

A BIOTECHNOLÓGIA TERMÉSZETTUDOMÁNYI ALAPJAI

M szaki 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/mezgaz/BiotechManager
címen



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

A tananyag felépítése:

Genetikai alapok:

a DNS replikációja
mutációk, repair
operon szabályozás

Mikrobiológiai alapok:

tulajdonságok, felosztás
szaporodás,
a mikrobák és környezetük

Génmanipulációs módszerek

Indukált mutáció + szelekció
anyagcsere mérnökség

Protoplaszt fúzió

Célzott génbevétel plazmidok-
kal

Génbevétel Agrobacteriumok-
kal

Génmanipulált mikroorga- nizmusok

Bi termékek gyártása

Els dleges és másodlagos
anyagcsere termékek

Génmanipulált növények



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

I. Prokarióták és eukarióták

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

Alapvető különbség: nincs/van valódi, körülhatárolt sejtmagjuk

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)

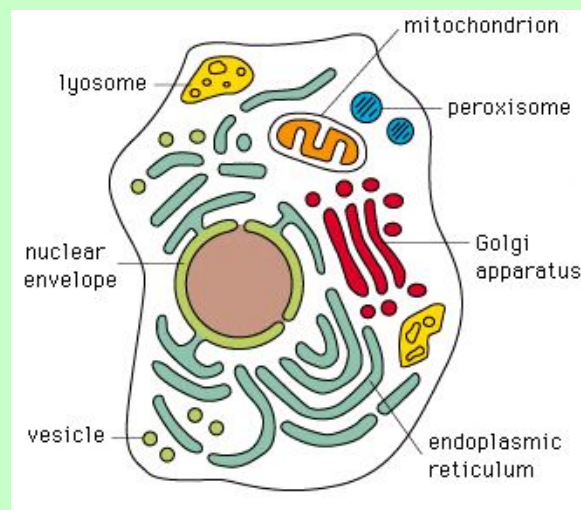
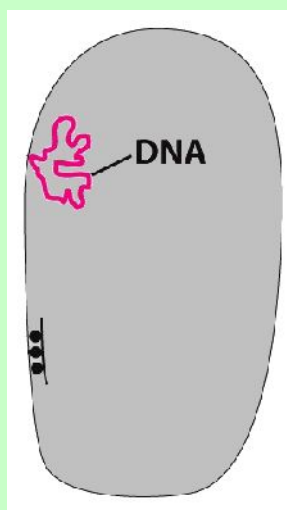
Eukarióták: élesztők, fonalas gombák, protozoák, zöldmoszatok, és az összes többsejtű élőlény



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

3

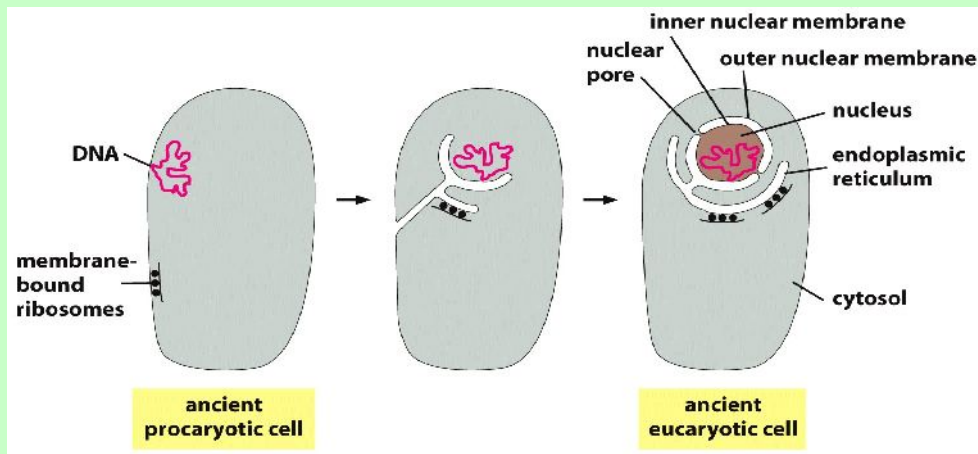
Prokarióta és eukarióta sejt



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

4

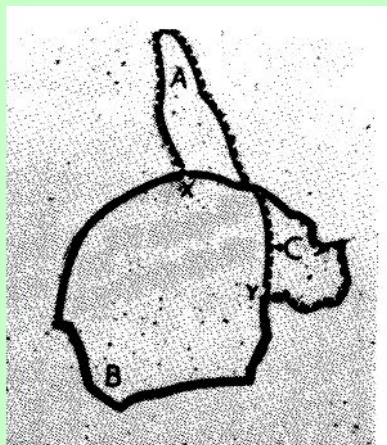
Prokarióta sejtek evolúciója eukariótává



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

5

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



Eukarióta DNS
(kromoszómák)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

6

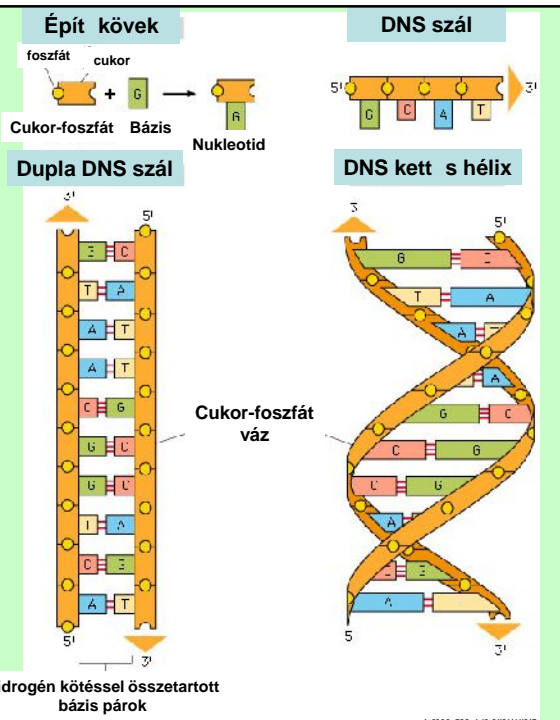
1. A DNS molekula szerkezete

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 polimert képez.

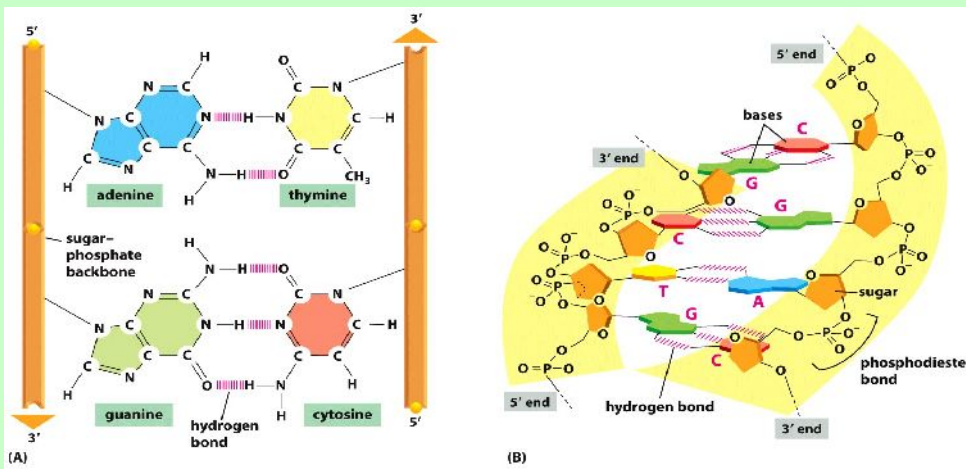


BME Alkalmaz



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

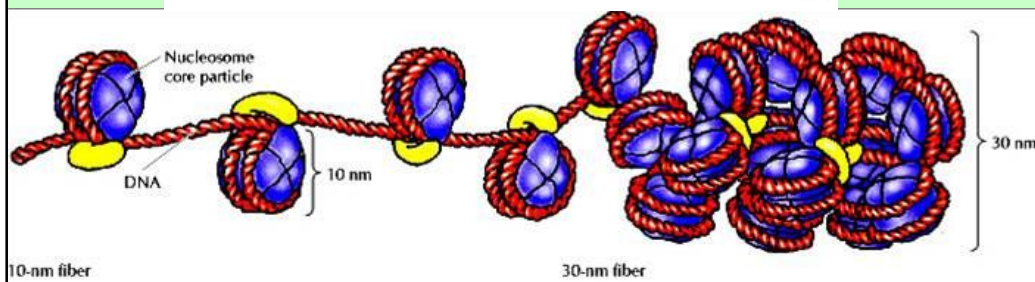
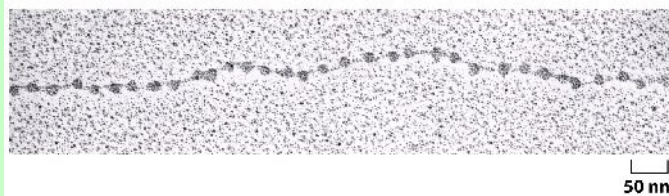
A DNS szerkezete



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

A kromoszómák finomszerkezete

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



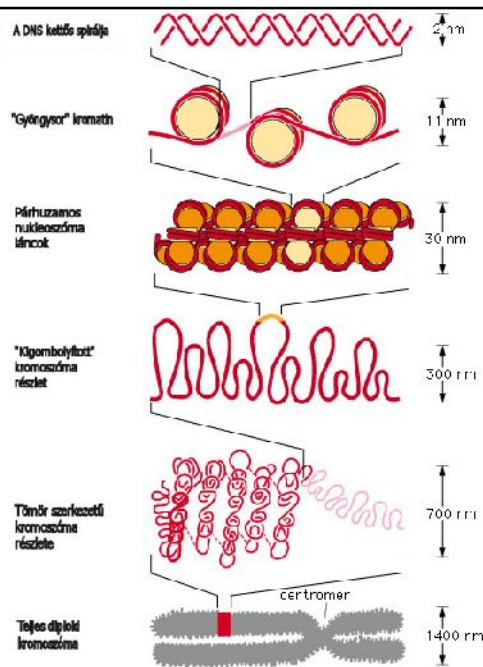
A DNS tömörítése

A DNS feltekert és többszörösen összehajtogatott formában tárolódik a kromoszómákban.

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



BME Alkalmazott Biotechn



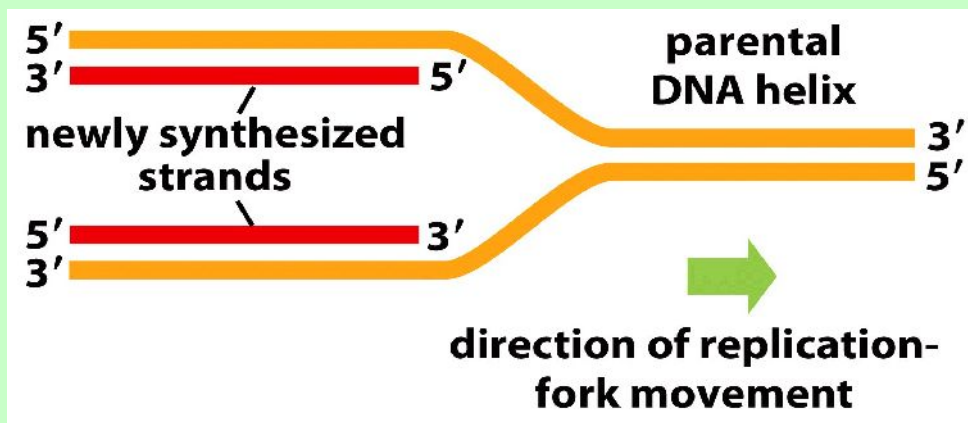
A kromoszómában a DNS 30.000-szer rövidebb, mint teljesen meggyújtva

2. A DNS funkciói, m kódése

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




A DNS replikációja



A DNS replikációja

Okazaki fragments


direction of fork movement →



BME, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

13

A DNS replikációs gépezet



BME, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

©1998 GARLAND PUBLISHING

14

A DNS replikációja

The diagram illustrates the process of DNA replication. A parent DNA double helix is shown with two strands: one oriented 5' to 3' from left to right, and the other 3' to 5' from left to right. As the helix unwinds, new strands are synthesized. The continuous strand is synthesized in the 5' to 3' direction. The discontinuous strand is synthesized in the 3' to 5' direction, forming Okazaki fragments. The fragments are later joined together.

15

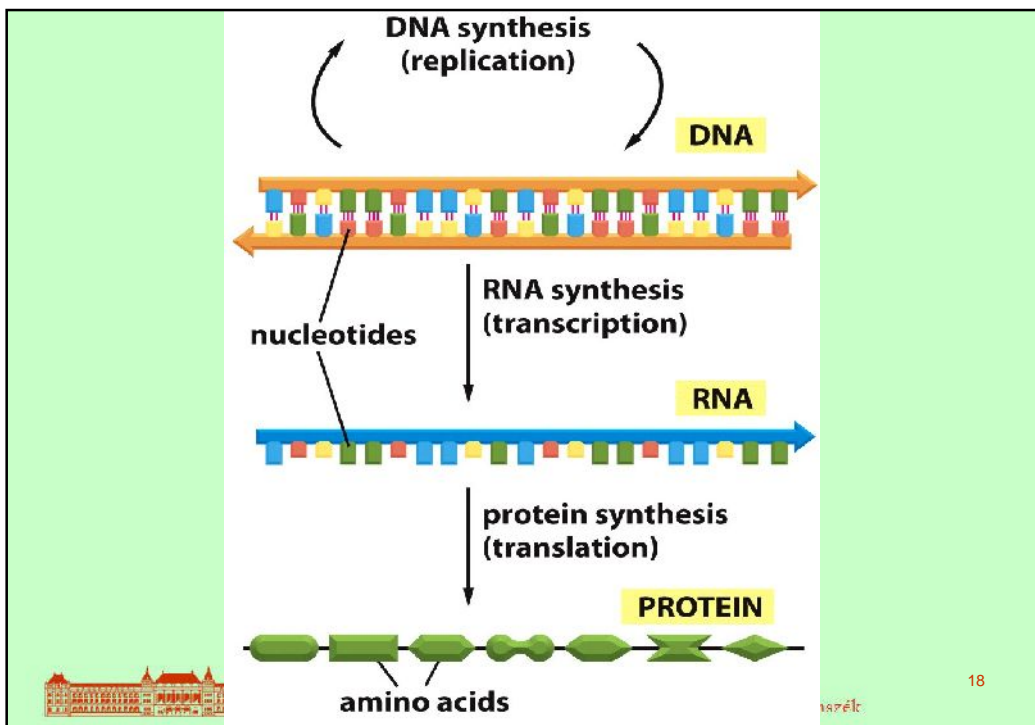
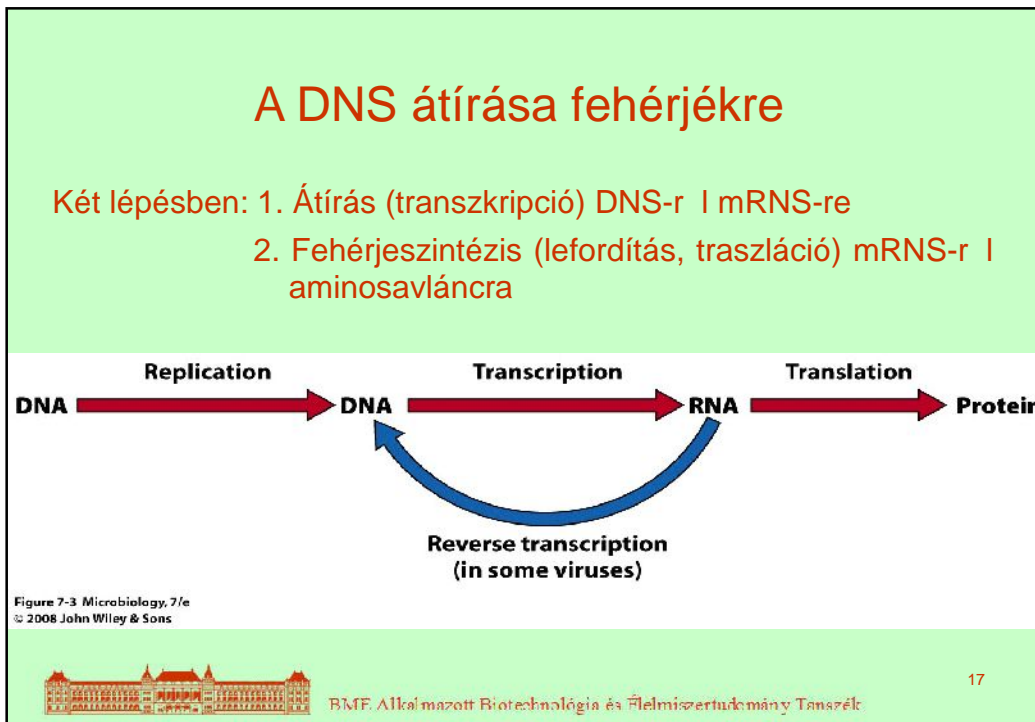
Figure 6-2 Essential Cell Biology © Garland Science 2010) BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

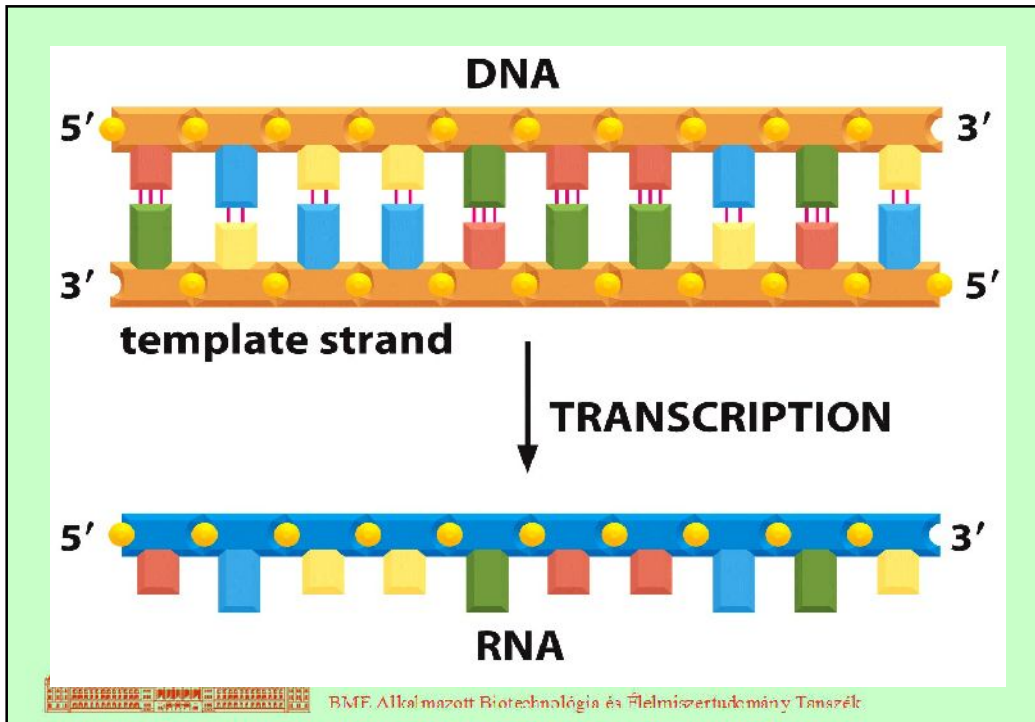
A DNS replikációja

The diagram shows the separation of a parent DNA double helix into two daughter molecules. The parent DNA double helix is shown with two strands: one oriented 5' to 3' from left to right, and the other 3' to 5' from left to right. As the helix unwinds, new strands are synthesized. The continuous strand is synthesized in the 5' to 3' direction. The discontinuous strand is synthesized in the 3' to 5' direction, forming Okazaki fragments. The fragments are later joined together.

16

BME 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 (triplettek) kódolják (64 féle)

Redundáns (ismétl d) kód.

Csak az egyik DNS szál hordozza az információt, csak ez íródik át mRNS-re

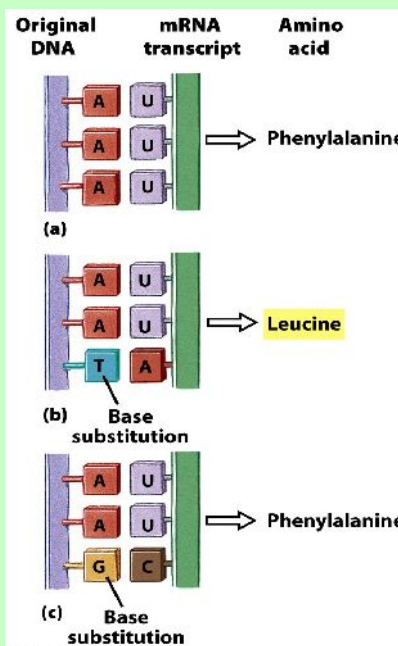


Figure 7-16 Microbiology, 7/e
© 2008 John Wiley & Sons

20

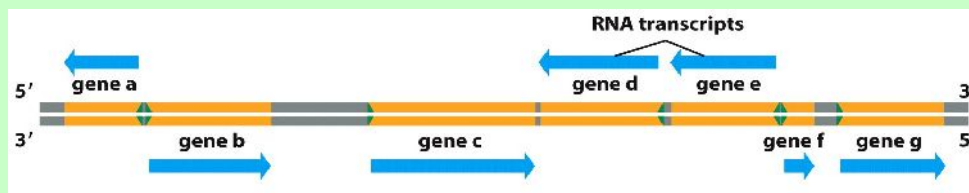


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

Az értelmes DNS szál elhelyezkedése

Csak az egyik DNS szál hordozza az információt, csak ez íródik át mRNS-re.

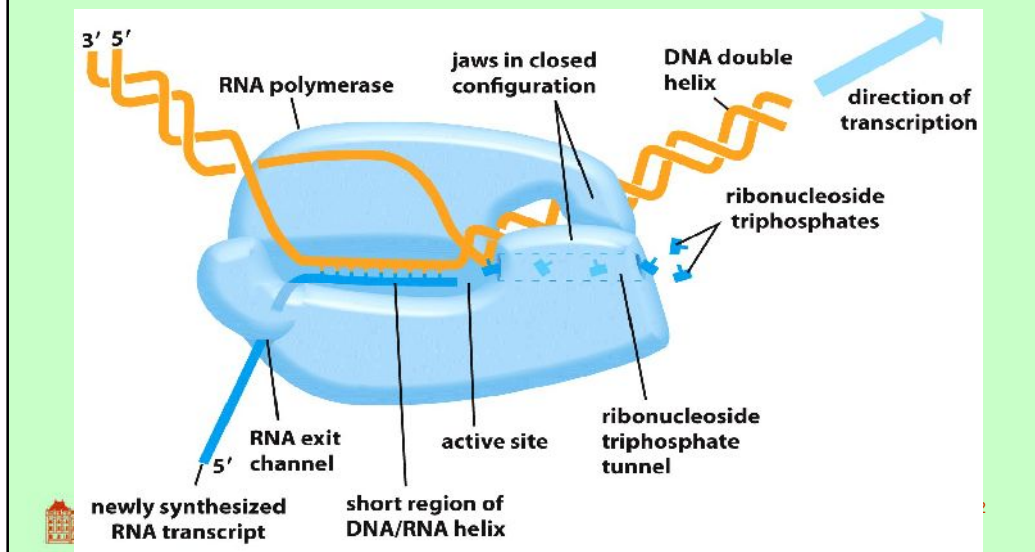
Ez viszont változik, hol az egyik, hol a másik szál értelmes, ennek megfelelő en a kiírás iránya is változik.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

21

A kiíró enzim m kódése vázlatosan



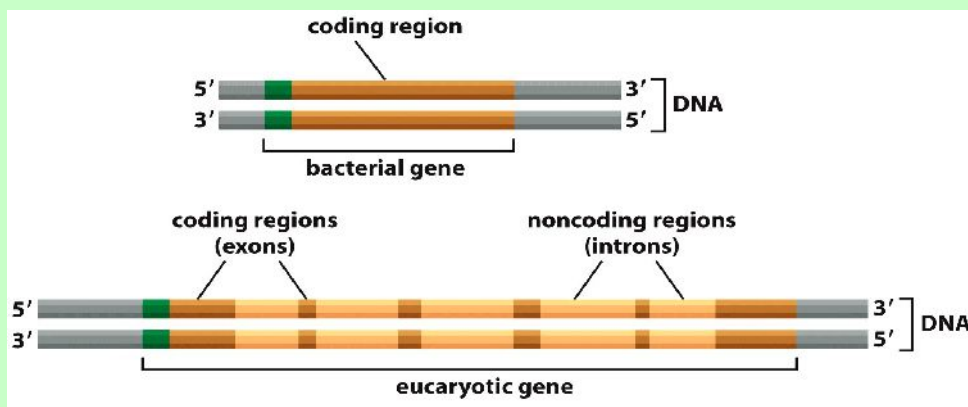
A kiíró enzim m kódése vázlatosan



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

Kódolás prokarióta és eukarióta sejtekben

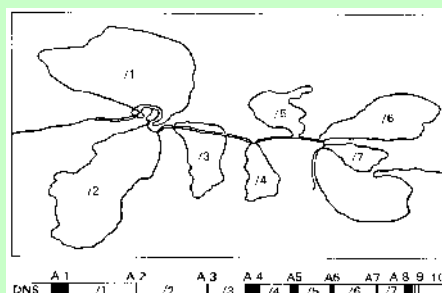
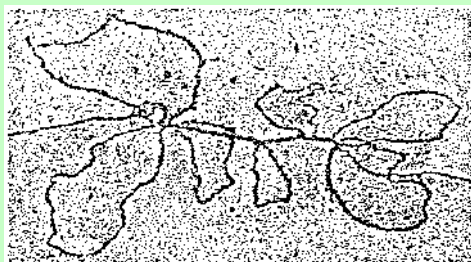


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

24

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.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

Mutáció

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

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

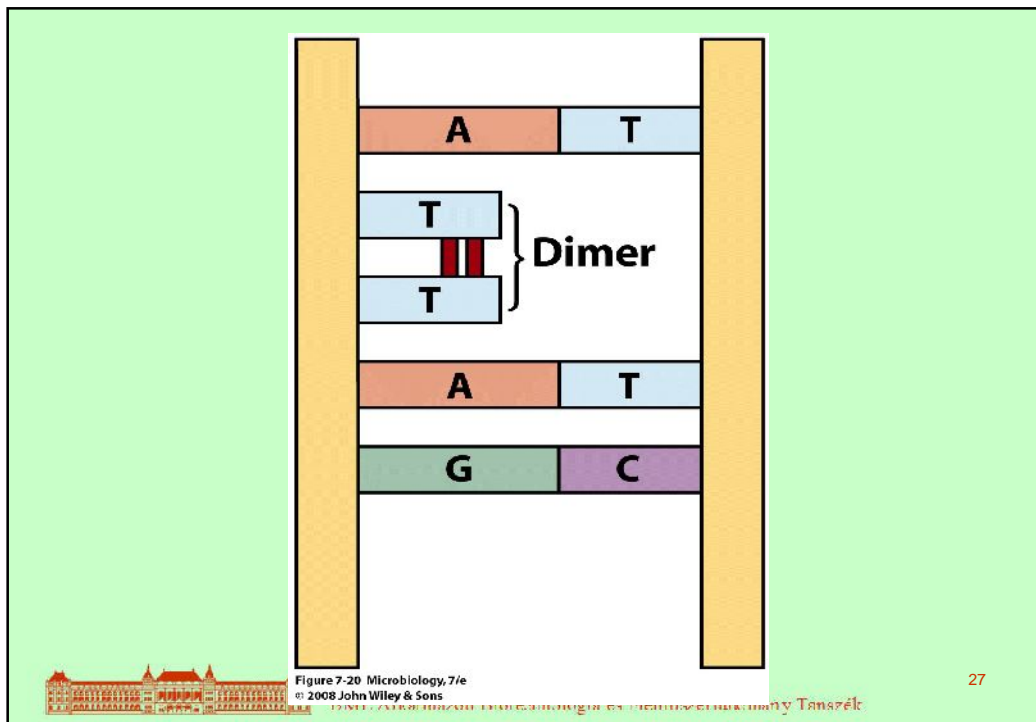
Külső okok: a környezet mutagén hatásai:

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



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26



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 (deléción), áthelyezés (transzpozíció), megfordulás (inverzió)

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

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



Mutációs ráta

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

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

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

Magasabb h mérsékleten a mutáció gyakoribb, de ott hatékonyabban m kódnek a repair mechanizmusok

→ az ered mutációs ráta azonos mindkét helyen.



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 kijavítani.

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 – h mérséklet)

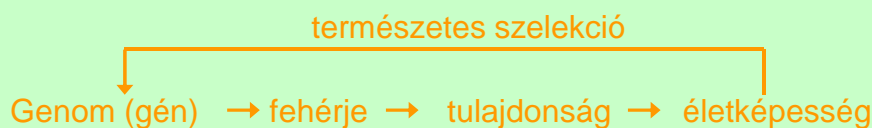


Genetikai szabályozás

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 génállománynak, akkor változzon meg!

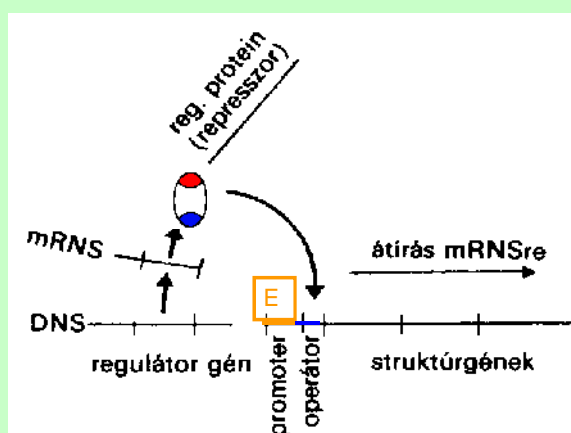


Operon szabályozás

Operon: közösen szabályozott gének csoportja.

Általában egy anyagcsereúthoz tartozó enzimeket kódol (struktúrgének). Kíírásuk egy mRNS-re történik.

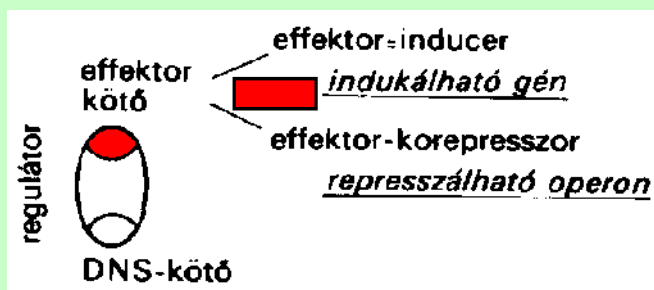
A kíró enzim a promóter szakaszhoz köti dik, onnan indul. Ha represszor köti dik az operátor szakaszhoz, a kírás nem indul el.



Operon szabályozás 2.

A represszor fehérjének két köt helye van:

- DNS köt
- effektor köt



Effektor molekula: kapcsolódásával átállítja a represszor DNS kapcsolódását:

képes nem képes köt dni



Operon szabályozás 3.

Pozitív és negatív szabályozás lehetséges.

Pozitív (indukció, derepresszió): az effektor hatására a regulátor fehérje elveszti kötését az operátor génhez, és megindul a struktúrgén 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 kötni és ezáltal leállítja a struktúrgén kiírását. Leggyakoribb: végtermék gátlás: ha valamely metabolit elég nagy mennyiségben van jelen, akkor leállítja saját bioszintézisét (túltermelés megakadályozása).

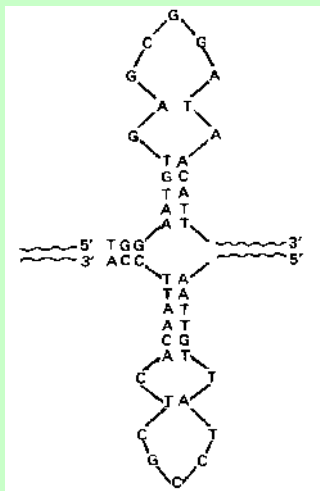


Operátor (gén)szakasz

Hogyan találja meg a regulátor fehérje a megfelelő DNS szakaszt?

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 kitüremkedést könnyen megtalálni.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

35

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

Struktur génen: a szabályozás működik, egy termelt fehérje lesz hibás szerkezet



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

36