintézise.

A retrovírusok (pl. HIV) rácsáfoltak a centrális dogmára: RNS található bennük, ez hordozza a genetikai információjukat. Az RNS-en egy reverz transzkriptáz nevű enzim fehérjét is kódolnak, ez képes a gazdasejtben kifejeződni és a vírus RNS-t DNS-sé átírni.

A DNS-sé átírt vírus örökítőanyag a gazdasejt saját DNS-ébe be tud épülni, és itt elrejtőzve képes a gazdasejt DNS-ével együtt minden egyes sejtosztódáskor lemásolódni.
A fenti ábrán a kék nyíl jelöli az RNS → DNS irányú információ áramlást.

Az RNS-ek típusai és felépítése



- Három alaptípus: mRNS, tRNS, rRNS
- m: messenger, t: transfer, r: riboszomális (lásd majd részletesebben a jövő heti órán).
- Mindháromnak a fehérjék *szintéziséhez* van köze,
- de más-más a feladatuk.
- **FONTOS:** a DNS a fehérjék felépítéséhez szükséges információt kódolja ugyan, de közvetlenül a DNS szájról nem tud átíródni semmilyen fehérre sem.
- A fehérje átírás 2 lépésben, az RNS-ek közvetítésével történik (köv. órán részletesen).

Hogyan kódolják a 3 bázisból álló DNS egységek (kodonok) a fehérjét

Ez itt egy kodon szótár.

A 3 betűs kódok (kodonok) egy-egy fehérje építőegységnek, más néven aminosavnak felelnek meg.

Az aminosavak a fehérjék építőkövei.

20 féle fehérjeépítő aminosav létezik.

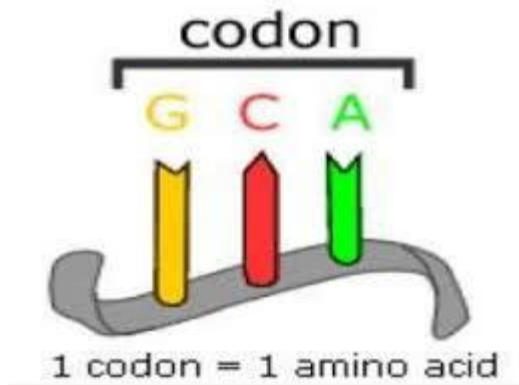
De $4 \cdot 4 \cdot 4 = 64$ lehetséges kodon rakható ki a DNS-t felépítő 4 bázisból.

Így egy aminosavat több kodon is kódolhat (vö. burgonya = krumpli 😊)

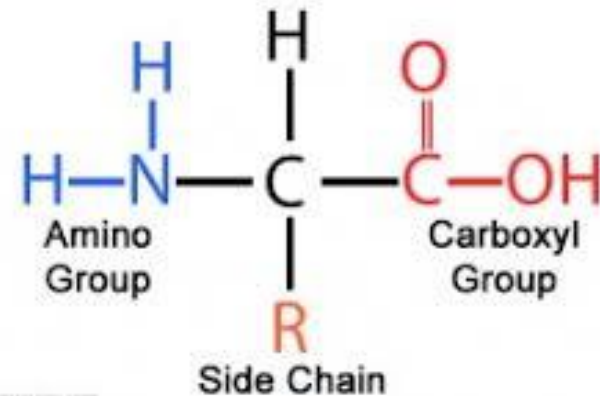
A nyelvet felépítő szavak is tekinthetők kodonnak = kódnak. Tárgyakat, személyeket, jelenségeket, elvont fogalmat kódolnak.

		SECOND BASE										
		U	C	A	G							
U	UUU	UCU } UCC } UCA } UCG }	Tyr	UGU } UGC } UGA Stop UGG Trp	Cys	U C A G						
	UUC						Ser	Tyr	Cys			
	UUA									Leu	Stop	Stop
	UUG											
C	CUU	CCU } CCC } CCA } CCG }	CAU } CAC } CAA } CAG }	CGU } CGC } CGA } CGG }	Arg	U C A G						
	CUC						Leu	His	Arg			
	CUA									Pro	Gln	
	CUG											Gln
A	AUU	ACU } ACC } ACA } ACG }	AAU } AAC } AAA } AAG }	AGU } AGC } AGA } AGG }	Ser	U C A G						
	AUC						Ile	Asn	Ser			
	AUA									Thr	Arg	
	AUG Met or Start											Lys
G	GUU	GCU } GCC } GCA } GCG }	GAU } GAC } GAA } GAG }	GGU } GGC } GGA } GGG }	Gly	U C A G						
	GUC						Val	Asp	Gly			
	GUA									Ala	Glu	
	GUG											Glu

A fehérjék általános felépítése



Amino Acid Structure



A DNS a fehérjék

(és RNS-ek) felépítését kódolja.

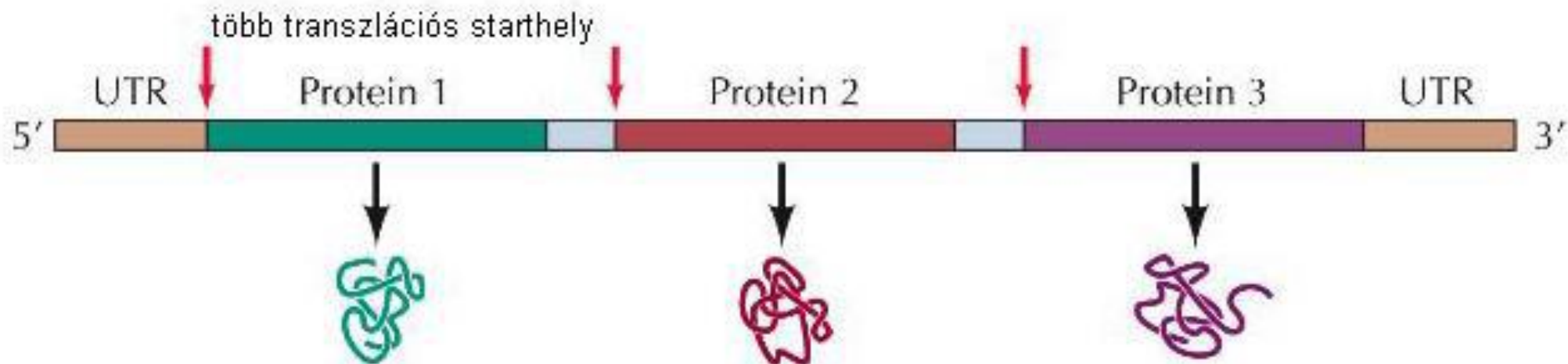
3 bázis = a kód alapegysége (kodon)

1 kodon ~ egy aminosav

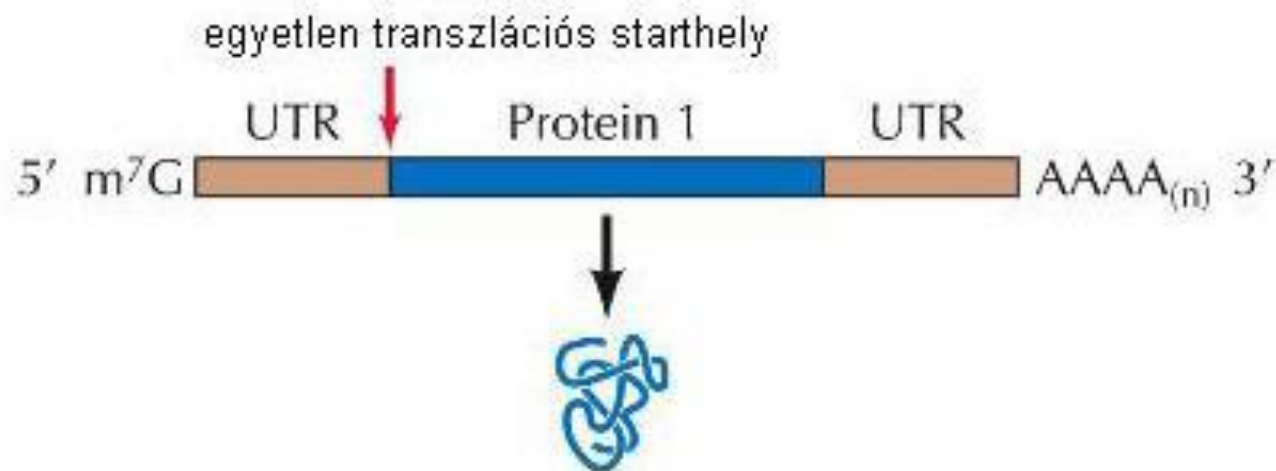
- 20-féle “alfa” aminosav alkotja őket
- Ezek általános felépítése megegyezik, de az oldalláncuk különböző.
- A DNS három betűs kodonjai egy-egy aminosavnak felelnek meg.
- Kivéve a STOP kodont.
- Egy aminosavat több kodon is kódolhat.
- Emiatt a fehérje szerkezetének ismeretében a DNS bázissorrendje nem fejthető vissza egyértelműen.
- Egy adott DNS bázissorrendről viszont egyértelműen kiderül, hogy milyen fehérjét kódol.



Prokariota mRNS szerkezete

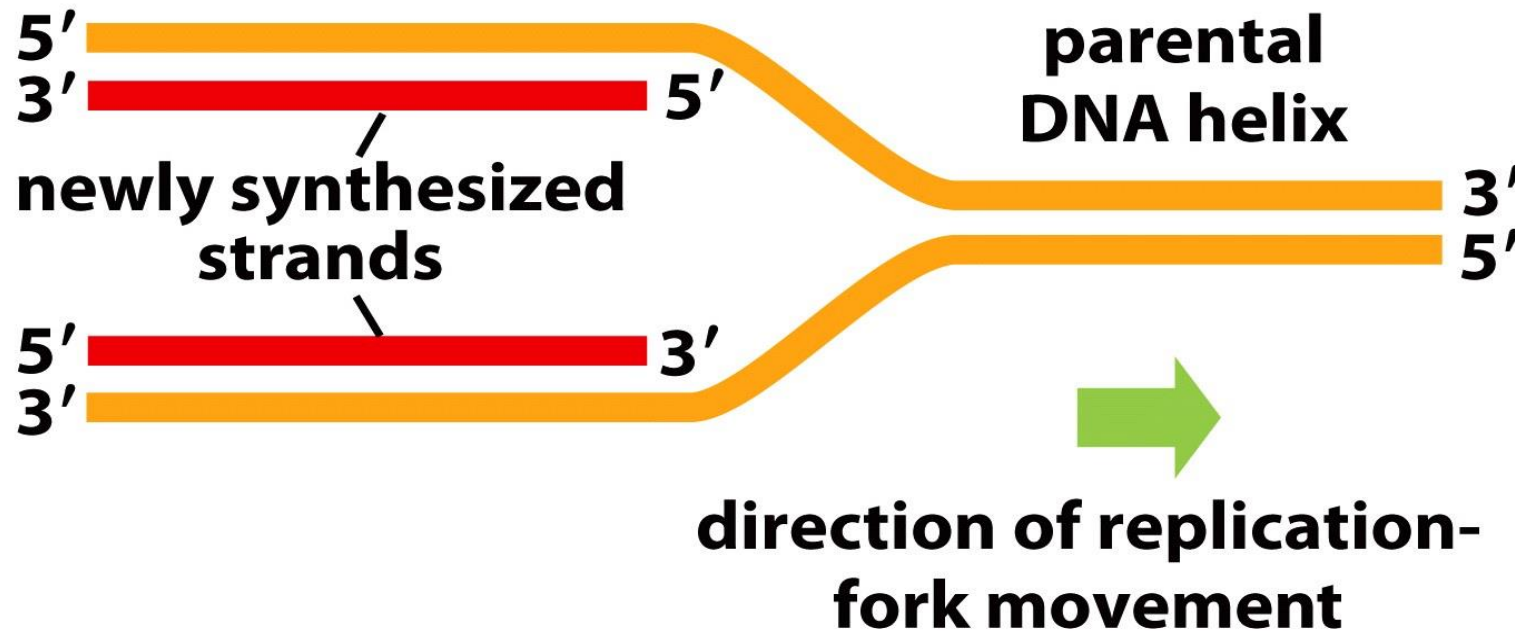


Eukariota mRNS szerkezete

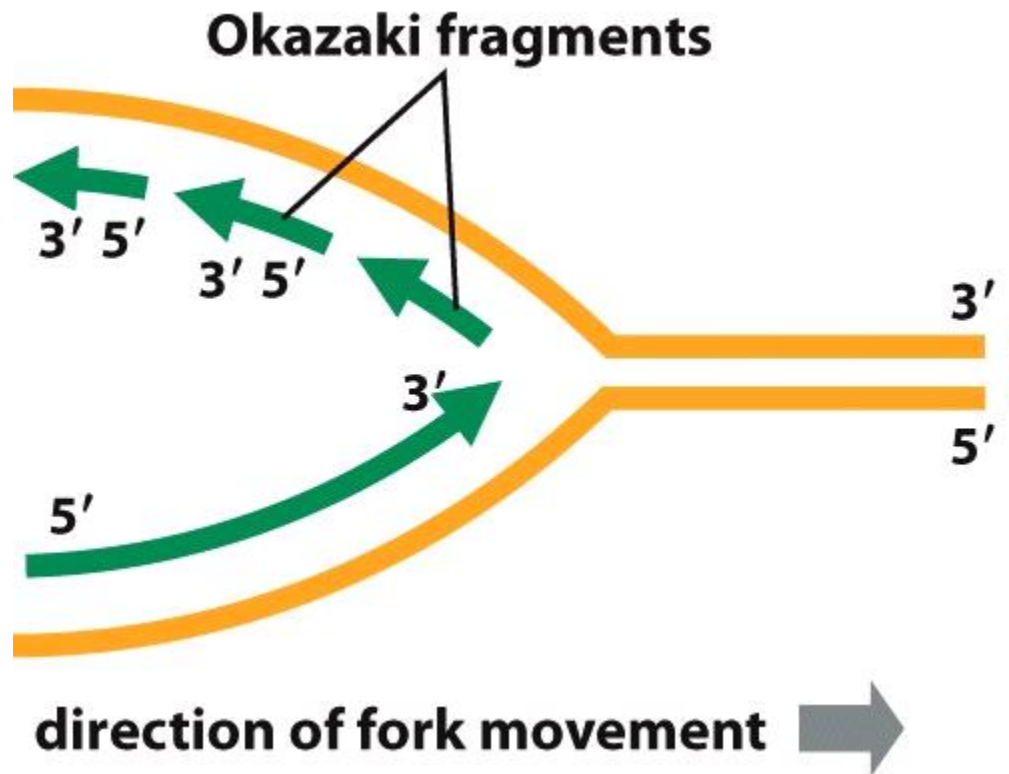


A DNS lemásolása (replikációja)

- Ehhez a DNS két szálát szét kell nyitni
- A két szál szétválasztását és az új szálak szintézisét egy enzimfehérje rendszer végzi a sejtben
- A másolás egyirányú
- A folyamat során “replikációs villa” keletkezik.



A DNS lemásolása (replikációja)



A DNS másolása (DNS replikáció) a sejtben

A sejt szaporodásához van rá szükség. A DNS lemásolását a sejt osztódása követi. A sejtben ezt a folyamatot (szálak szétválsztása és másolás) **enzimek** végzik. Enzim: **fehérje, katalizátor**, a sejtben zajló biokémiai folyamatok kivitelezője.

Fehérje: α -aminosavakból álló óriásmolekula.
Katalizátor: „ a reakciósebességet gyorsító” molekula.

