

BIOLÓGIA és BIOTECHNOLÓGIA

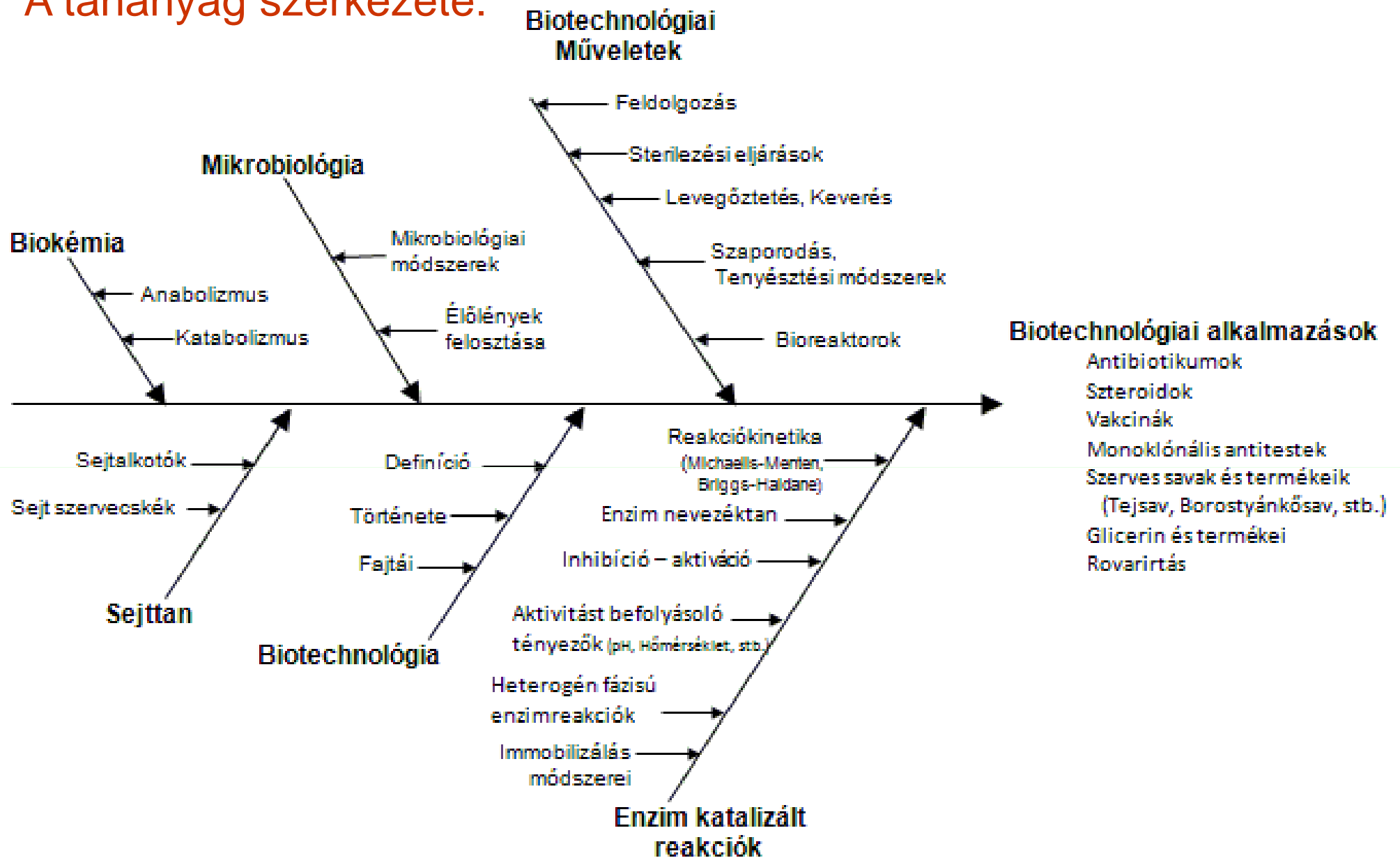
Előadók: Ballagi András, Ipari Professzor
Richter Gedeon NyRt. - BME

Írásos segédanyag található a:

<http://oktatas.ch.bme.hu>
/oktatas /konyvek /mezgaz
/Biol-biotech-vegyszer-MSc címen



A tananyag szerkezete:



Tartalomjegyzék

Bevezetés

1. **Biokémiai reakciók alapjainak felelevenítése**
 - a. **Katabolizmus**
 - b. **Anabolizmus (DNS replikáció, fehérjeszintézis)**
2. **Sejttani alapok**
 - a. **Sejtalkotók (Membránok, Citoplazma, Sejtfal)**
 - b. **Sejt szervecskéik (Sejtmag, ER, Golgi, Mitokondrium)**
3. **Mikrobiológia**
 - a. **Az élőlények felosztása (Prokarióták, Eukarióták)**
 - b. **Mikrobiológiai módszerek (izolálás, mutáció, klónozás)**
4. **Biotechnológia**
 - a. **Definíció**
 - b. **Fajtái**
 - c. **Története**



Tartalomjegyzék

5. Biotechnológiai műveletek

- a. Bioreaktorok
- b. Szaporodás (kinetika, tenyésztési módszerek)
- c. Levegőztetés, keverés
- d. Sterilizáció
- e. Feldolgozás (Sejtfeltárás, Kromatográfia, Membrán műveletek)

6. Enzim reakciók

- a. Reakciókinetika (Michaelis-Menten, Briggs-Haldane)
- b. Enzim nevezéktan
- c. Inhibíció – Aktiváció
- d. Aktivitást befolyásoló tényezők (pH, Hőmérséklet, stb.)
- e. Heterogén fázisú enzim reakciók
- f. Immobilizálás módszerei



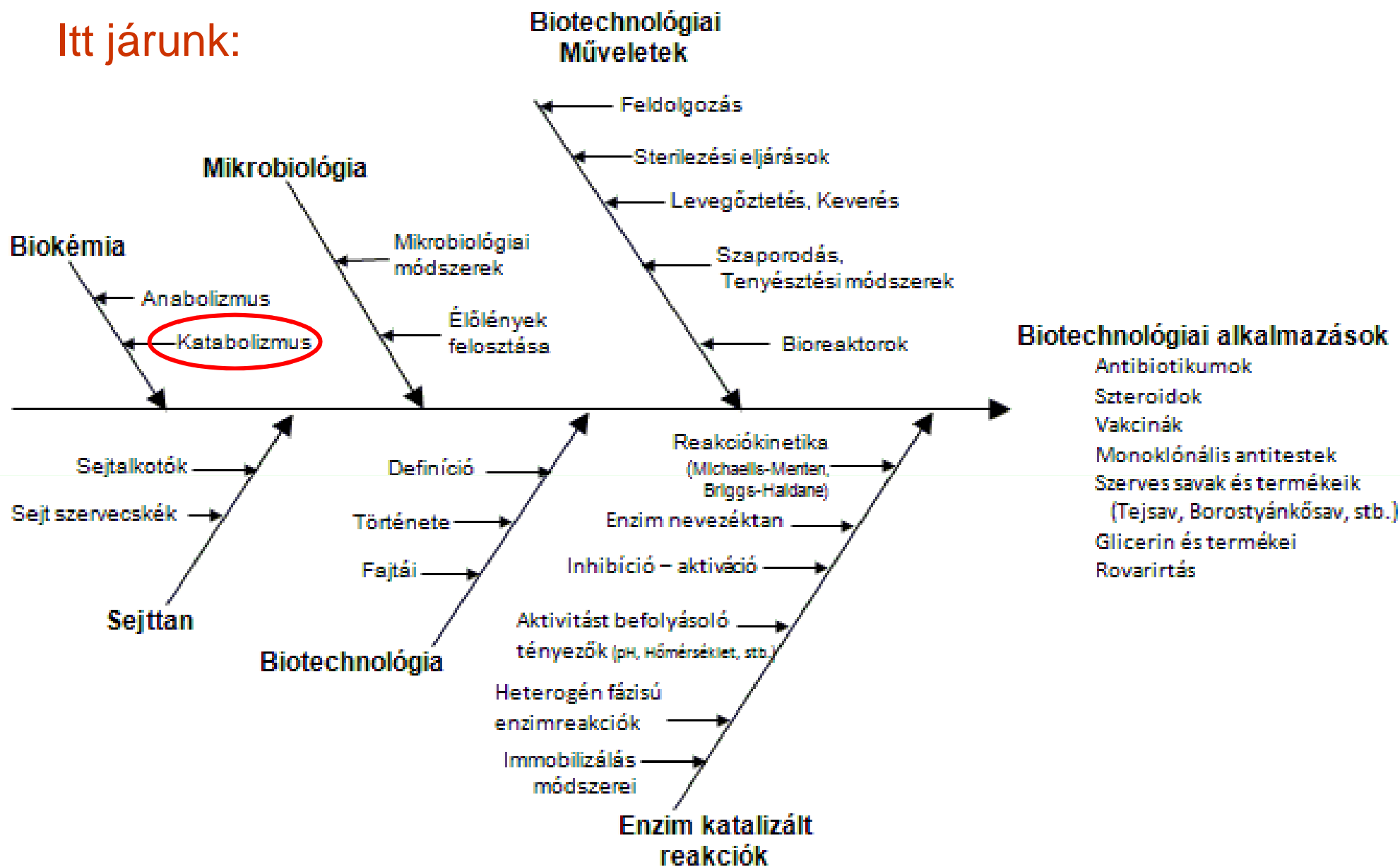
Tartalomjegyzék

7. Biotechnológiai alkalmazások

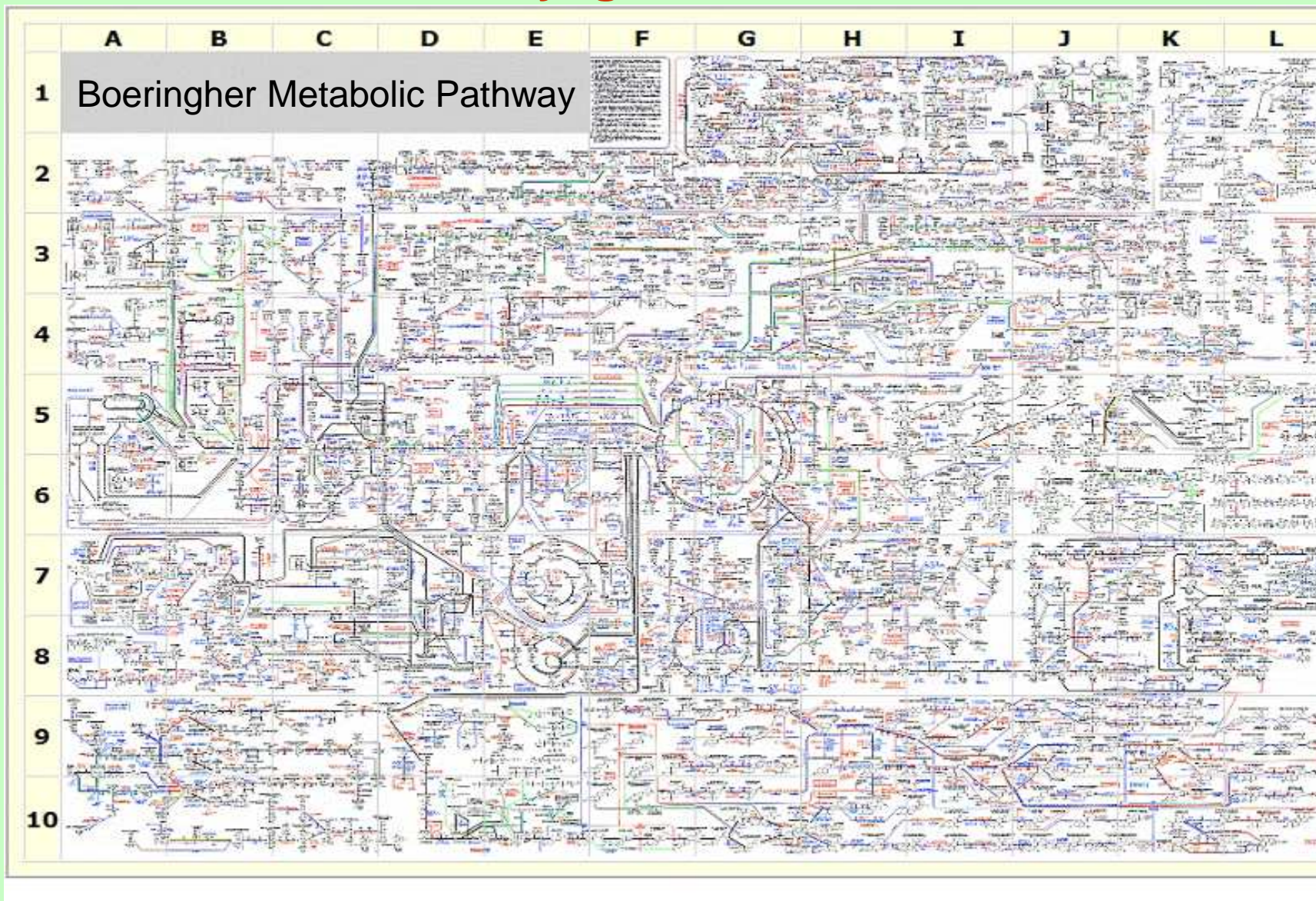
- a. Antibiotikumok
- b. Szteroidok
- c. Vakcinák
- d. Monoklonális antitestek
- e. Szerves savak és termékeik (Tejsav, Borostyánkősav, stb.)
- f. Glicerin és termékei
- g. Rovarirtás



Itt járunk:



Anyagcsere utak



Anabolizmus , katabolizmus, redukáló képesség és energia (ATP) termelés

- **Az élő szervezetekben lejátszódó folyamatok összetett anabolikus (bioszintézis), és katabolikus (lebontó) reakciókból állnak, amelyek szénhidrátokat, zsírokat és fehérjéket használnak energiaforrásként és bioszintézis építő elemként (prekurzorok). A folyamatok pontosan szabályozottak a következő módokon:**
- **Kompartmentalizáció: A különböző szerveknek különbözőek a feladataik, és sejten belül is különböző feladataik vannak az egyes sejt szervecskének.**
- **Minden reakció lépés specifikus enzimet használ, amelyekhez esetleg kofaktorok, vagy pl. optimális pH kell, amelyek különböző tényezők ellenőrzése alatt állnak.**



A katabolikus reakciók három lépése

1. A táplálék molekulák (fehérjék, poliszaharidok, és zsírok) hidrolízist szenvednek és az őket alkotó egységekre esnek szét.
2. Az építő egységek könnyen oxidálható formába kerülnek (elsősorban acetyl CoA keletkezik belőlük.)
3. Acetyl CoA teljesen eloxidálódik CO_2 -ra és vízre. Az energia az ATP szintézis során hasznosul, elsősorban az elektrontranszport láncsal összefüggésben.



A katabolizmus három szakasza

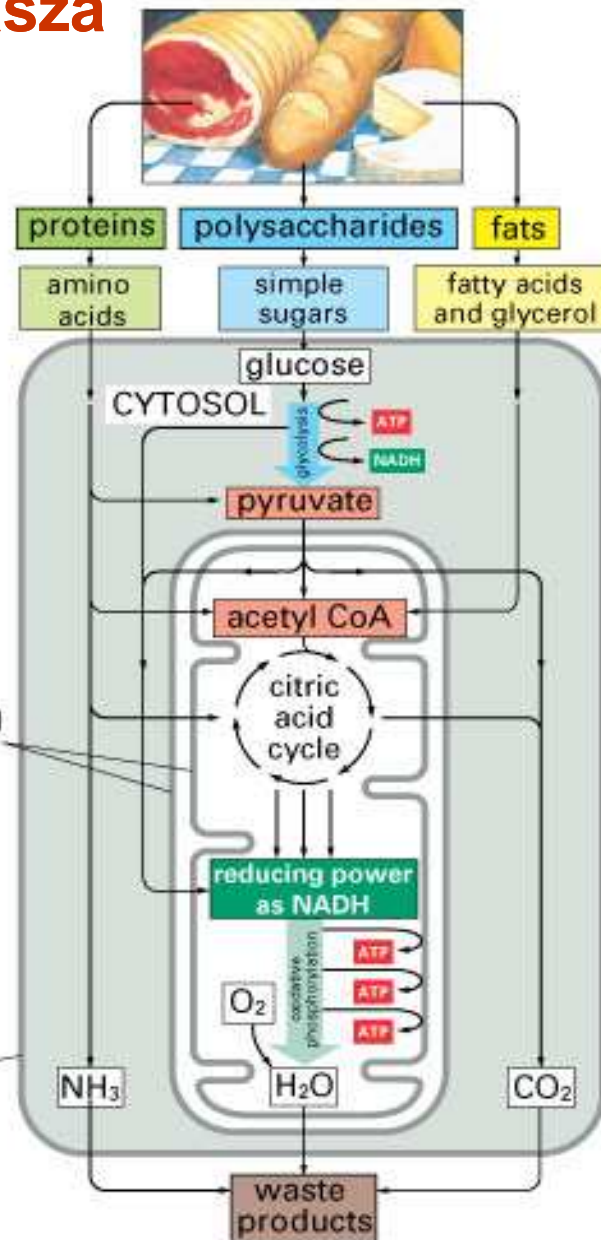
STAGE 1:
BREAKDOWN OF
LARGE
MACROMOLECULES
TO SIMPLE SUBUNITS

STAGE 2:
BREAKDOWN OF SIMPLE
SUBUNITS TO ACETYL
CoA ACCOMPANIED
BY PRODUCTION OF
LIMITED AMOUNTS
OF ATP AND NADH

STAGE 3:
COMPLETE
OXIDATION
OF ACETYL
CoA TO H₂O
AND CO₂
ACCOMPANIED
BY PRODUCTION
OF LARGE AMOUNTS
OF ATP IN
MITOCHONDRION

plasma
membrane
of eucaryotic
cell

mitochondrial
membranes



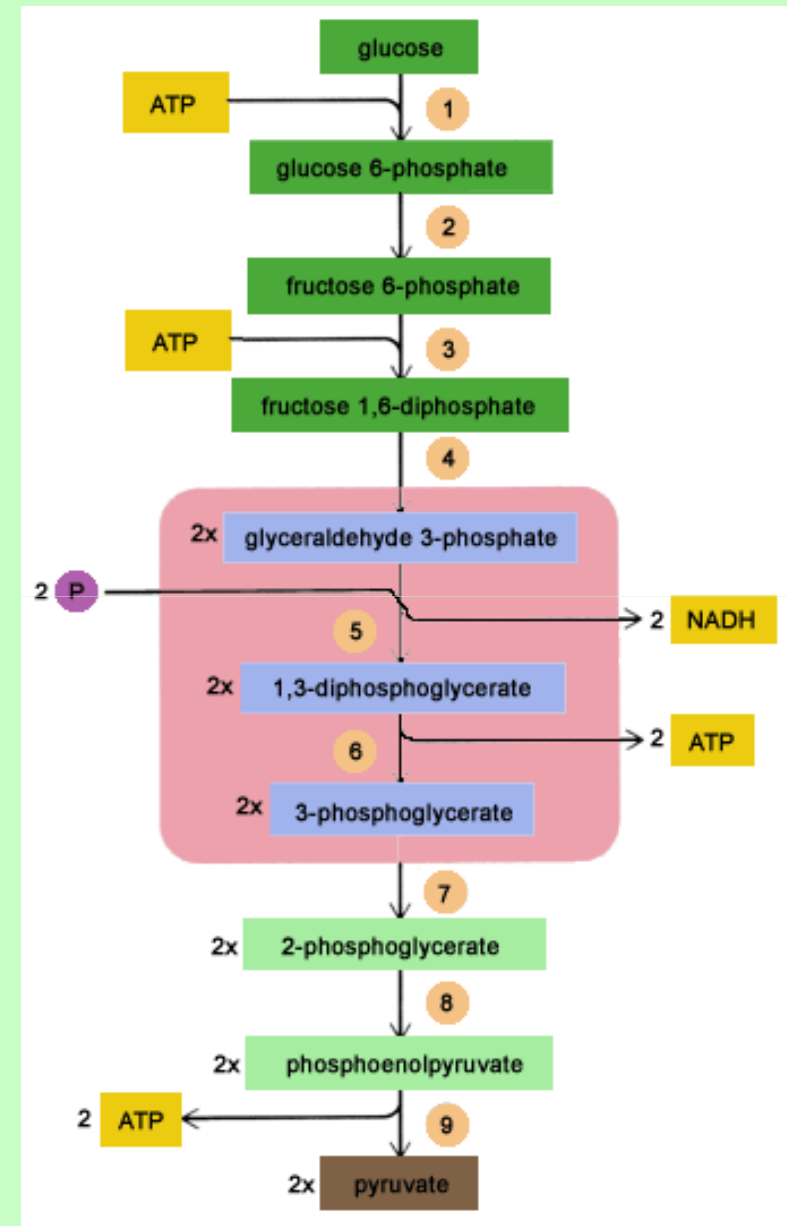
Glikolízis

Energiatermelő folyamat, aerob és anaerob körülmények között egyaránt végbemegy

A folyamat mérlege:

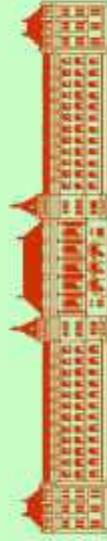
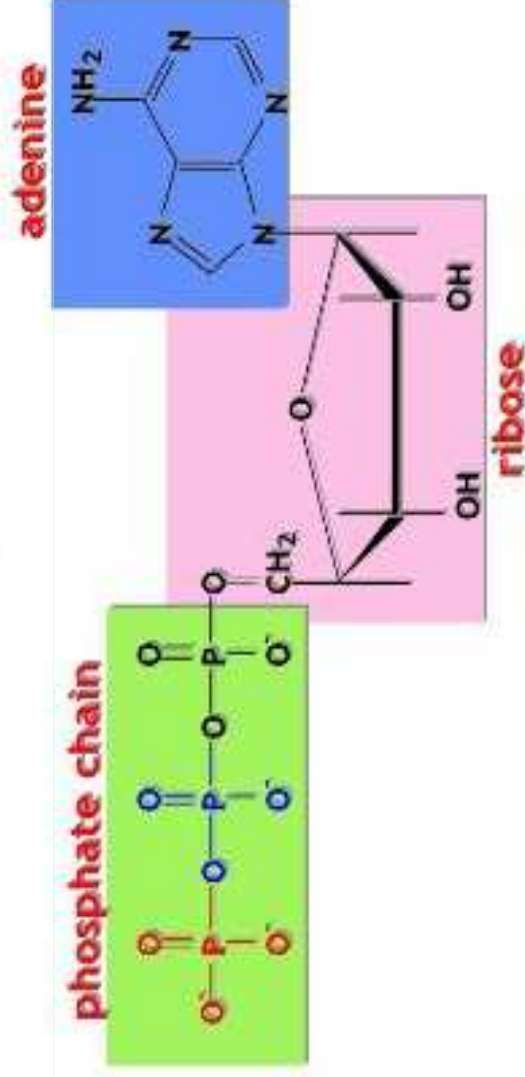
-2 ATP +4 ATP =

+2 ATP/molekula glükóz

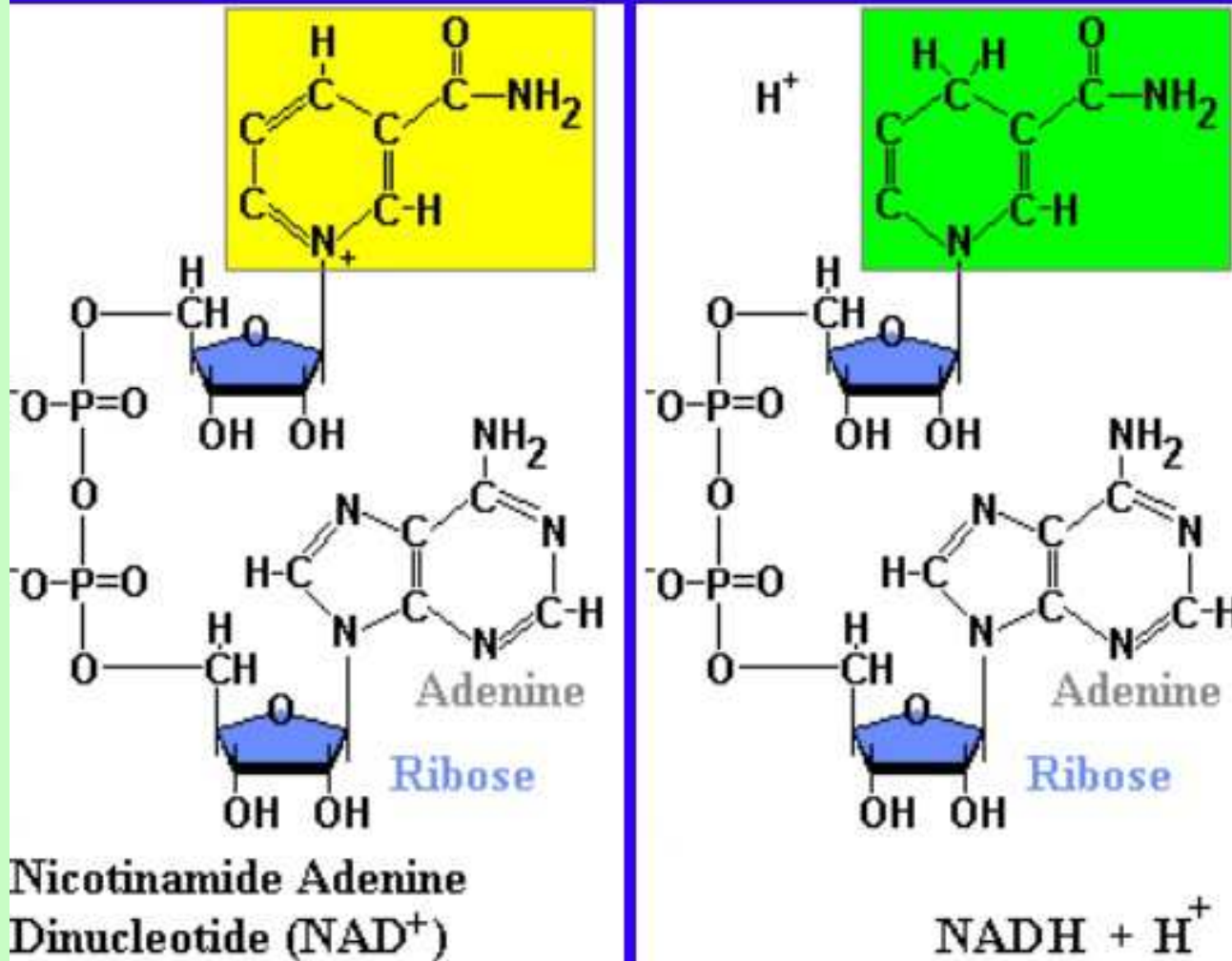


ATP

ATP adenosine triphosphate
a nucleotide composed of three basic units.



Structures of NAD & NADH

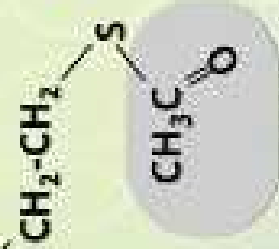


Acetyl - coenzyme A

pantothenate
unit

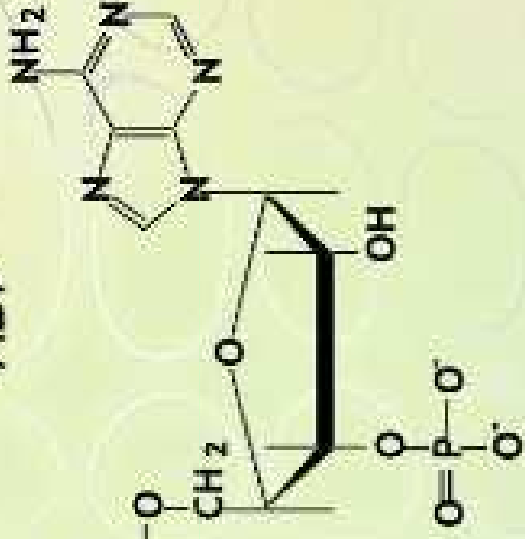


Sulphydryl
group



acetate

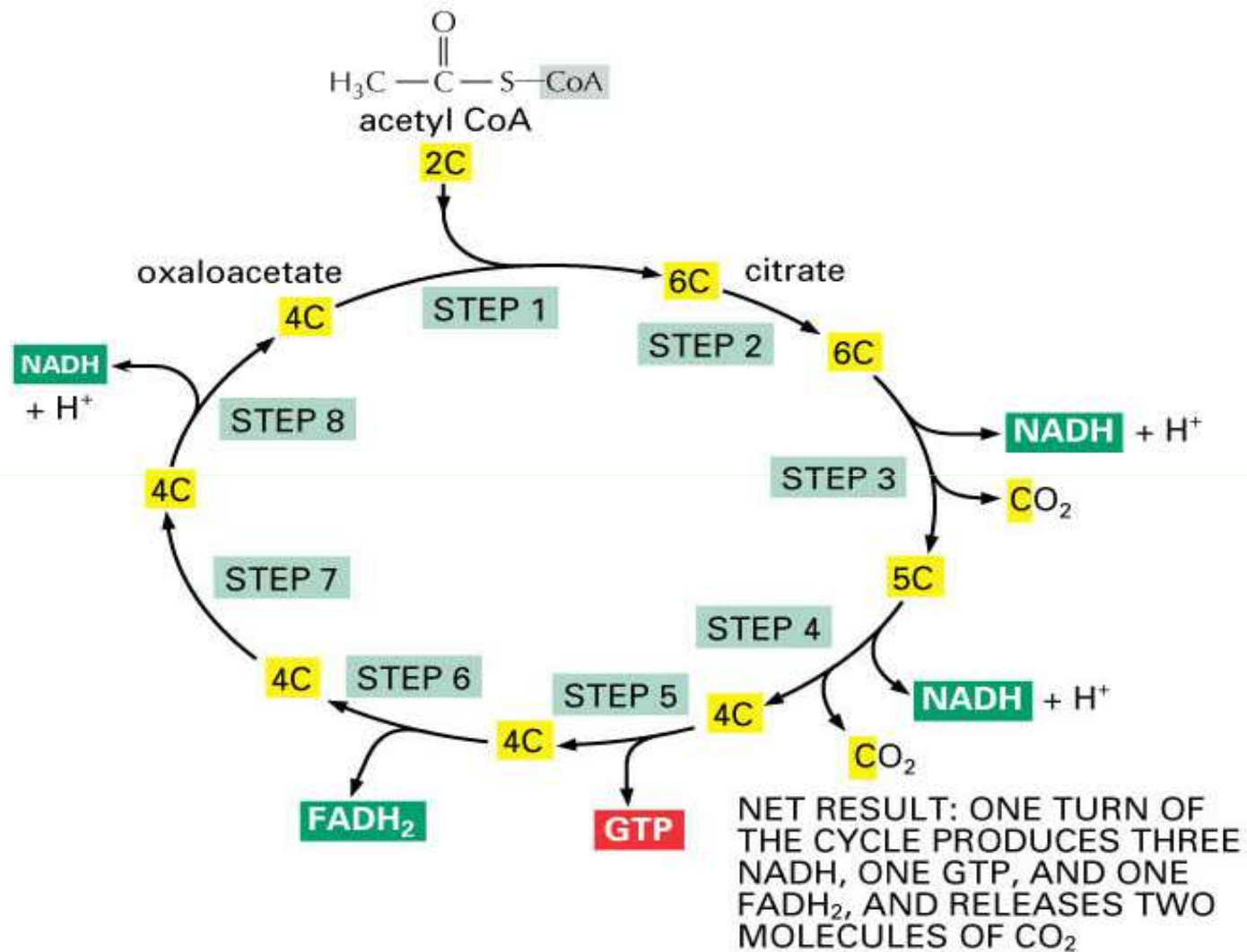
phosphorylated
ADP



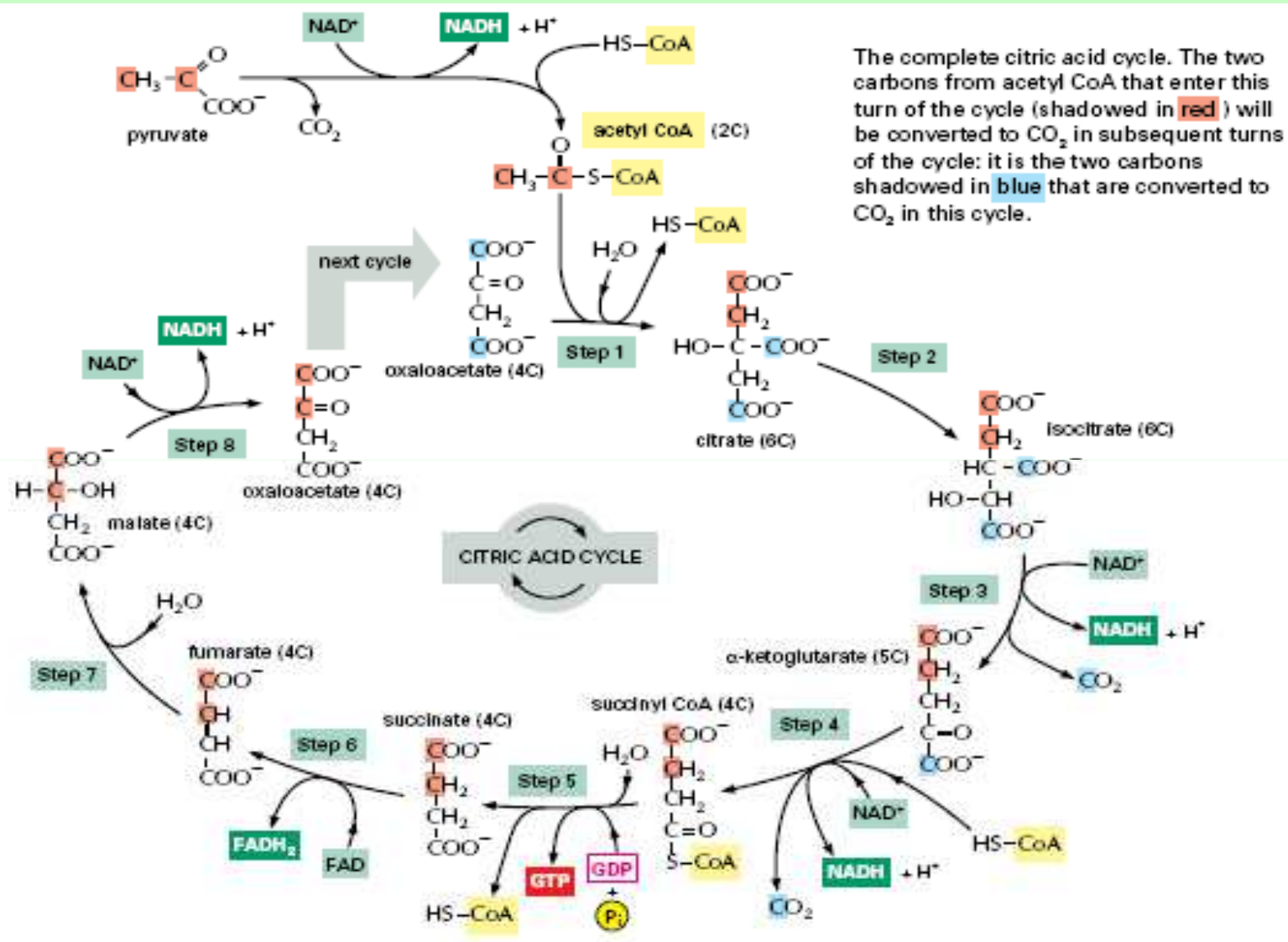
This molecule serves as the carrier for the small molecules from digestion.



A citrátkör

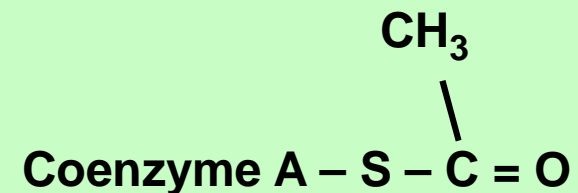


A citrátkör részletei



Az ATP energia és az Acetyl Coenzim A

- Az ATP különleges szerepet tölt be a sejtben: energiát raktároz és szolgáltat.
- Az ATP azonnali és közvetlen szabad energiát szolgáltat különböző energiaigényes biokémiai folyamatok számára.
- A benne tárolt kémiai kapcsolás energiája, amely a katabolizmusból származik át tud adódni a sejtben lejátszódó reakcióknak.
- A tioészter kötés is fontos szerepet játszik az energiát szolgáltató molekulák lebontásában.
- Acetyl CoA egy acetil csoportot tartalmaz a szénhidrátok a szénhidrátok tovább bontásához.

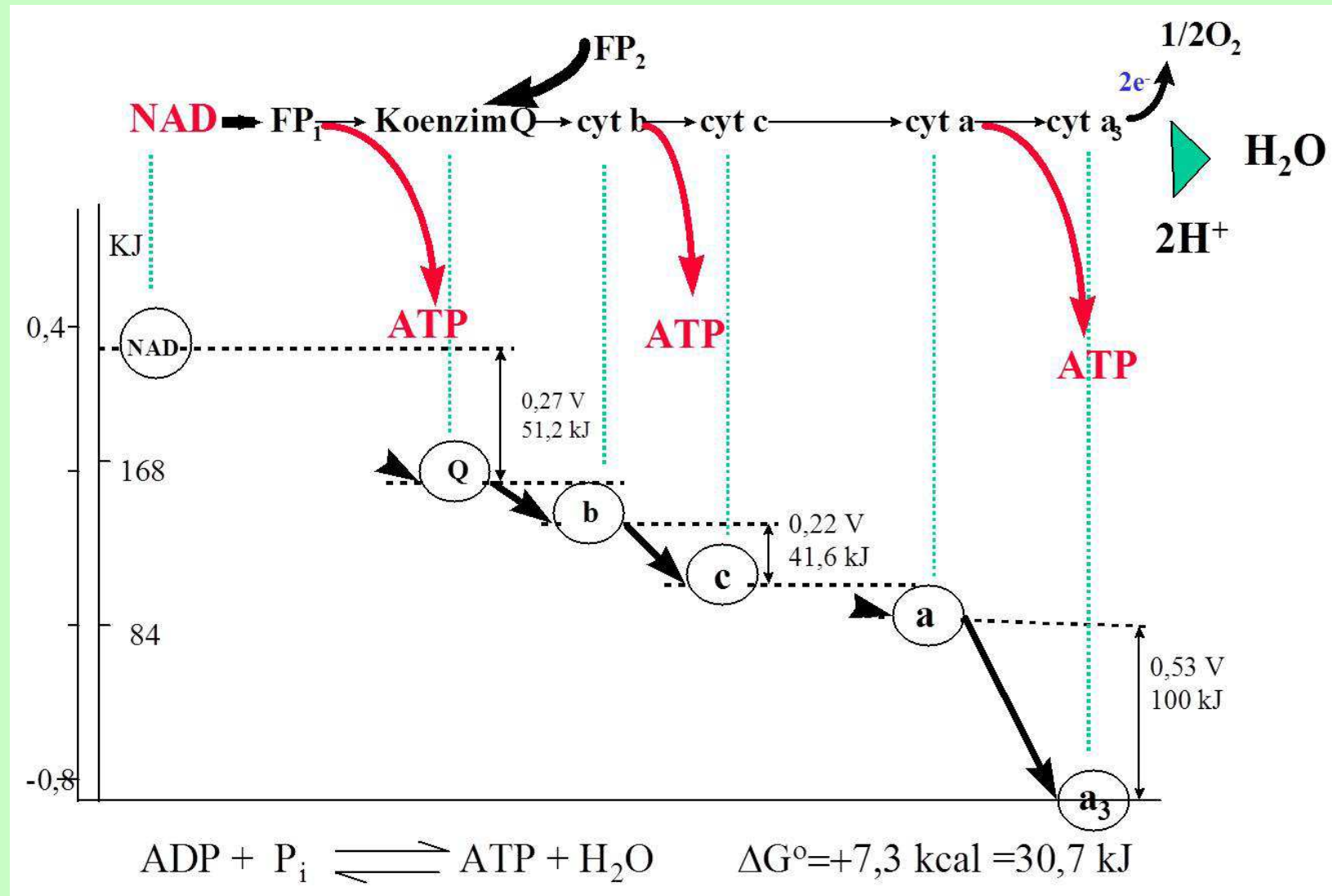


Az oxidatív foszforilációval több ATP keletkezik, mint az öt megelőző reakciókban.

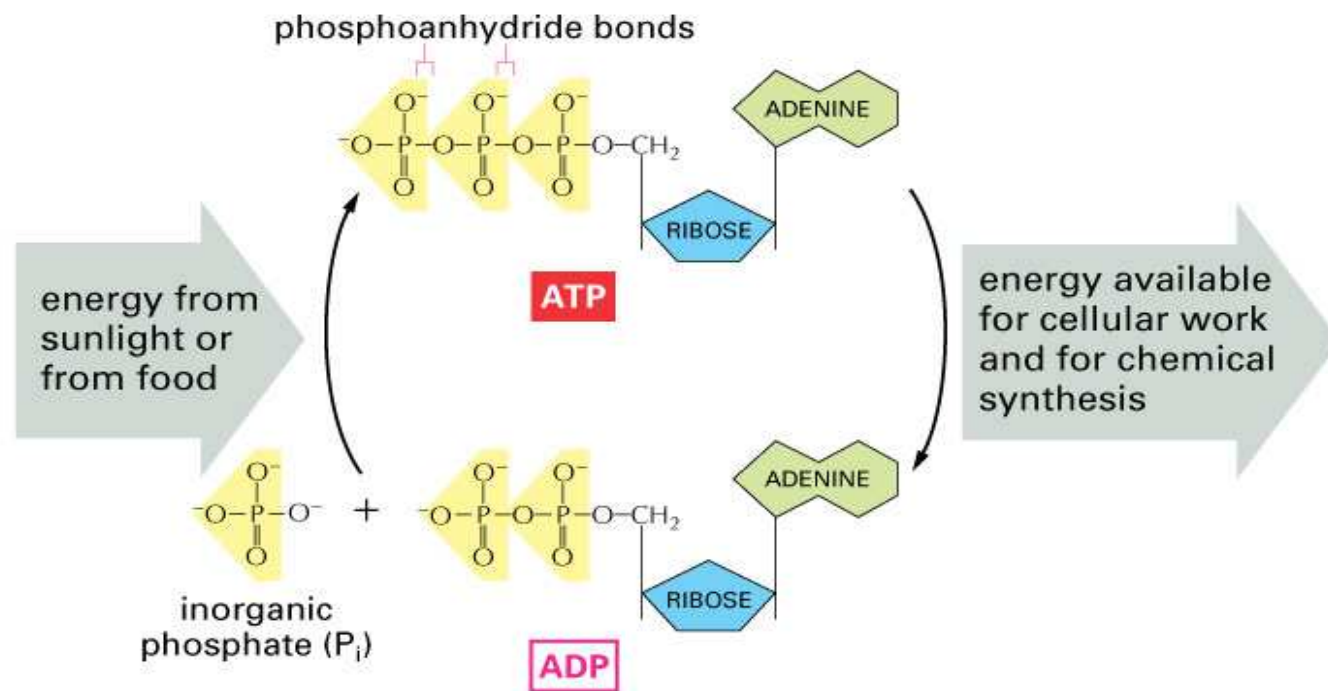
- **A glikolízis a citoplazmában játszódik le; A glikolízis után a pyruvát a CoA-ra kerül, egy NAD⁺ felhasználásával és Acetyl CoA keletkezik, CO₂ és NADH mellett.**
- **Az Acetyl CoA a Szentgyörgyi-Krebs üzemanyaga.**
- **Az oxidatív foszforiláció egy több lépcsős elektrontranszfer, amely a TCA ciklusból kapja a redukált ágenseket**
- **Az elektrontranszfer proton gradienst hoz létre, amelynek kiegyenlítődése során keletkezik a nagy energiájú foszfát kötés az ATP-ben.**



Az oxidatív foszforiláció

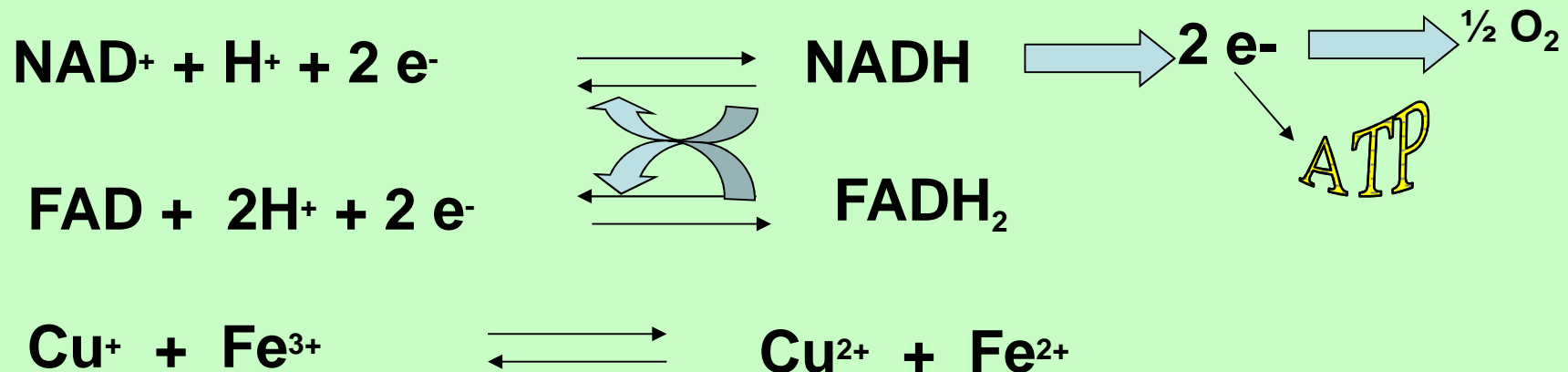


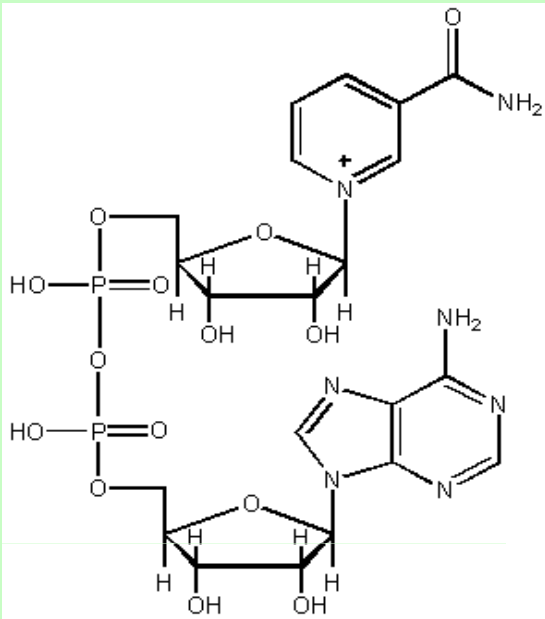
Energia körforgalom



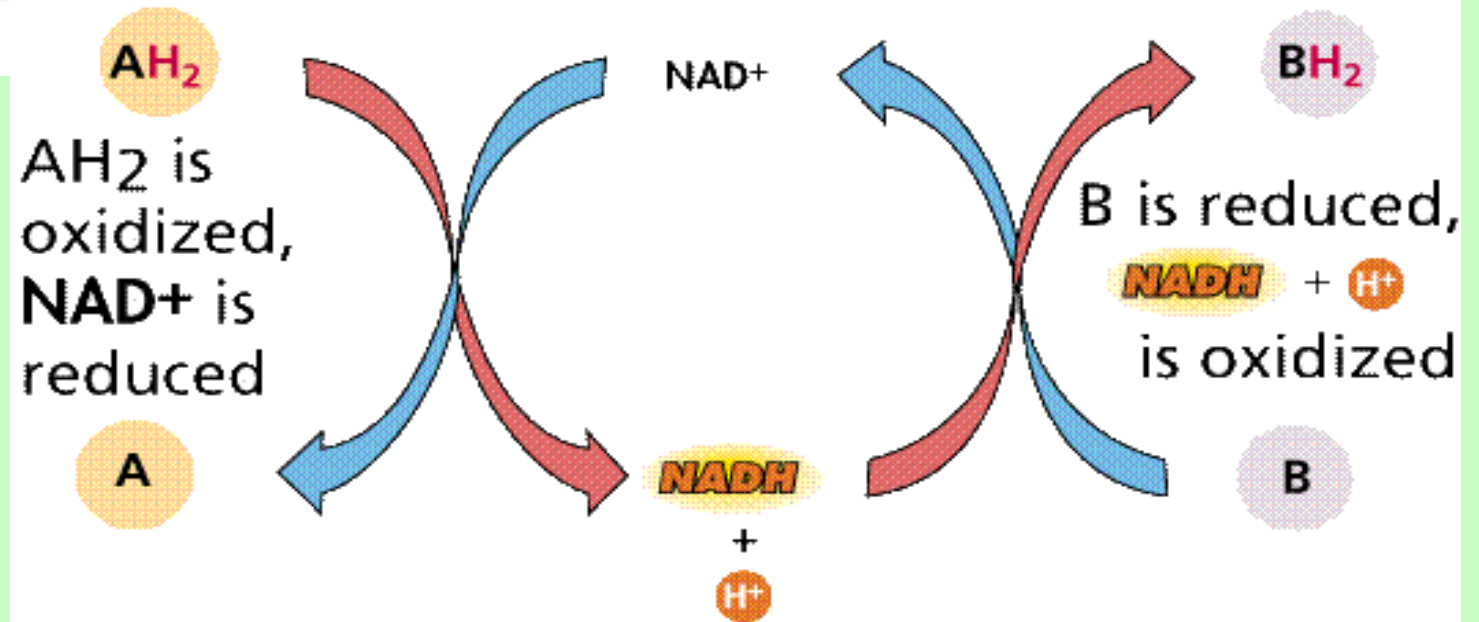
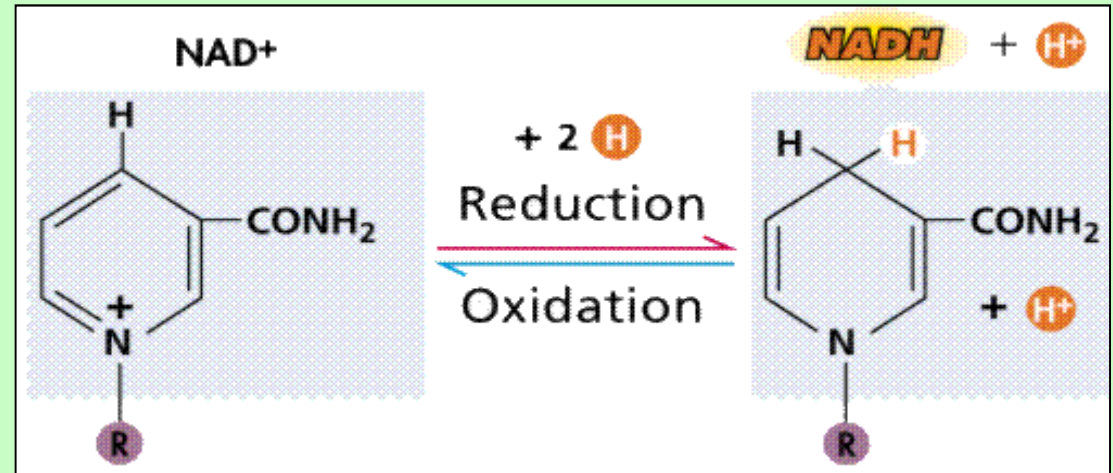
Redukáló képesség

- Mind az energia előállítás, mind a felhasználás elsősorban redox reakciókon alapszik.
- Elektron donor (redukáló ágens)
- Elektron akceptor (oxidáló ágens)

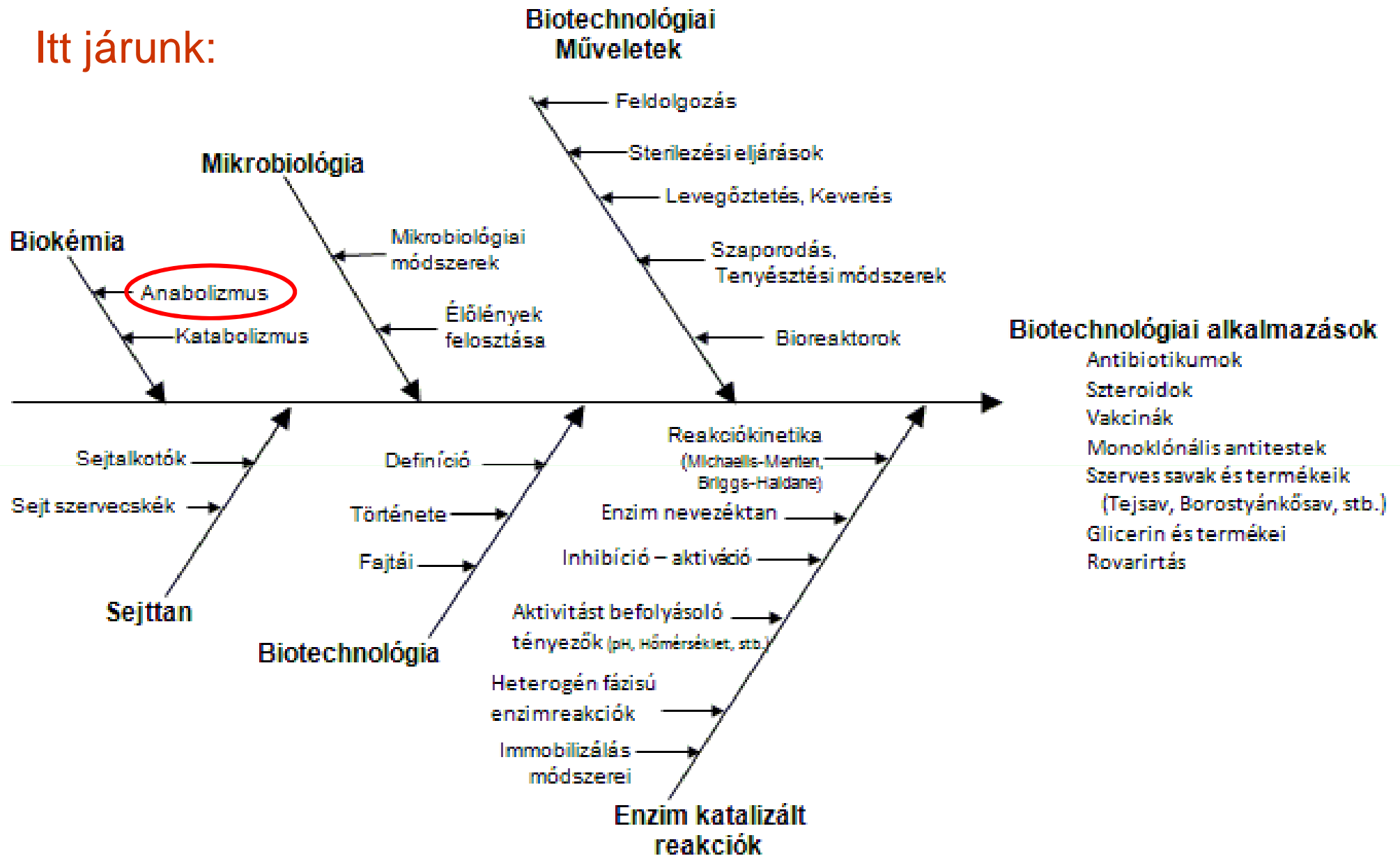




NAD:
Nicotinamide
Adenine
Dinucleotide



Itt járunk:



Anabolism

- **Large complex molecules are synthesized from smaller precursors.**
- **Building block molecules (nucleotides, amino acids, sugars and fatty acids) are produced or acquired from the diet.**
- **Because anabolic processes include the synthesis of polysaccharides and proteins from sugars and amino acids, the biosynthetic pathways increase order and complexity, they require inputs of free energy (ATP and NADPH).**



A nukleinsavak szerkezete

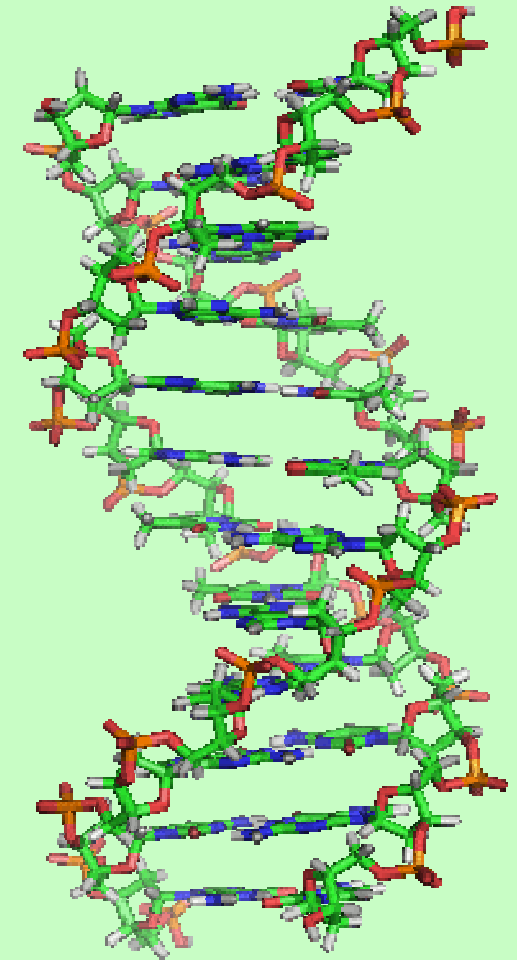
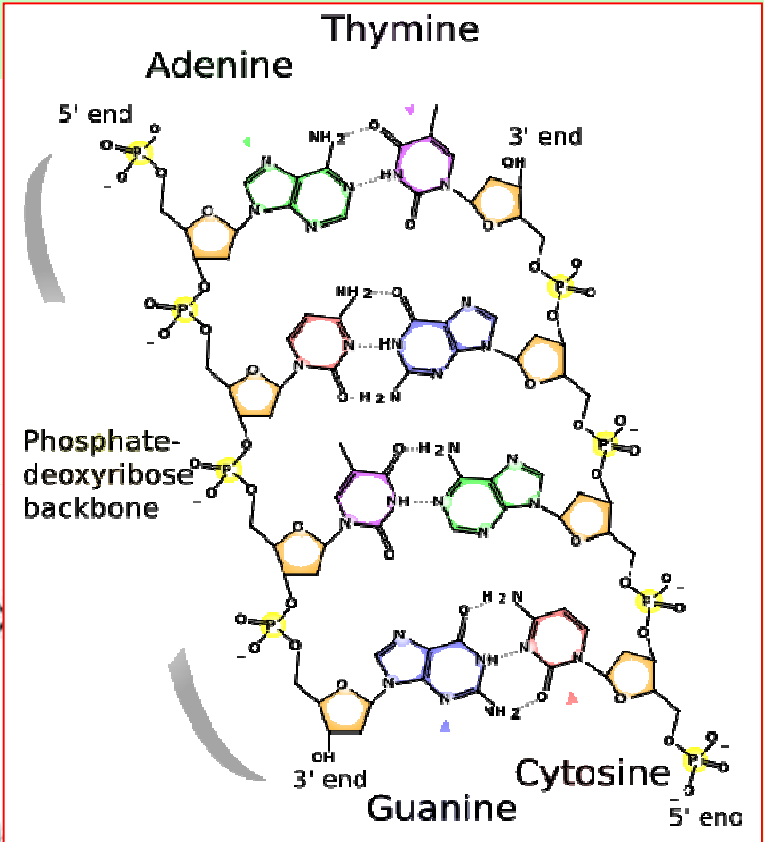
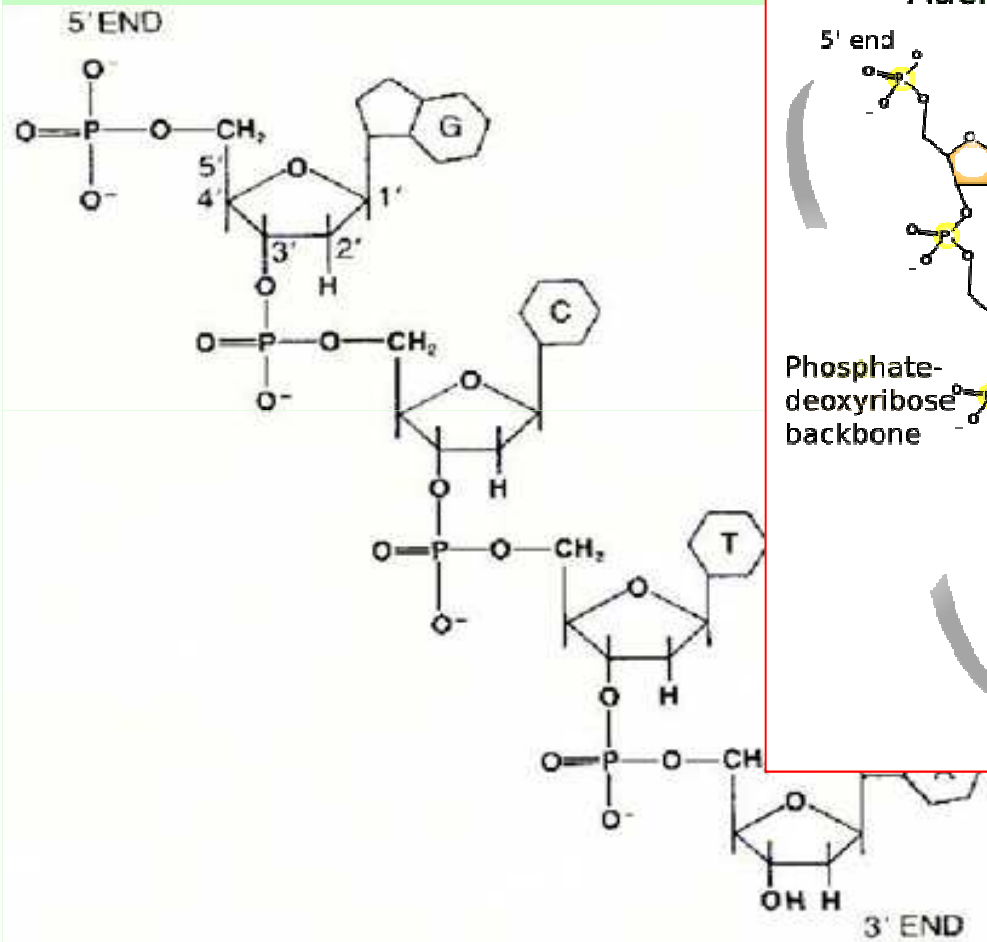
RNS: ribonukleinsav

DNS: dezoxiribonukleinsav

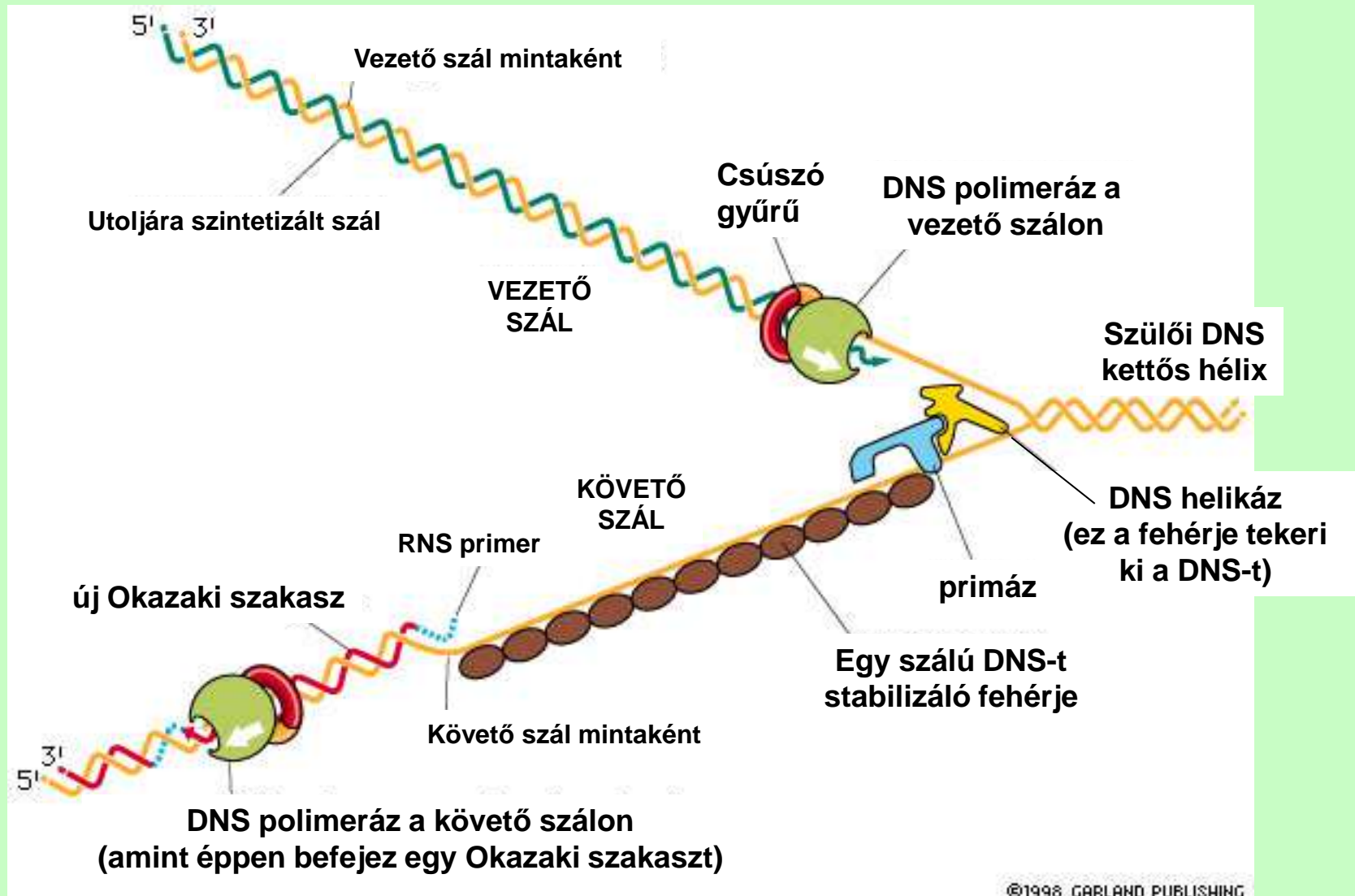
- **Cukor-foszfát lánc**
- **A cukor részekhez kapcsolódnak a bázisok (purin és pirimidin bázisok)**
 - DNS: adenin, timin, guanin, citozin
 - RNS: adenin, uracil, guanin, citozin
- **RNS: egyszálas**
- **DNS: ellentétes irányban két lánc összekapcsolódik és jobbmenetes spirált képez – hidrogénhidak; mindig A-T és C-G bázisok állnak egymással szemben**



A DNS szerkezete



A DNS replikációs gépezet



A DNS-től a fehérjéig

A genetikai kód:

- Triplett
- Degenerált
- Átfedésmentes
- Vesszőmentes
- Univerzális

Az információ átadása:

1. RNS másolat készítése (transzkripció)
2. Az aminosavak aktiválódása: t-RNS-ekhez kötődés
3. Az aminosav-lánc szintézise a riboszómákban

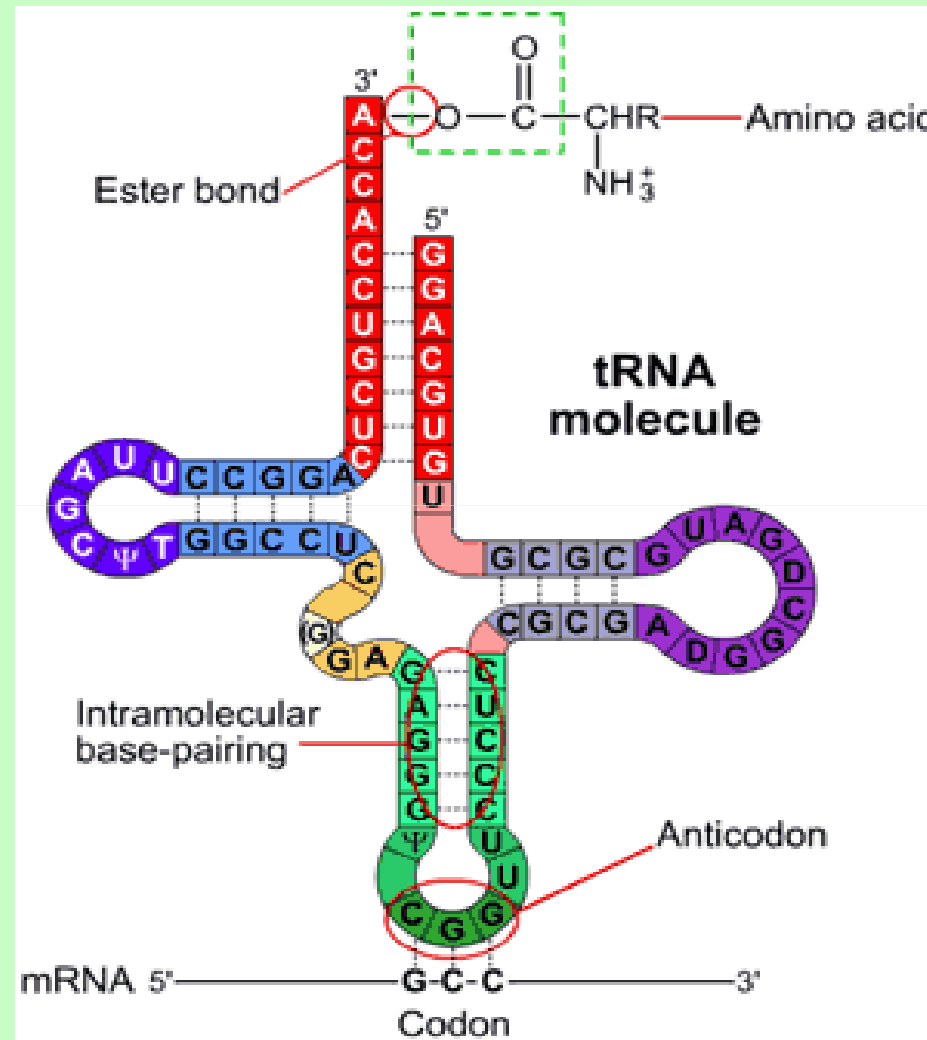


A triplettek jelentése

		Second Letter					
		U	C	A	G		
1st letter	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU UCC Ser UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA Stop UAG Stop	UGU Cys UGC UGA Stop UGG Trp	U C A G	
	C	CUU CUC Leu CUA CUG	CCU CCC Pro CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU CGC Arg CGA CGG	U C A G	
	A	AUU AUC Ile AUA AUG Met	ACU ACC Thr ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G	
	G	GUU GUC Val GUA GUG	GCU GCC Ala GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU GGC Gly GGA GGG	U C A G	
						3rd letter	



Az aminosavak aktiválása



Fehérje bioszintézis

- Minden funkcionális fehérjének rögzített aminosavsorrendje van. A bioszintézisnél ezt kell (pontosan) reprodukálni.
- Az aminosav-sorrendet a DNS tartalmazza. A kódolt információ (→ genetikai kód, 64 féle bázis triplett) mRNS-re íródik át (transzkripció).
- fehérjeszintézis (transzláció) a riboszómák és a m-RNS által alkotott komplexben történik

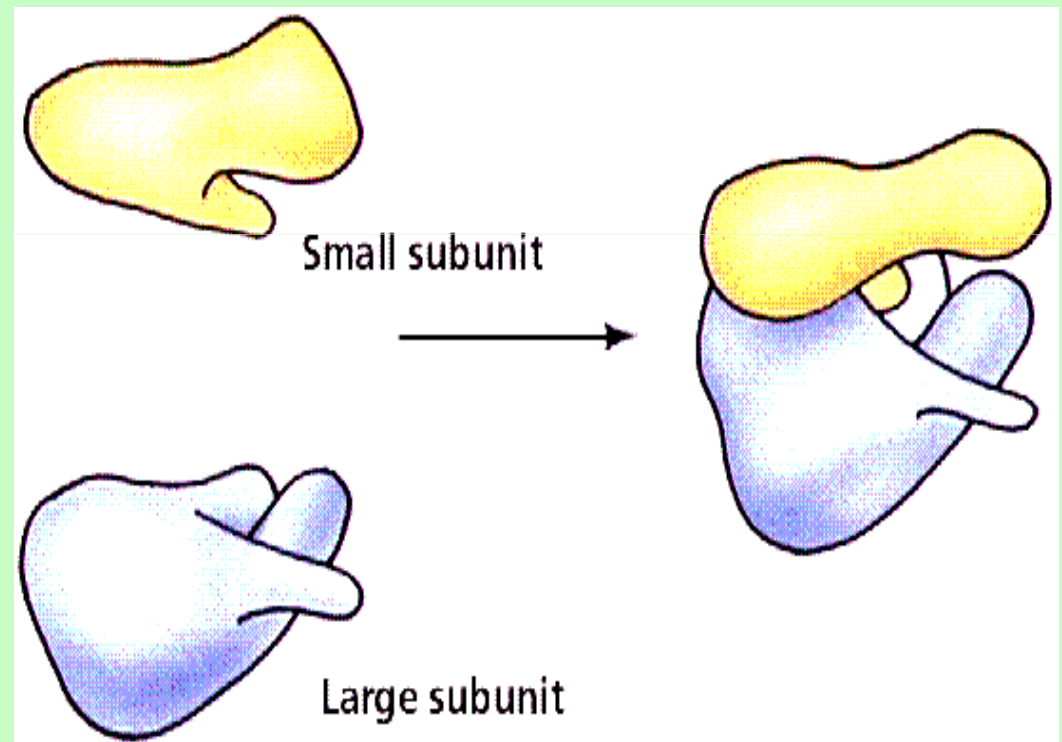


Riboszóma

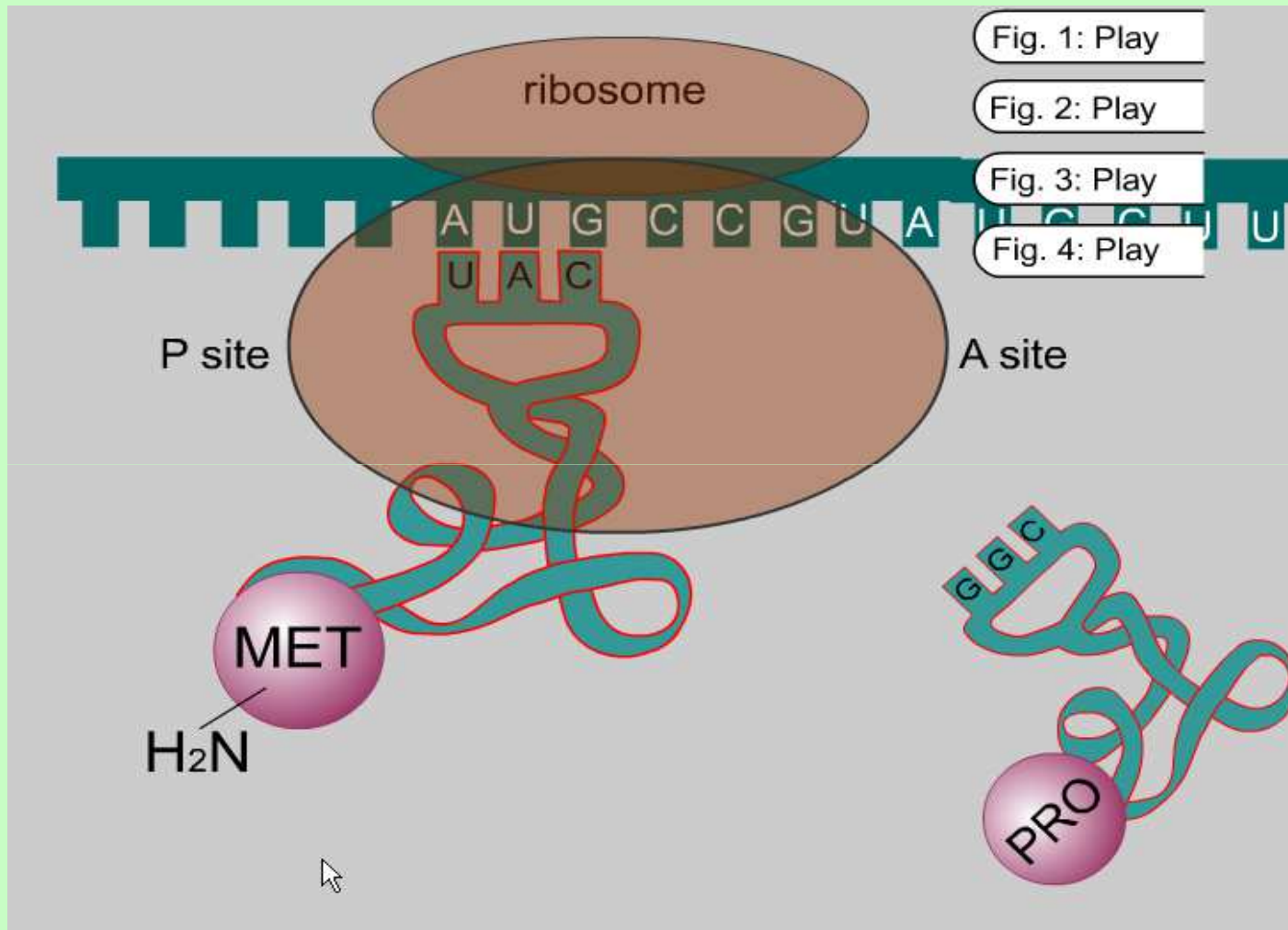
A riboszómák két alegységből álló részecskék, anyaguk rRNS és fehérje. A két alegységet Mg^{2+} ionok kapcsolják össze.

Az alegységek nagyságát a Swedberg féle ülepedési számmal jellemezzük (30 S és 50 S).

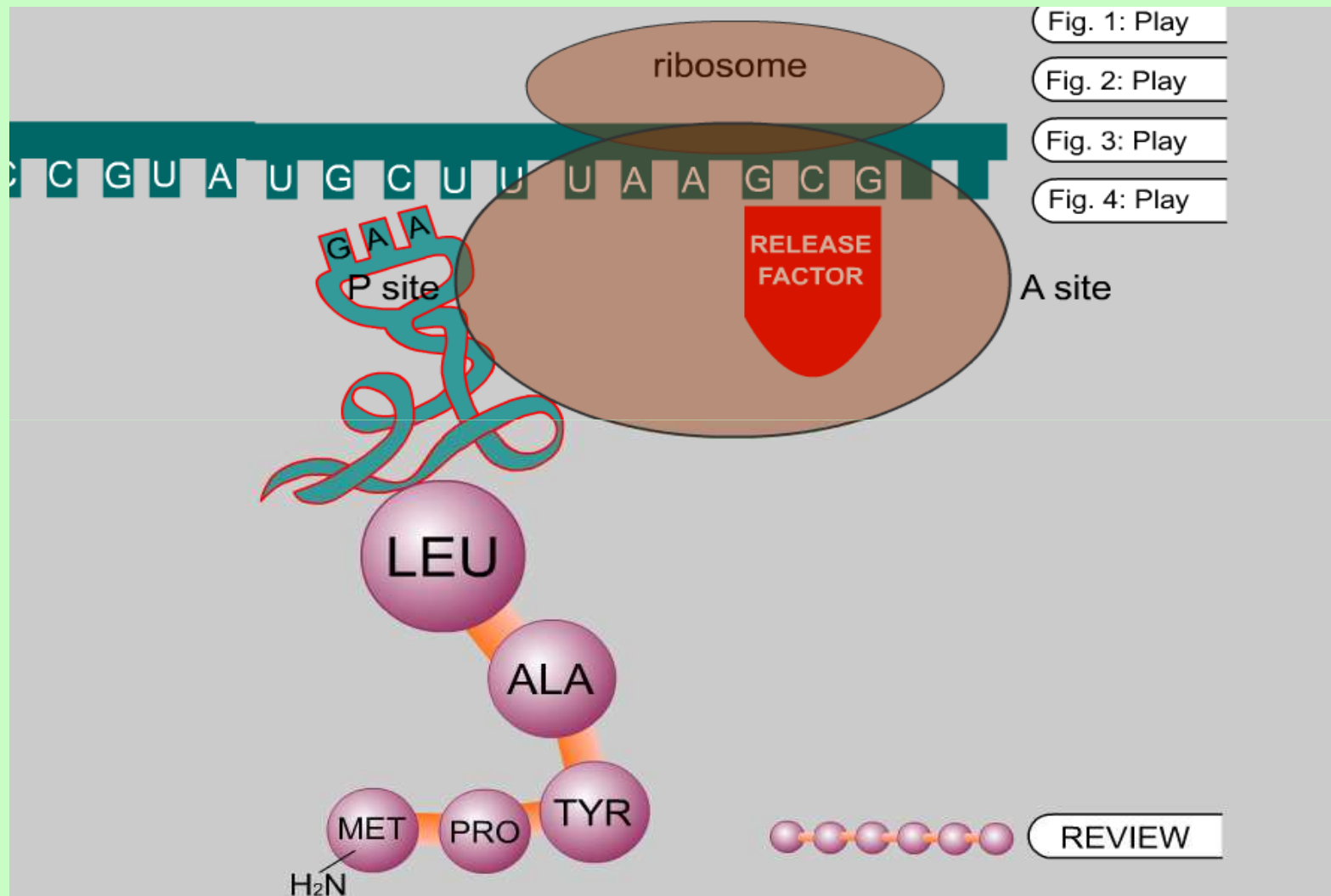
A riboszómán kötődik a mRNS, ezen kívül még két kötőhelye van, a aminoacil- és a peptidil-kötőhely.



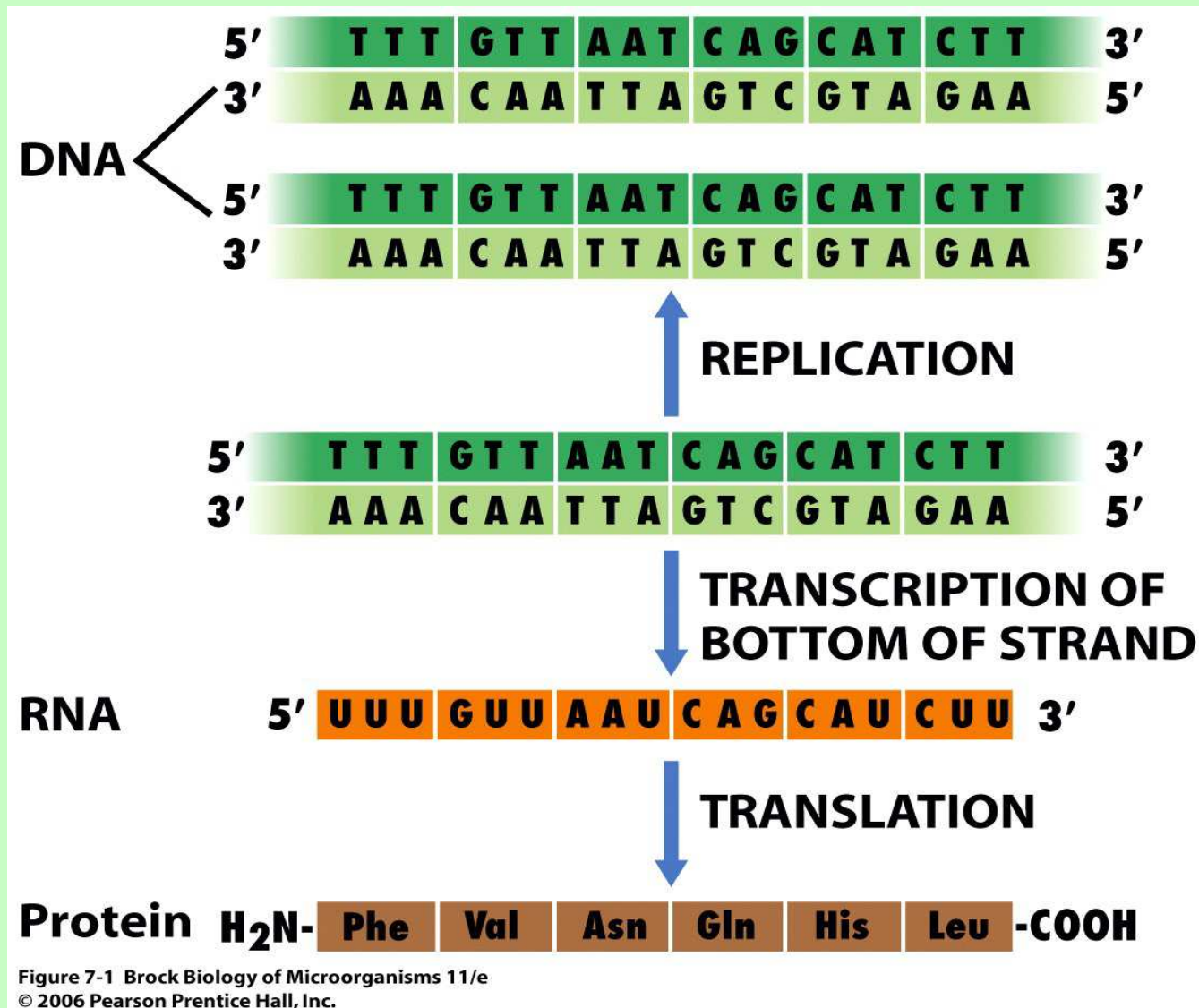
Fehérjeszintézis - Iniciáció

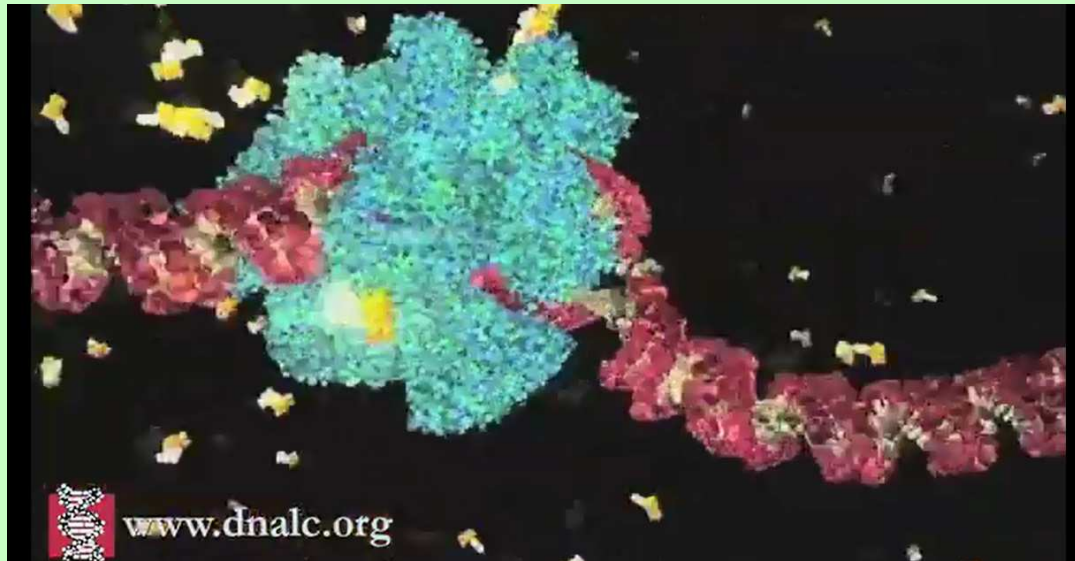


Fehérjeszintézis - termináció



Összefoglalva...





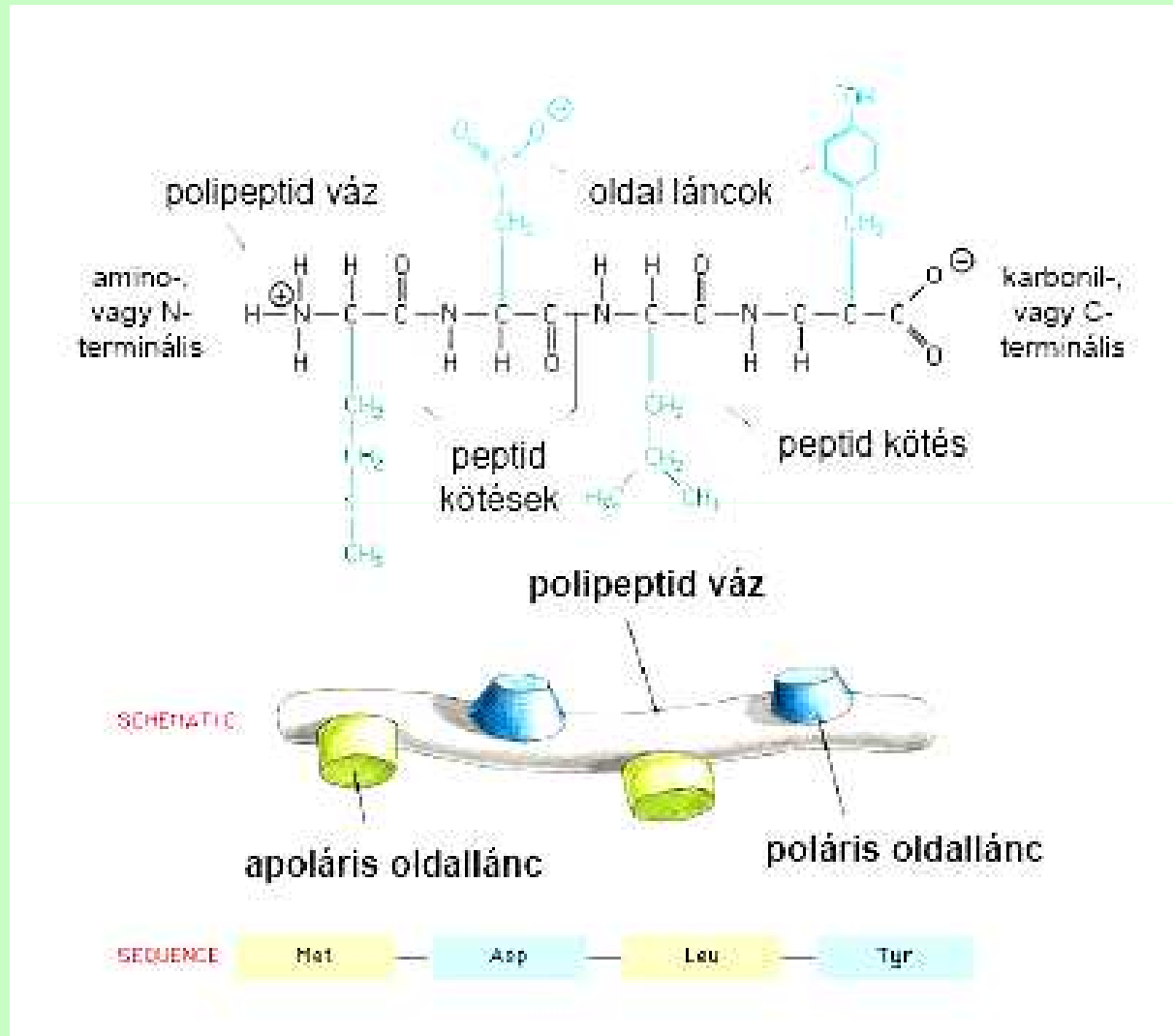
Transzkripció



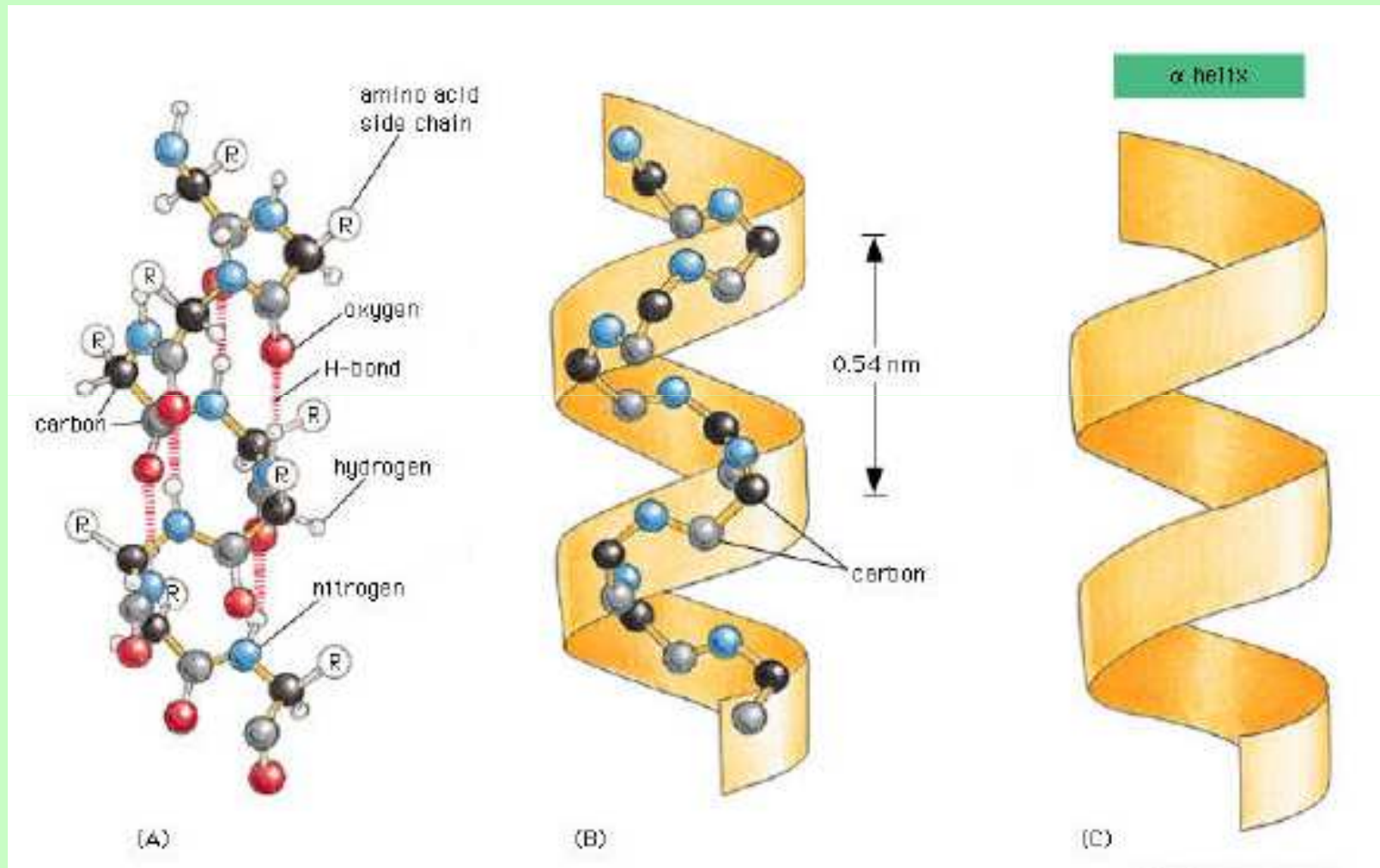
Transzláció



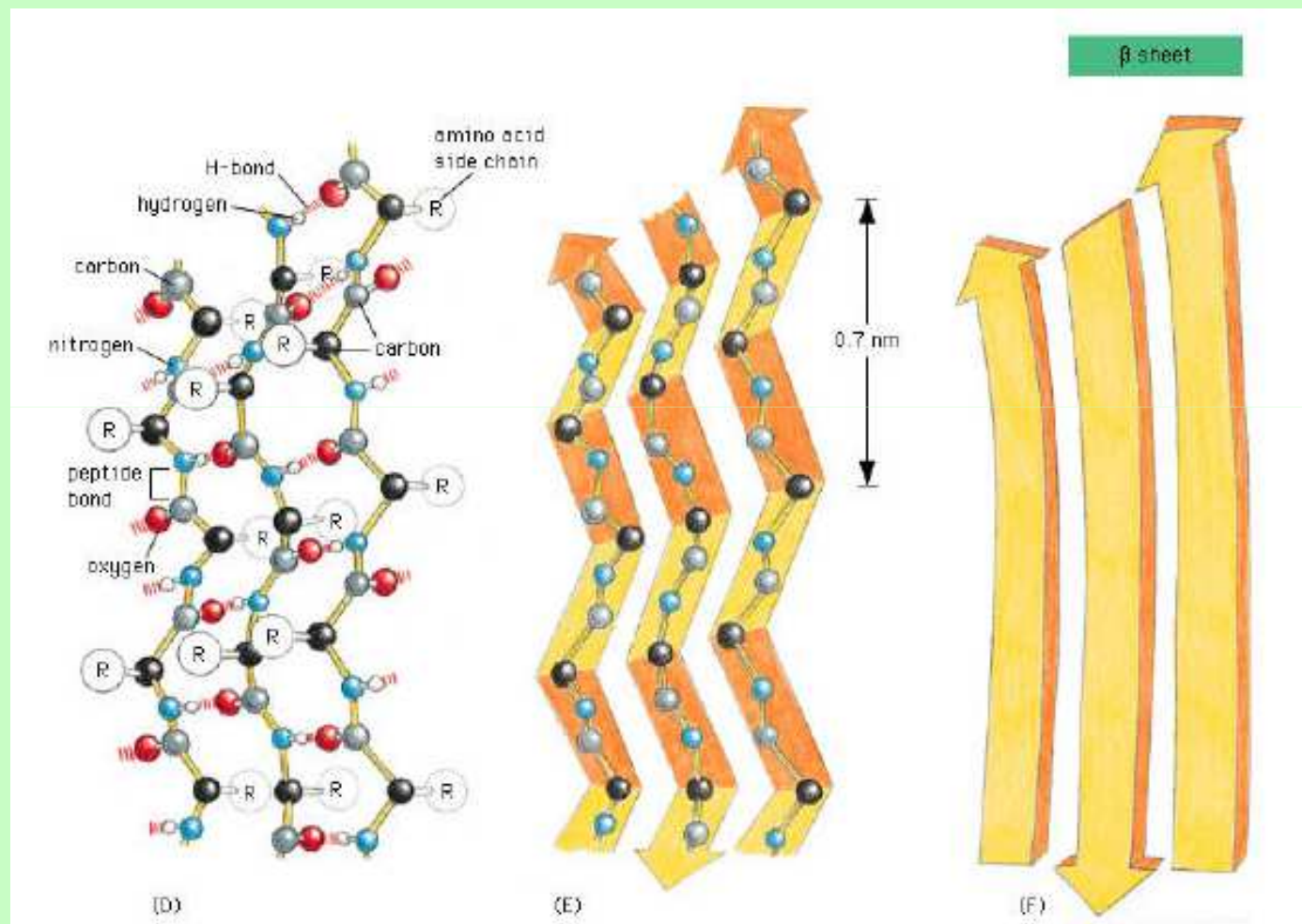
Elsődleges szerkezet: az aminosavak sorrendje



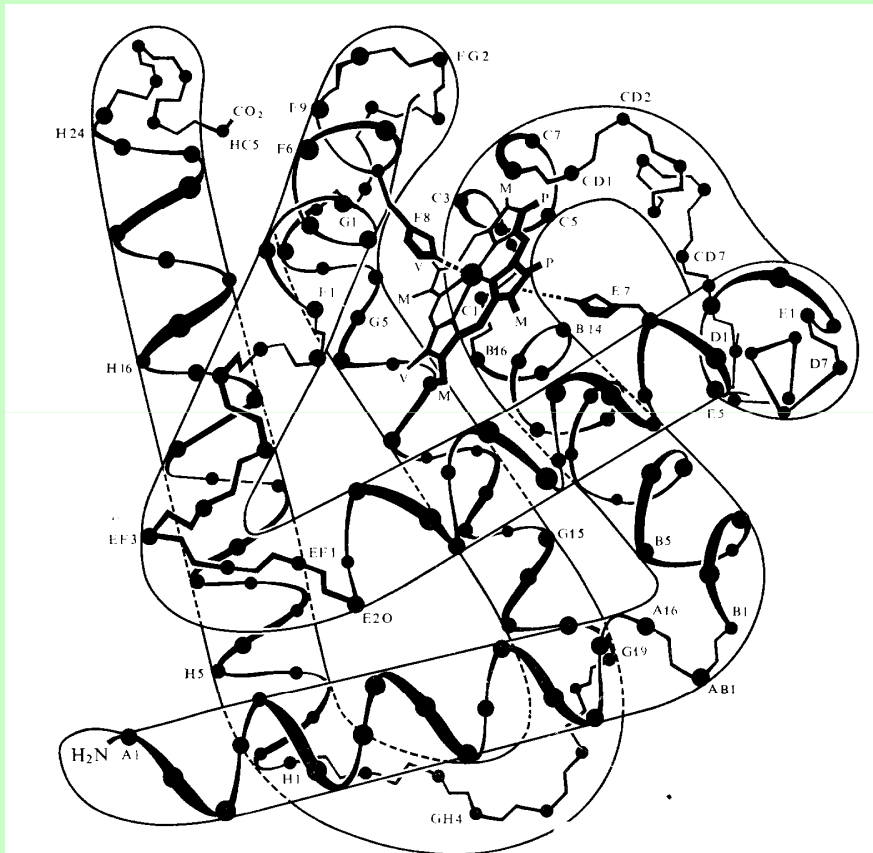
Másodlagos szerkezet, a lánc térbeli rendezettsége: α -hélix



Másodlagos szerkezet, a lánc térbeli rendezettsége: β -redőzet

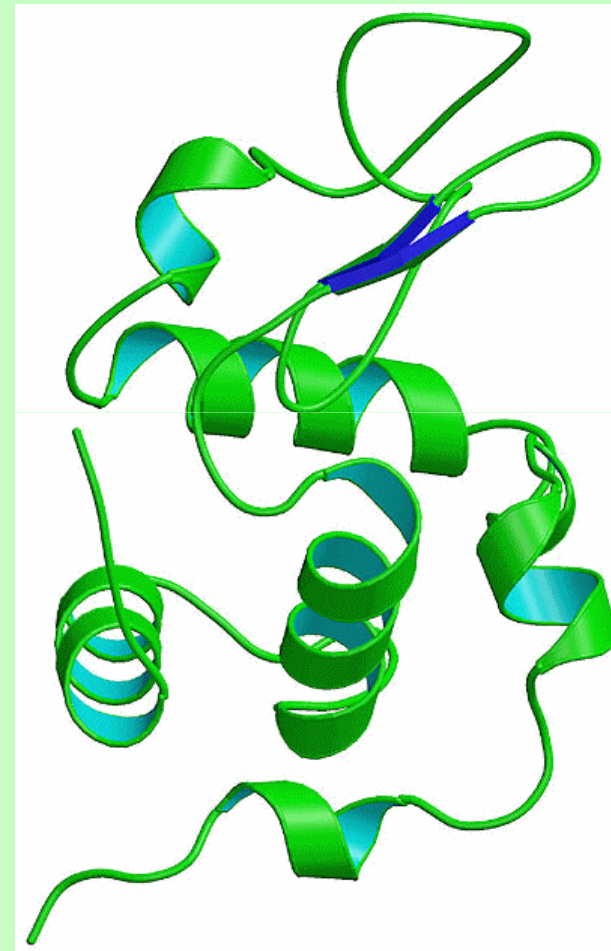


Harmadlagos szerkezet: a teljes lánc térbeli konformációja



12. ábra. A miogloblin térszerkezete

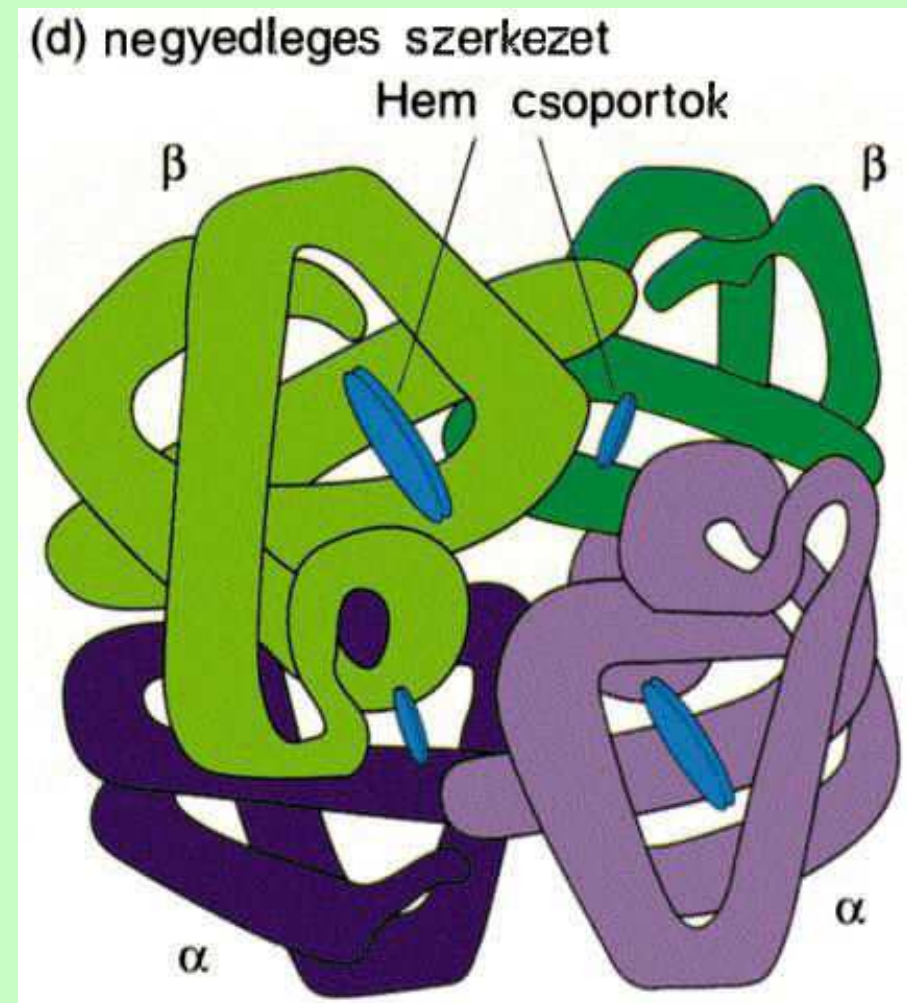
Az egymást követő hélix-szakaszokat A—H betűk jelölik; pl. B5 jelenti a B szakasz ötödik aminosavját (vö. a könyvhöz mellékelt összehajtogatott táblázattal). Alul balra az N-terminális aminos csoport (NH_2), felül balra a C-terminális karboxilcsoport (CO_2) látható



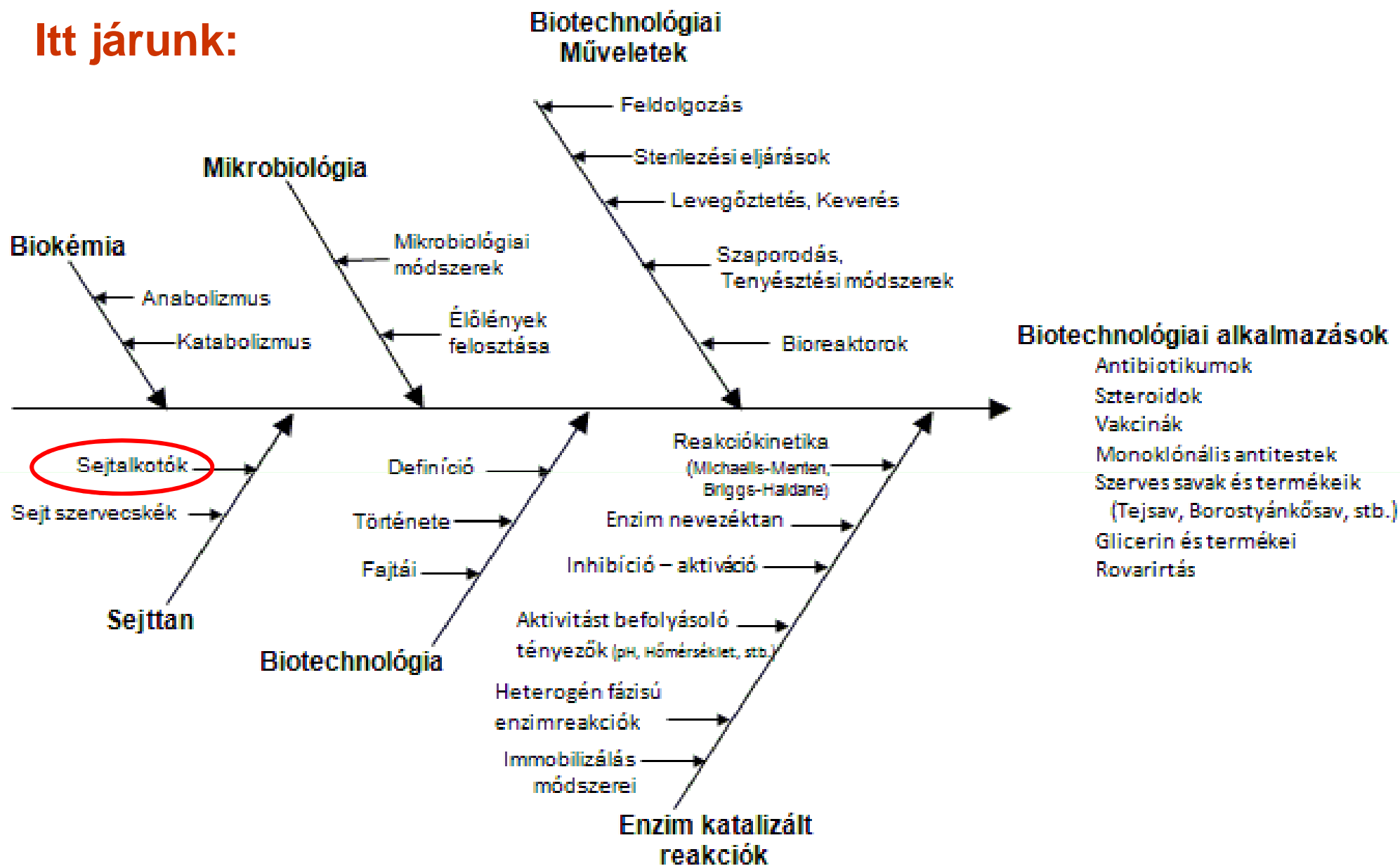
Negyedleges szerkezet: több összekapcsolódó alegységből

A fehérje-komplexek tér-beli szerkezete.

Példa: hemoglobin, két α és két β láncból áll össze: $\alpha_2\beta_2$



Itt járunk:



Egy kis kitérő: Prokarióták és eukarióták

Karyon = sejtmag pro- = elő/első 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 sugár-gombákat (Actinomycetales) is, és a kékmoszatok (Cyanobacteriales)

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

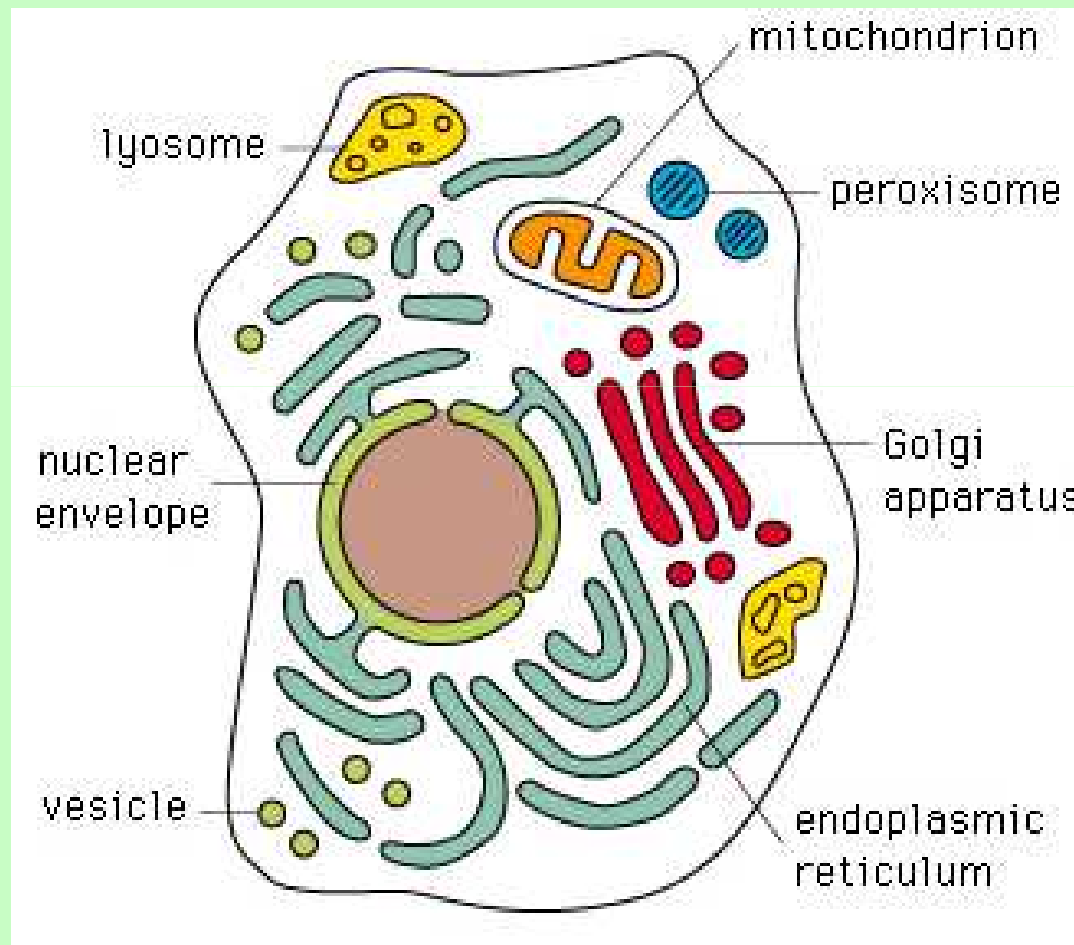
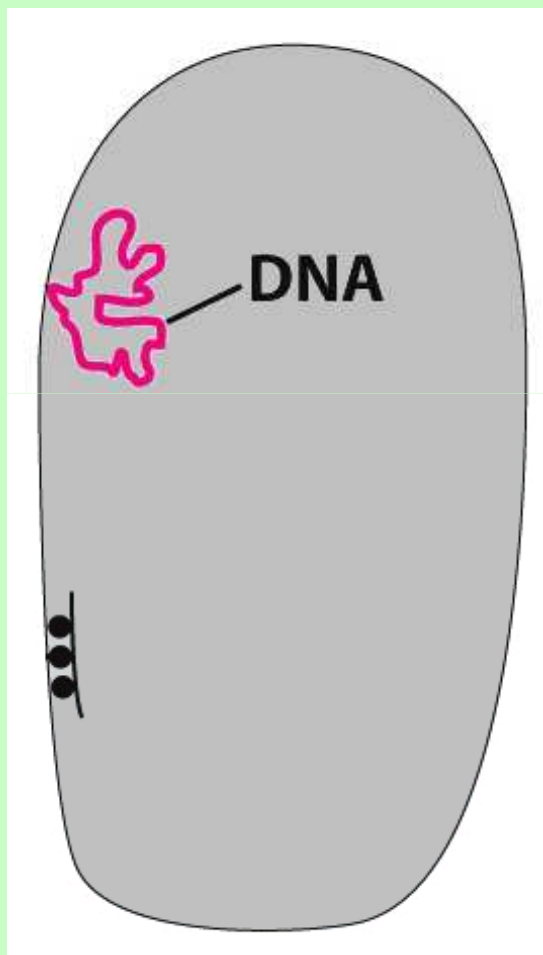


Egy kis kitérő:

Prokarióta

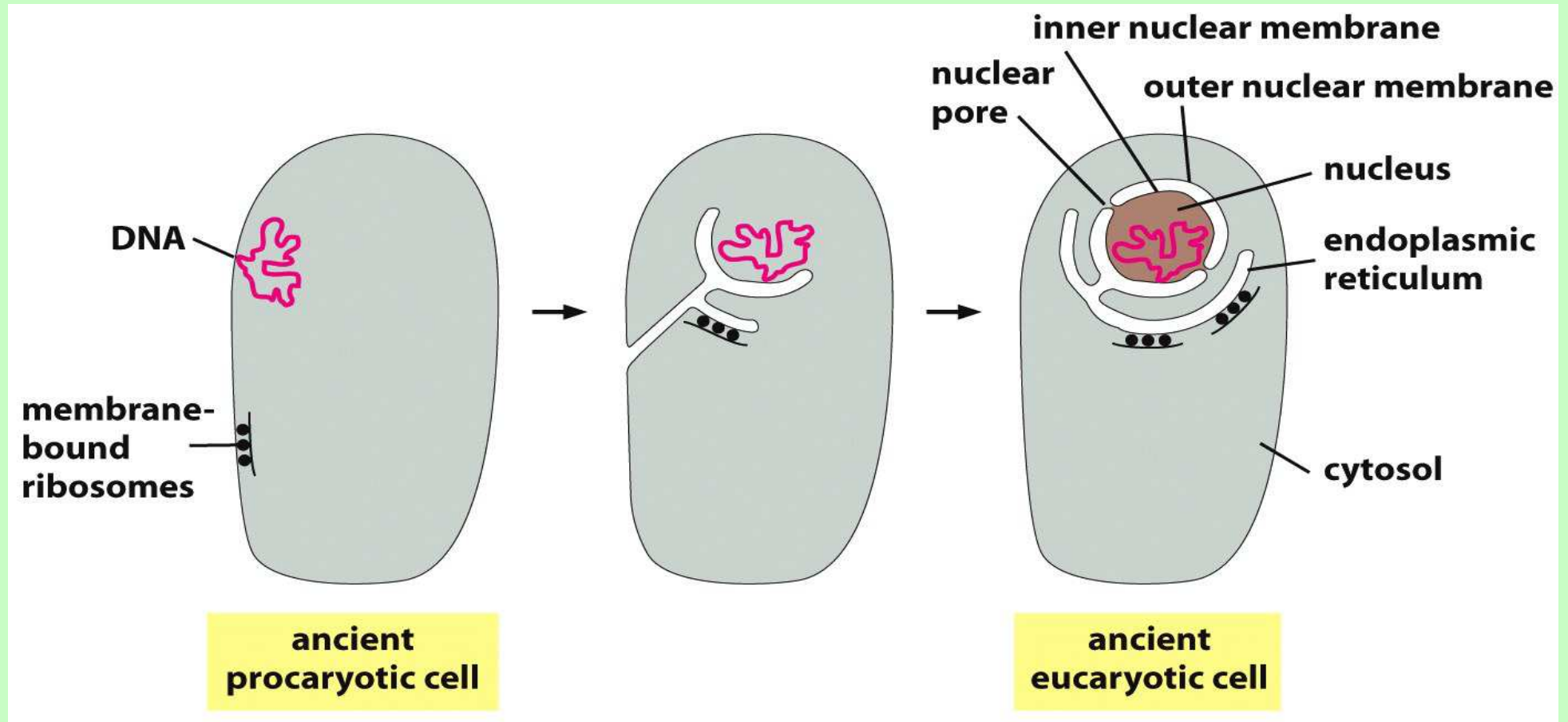
és

eukarióta sejt



Egy kis kitérő:

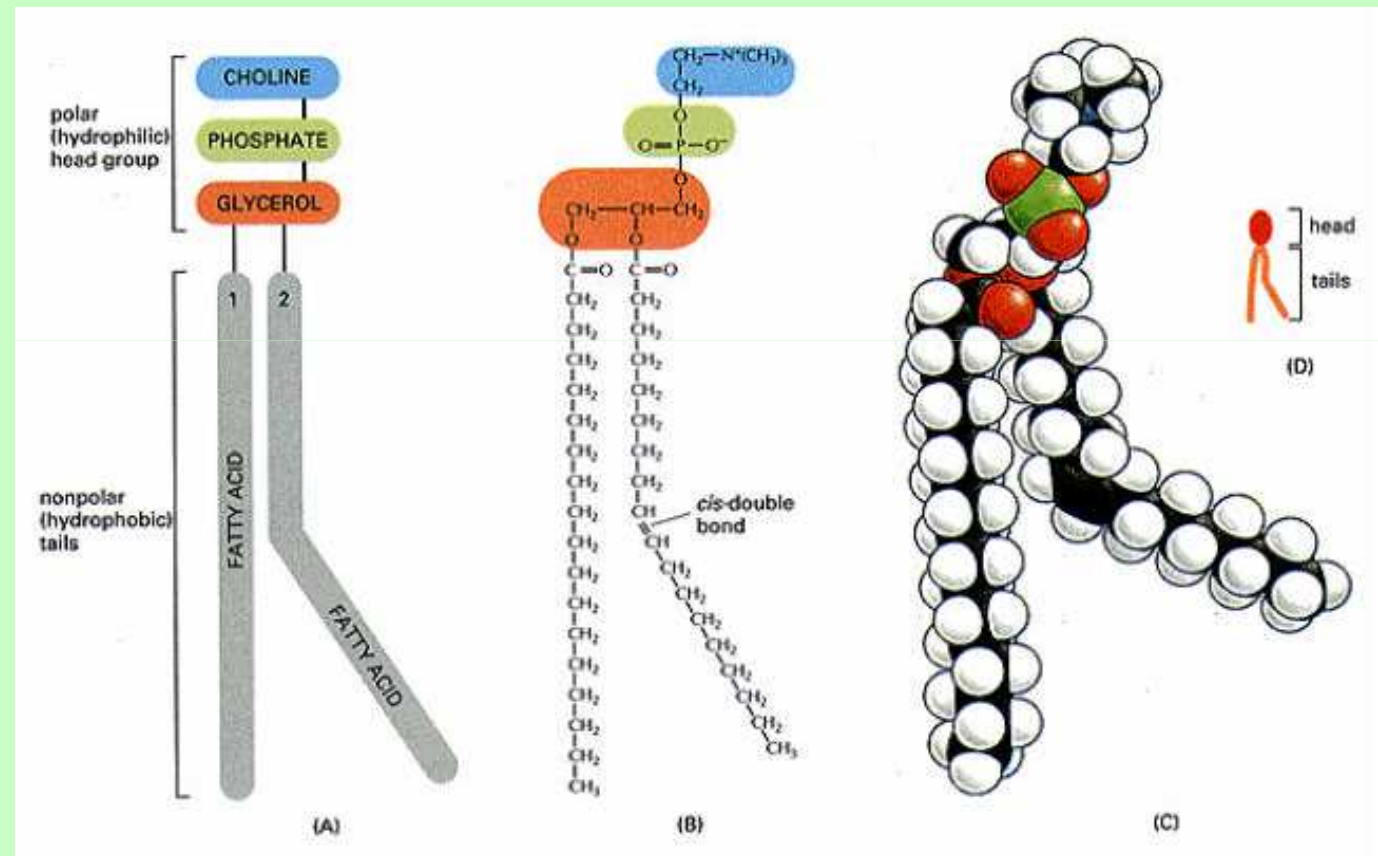
Prokarióta sejtek evolúciója eukariótává



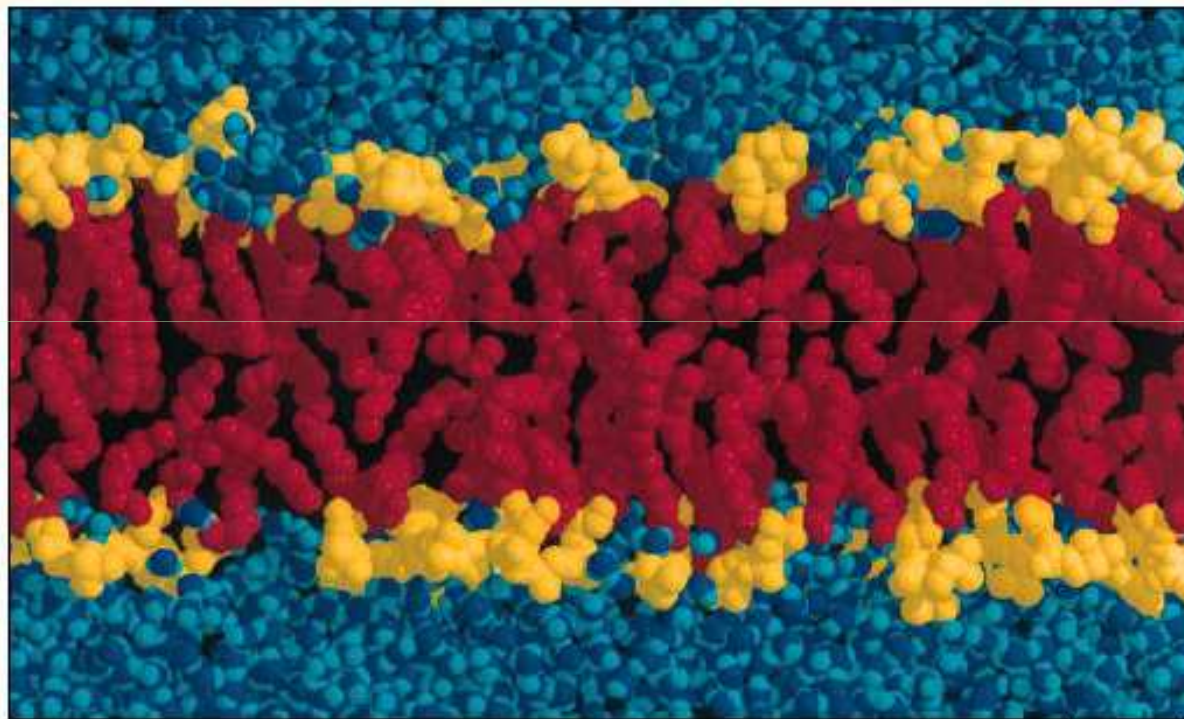
Biológiai membránok

1. Szerkezet: foszfolipid kettősréteg + fehérjék

A foszfolipid molekulák két részből állnak: apoláris (hidrofób) alkilán-cokból és poláris (hidrofil) foszfor-sav- és aminocsoportokból.

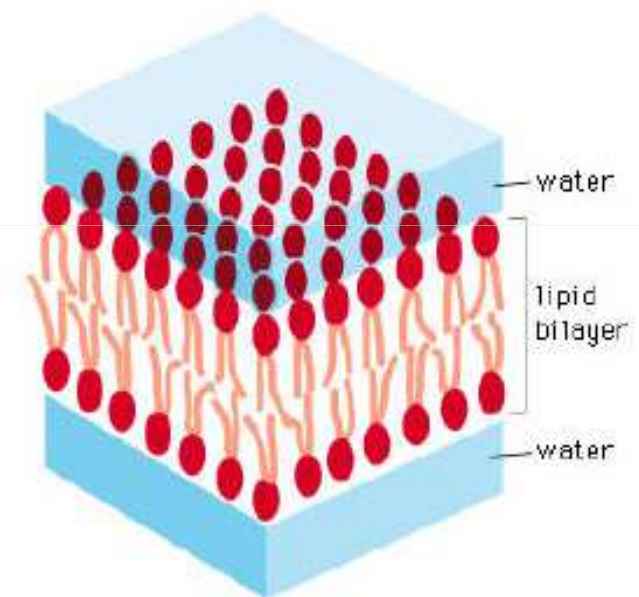


A foszfolipid kettősréteg szerkezete



(A)

1 nm



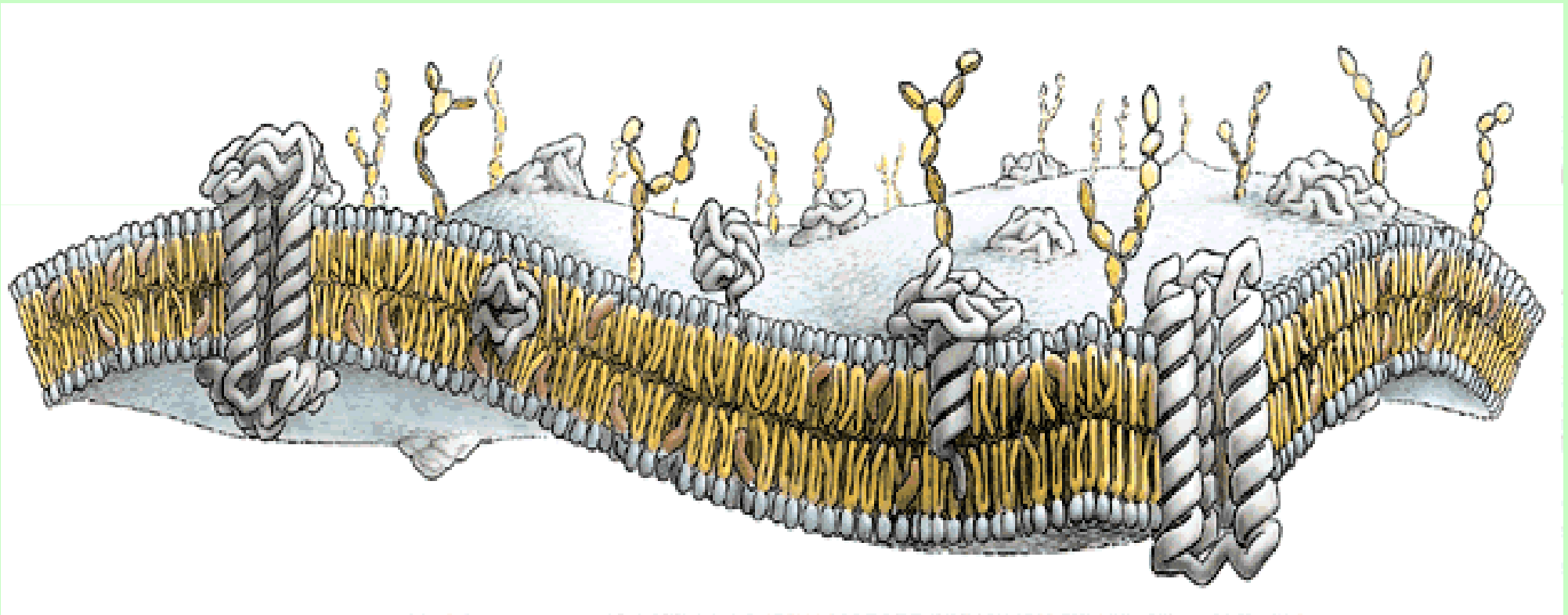
(B)



Membránfehérjék

Integráns és periferiális membránfehérjék

Folyékony mozaik modell



A membránok funkciói

Elválaszt és összeköt a külső térrel

- Diffúziós gát funkció – ozmotikus gát funkció
- Szelektív transzportok
- Transzportok típusai:
 - passzív transzport
 - aktív transzport
 - uniport
 - symport
 - antiport



Passzív transzport

Hajtóerő: koncentráció gradiens (→ diffúzió)

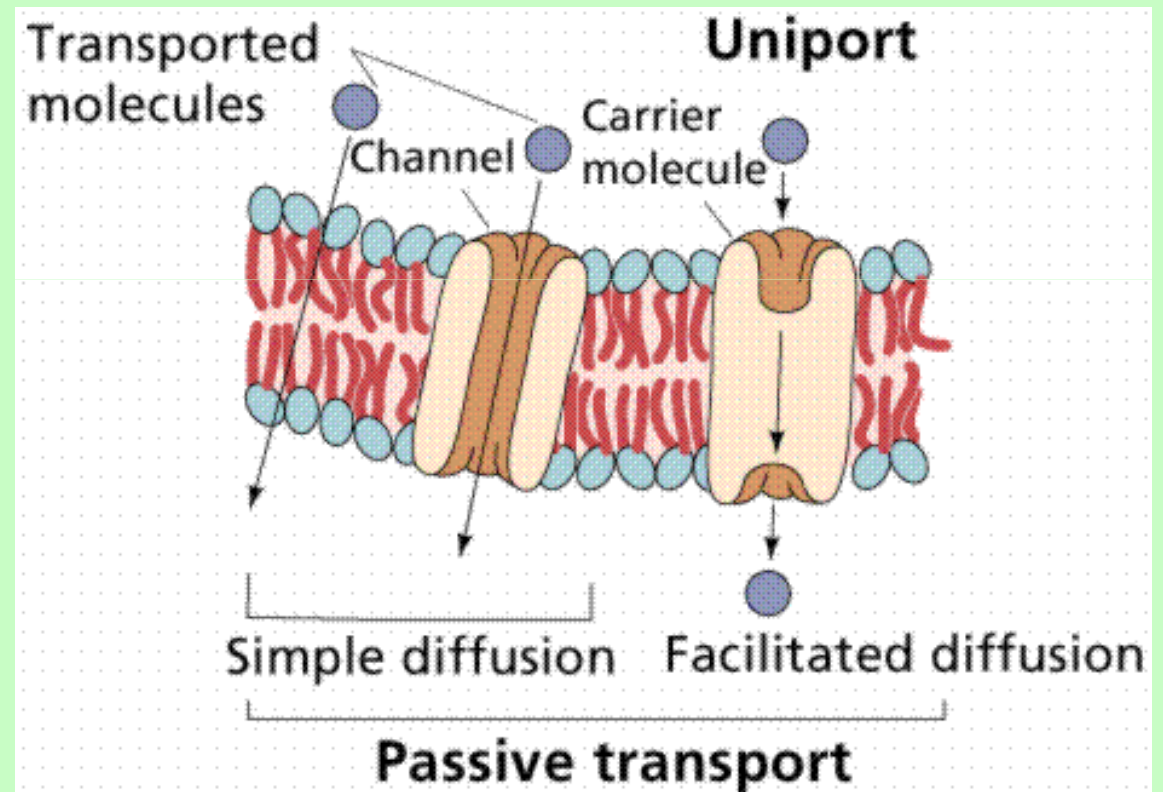
Energiát nem kell befektetni.

Lehet:

- Membrándiffúzió
- Pórusdiffúzó
- Hordozós diffúzió

Uniport:

a molekula átlépése független más molekulák transzportjától

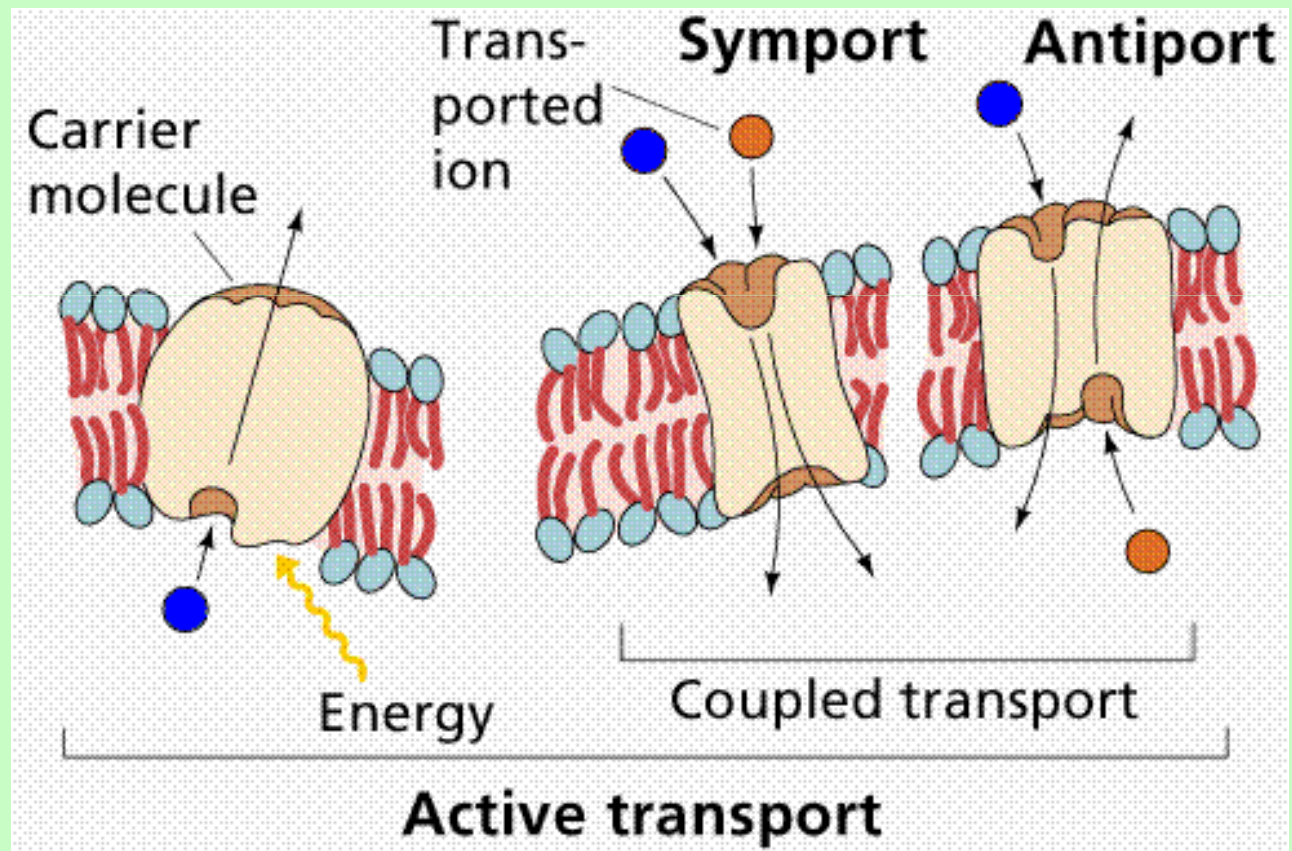


Aktív transzport

Koncentráció gradiens ellenében → energiát kell befektetni.
Aktív (energia-átalakító) transzport fehérje kell hozzá.

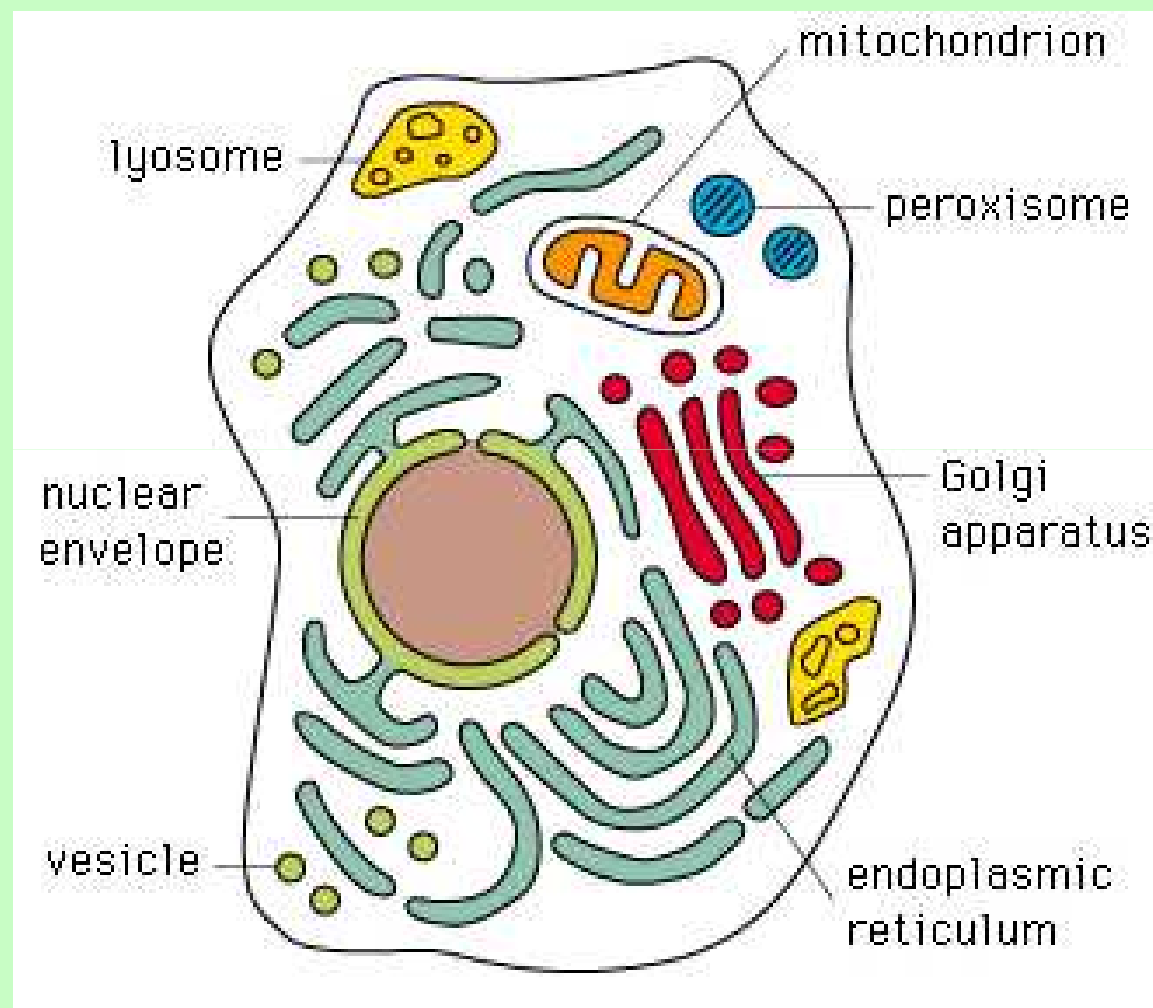
Szimport:
két molekula átlépése
együttesen, egy irány-
ban történik

Antiport:
két molekula átlépése
együttesen, ellentétes
irányban történik



Biológiai membránok egy eukarióta sejtben

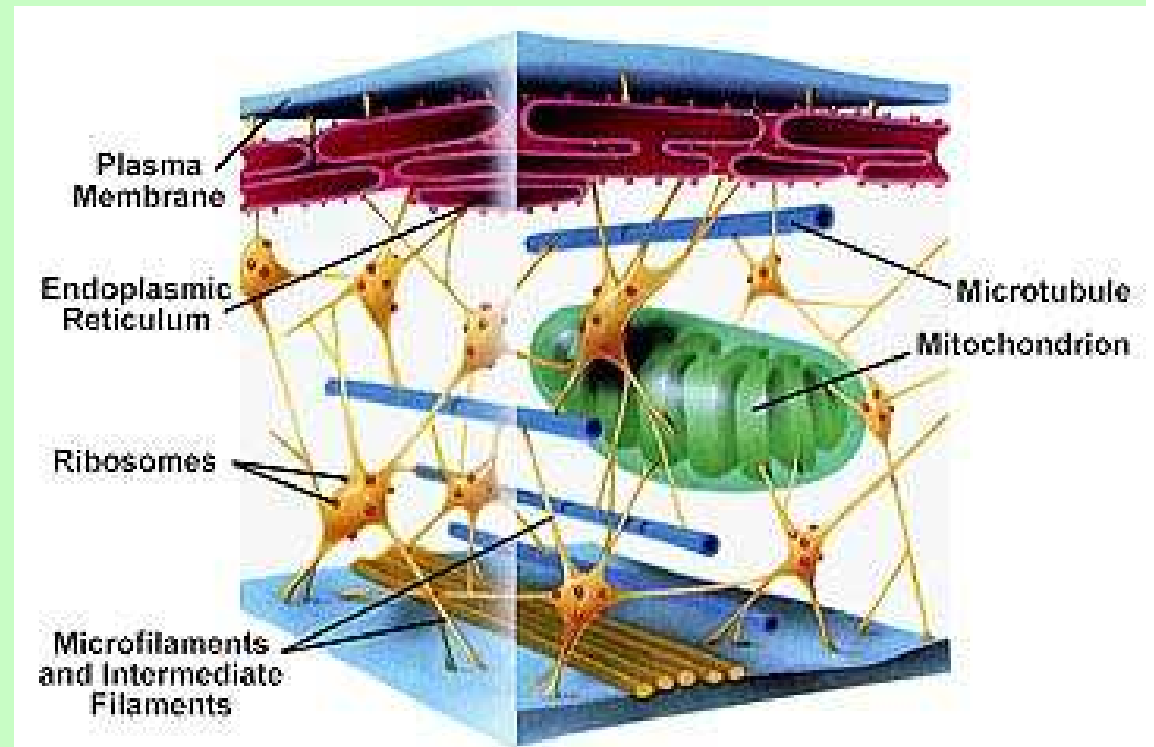
- Citoplazmamembrán (külső sejthártya)
- Sejtmaghártya
- Egyéb sejt szervecskék membránjai:
 - Mitokondrium
 - Endoplazmás retikulum
 - Golgi készülék
 - Kloroplaszt
 - Sejtzárványok burka
 - Speciális (retina, idegsejt)



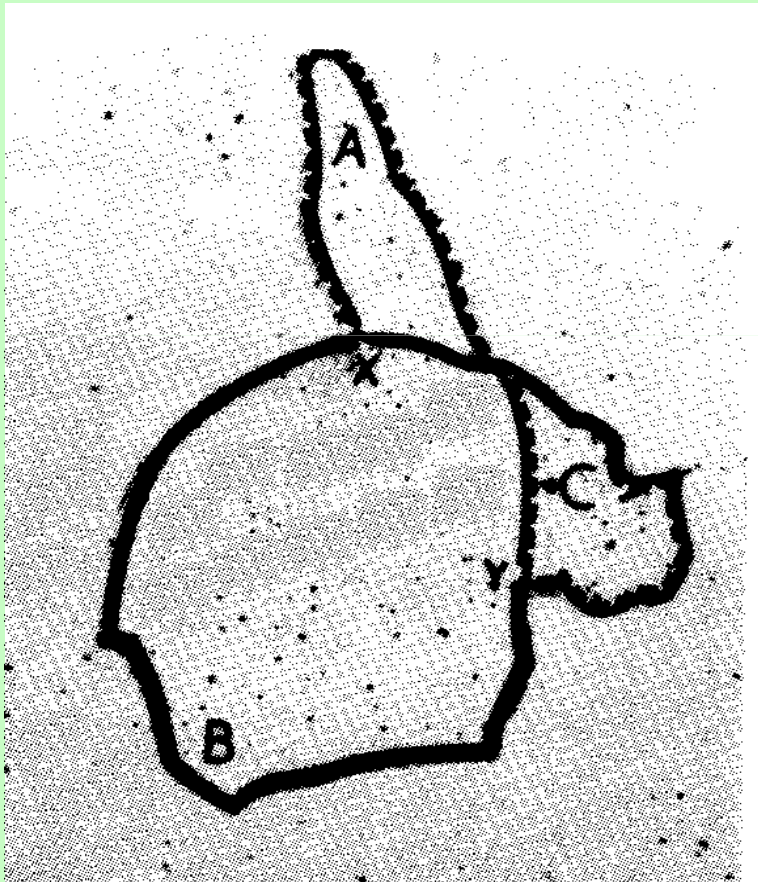
Citoplazma

Nem egyszerűen folyadék, szerkezete van és bizonyos mértékig rugalmasan alaktartó. Inkább *gélszerű*.

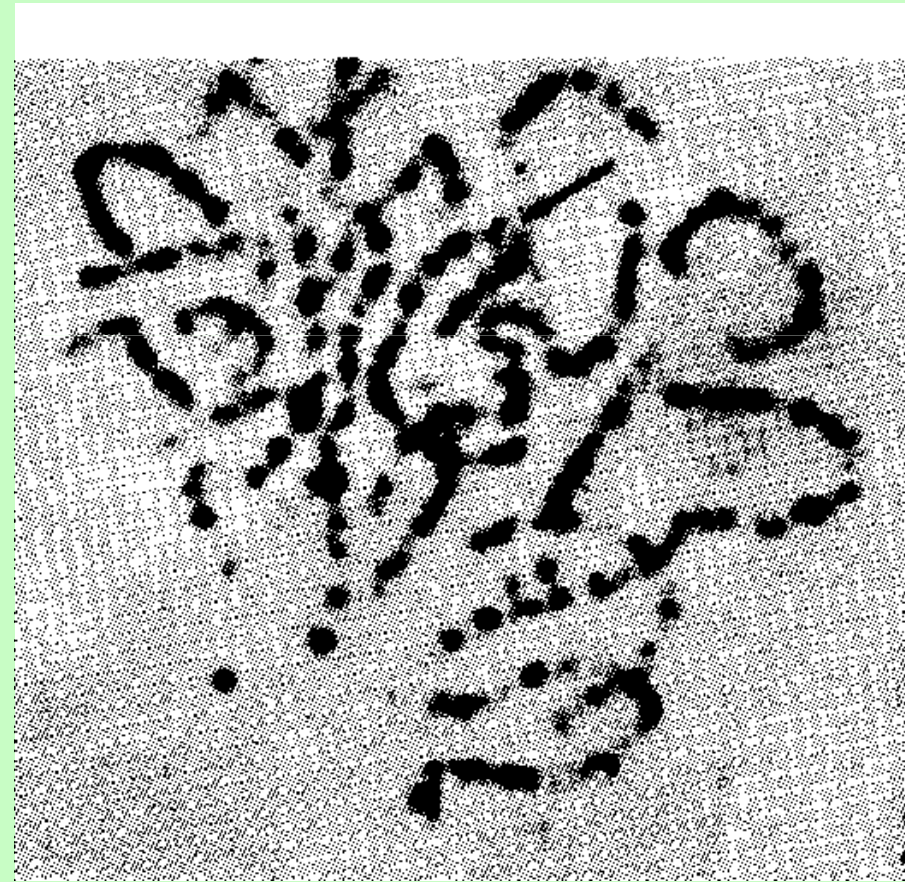
(Gélek: vannak olyan makromolekulák – fehérjék, szénhidrátok – amelyek oldatban térhálós szerkezetet hoznak létre, ezzel megfogják a folyadékot. Kvázi-szilárd, kissé rugalmas, könnyen deformálható – kocsonya, puding, zselé)



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

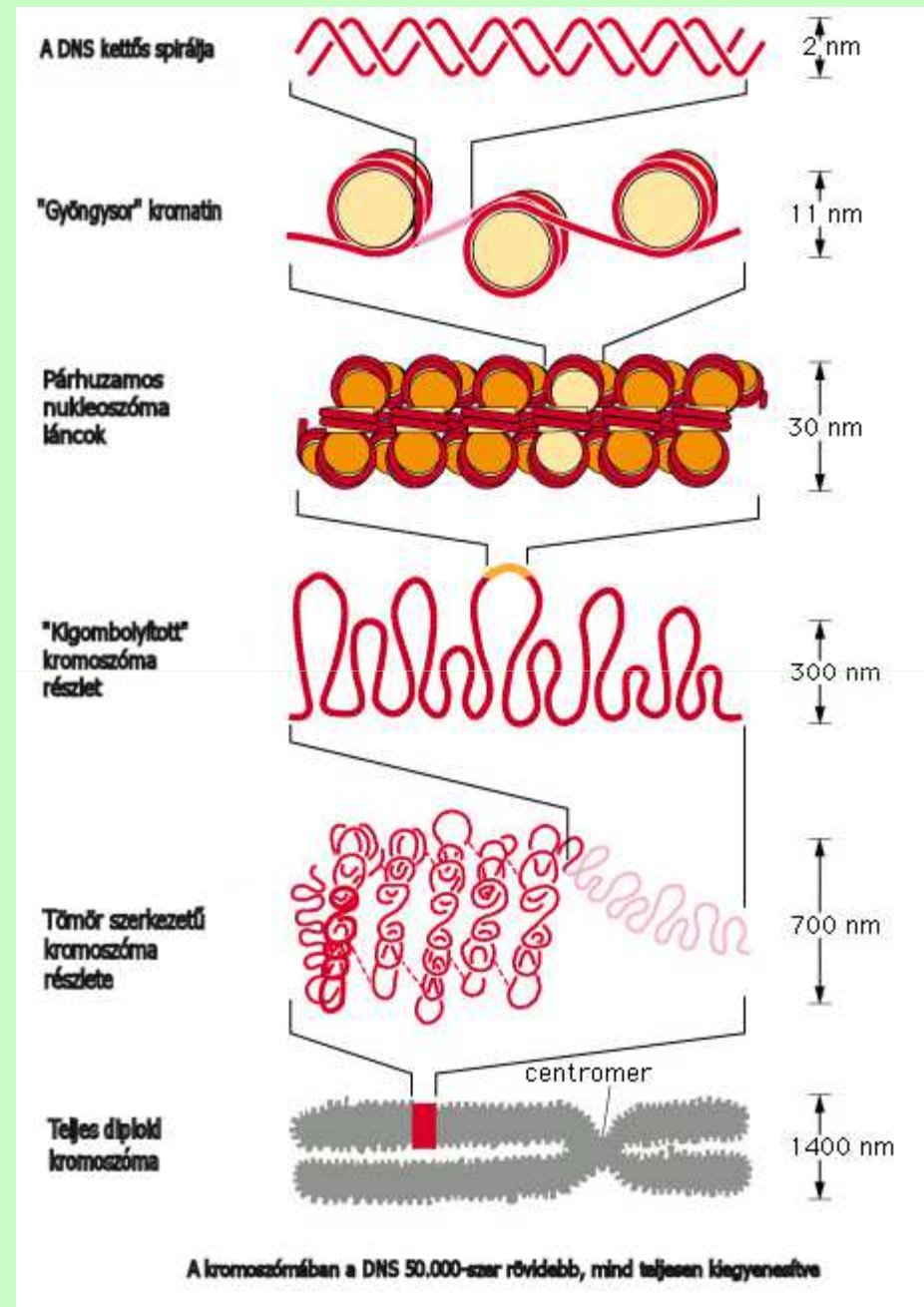


Eukarióta DNS
(kromoszómák)



A DNS tömörítése

- A DNS feltekert és többszörösen összehajtogatott formában tárolódik a kromoszómákban.
- A DNS szál kb. 50.000-szer hosszabb, mint a kromoszóma

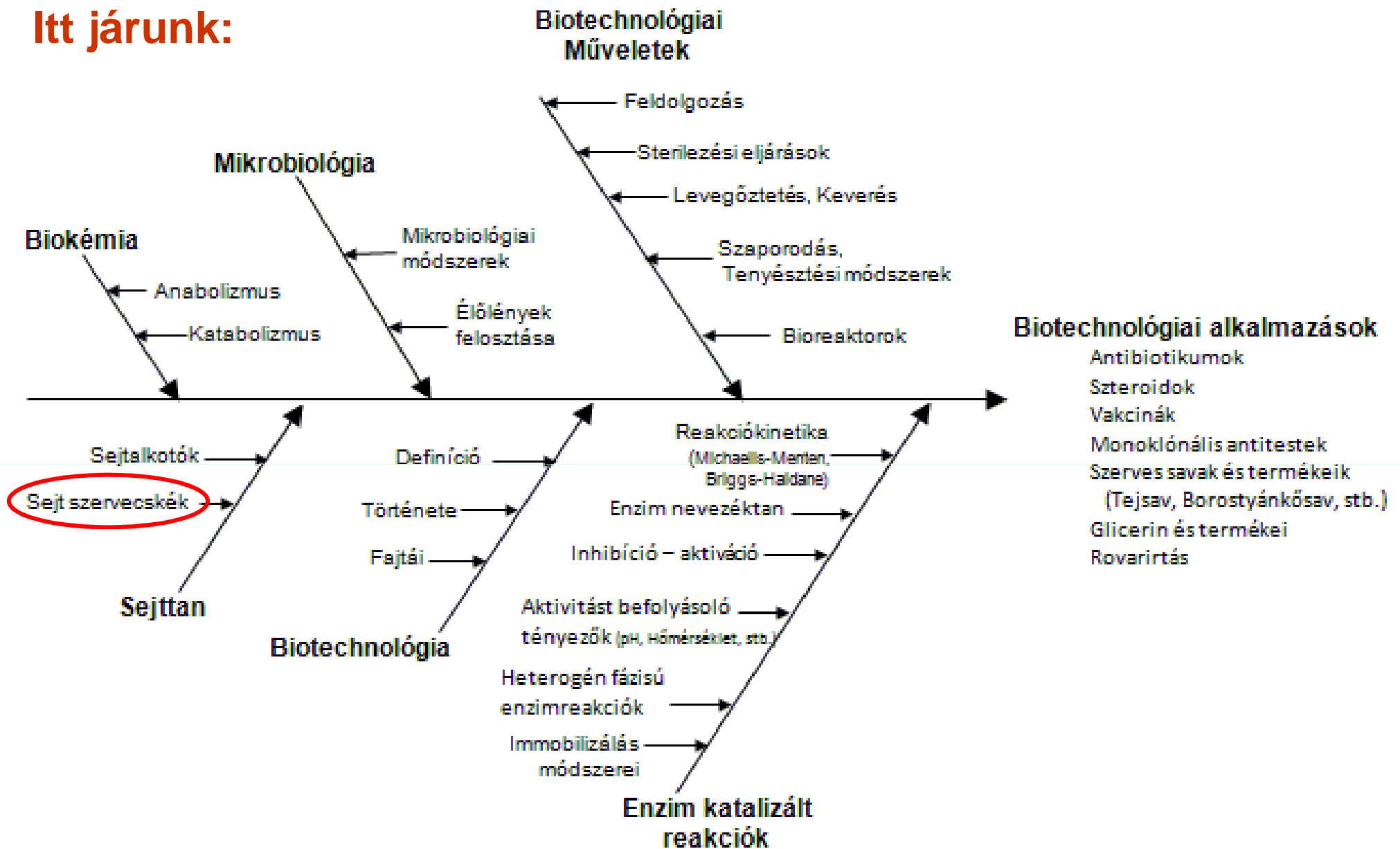


A DNS funkciói, működése

- 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, transzfer RNS) ezek bázissorrendje is itt tárolódik, szintézisük direkt átírással történik



Itt járunk:



Sejtfal

Állati sejtekben nincs!

A sejtfal a mikrobák számára mechanikai védelmet jelent, pl az ozmózisnyomás változásaival szemben. (Az állati sejteknek nincs sejtfaluk, nincs szükség ilyen védelemre.)

A sejtfalnak két alaptípusa van: Gram pozitív, és Gram negatív.

A Gram-festés

egy mikroszkópi festési eljárás. A sejteket kristály-ibolya oldattal festik, hővel fixálják, majd alkohollal kioldják a felesleges festéket. Amelyik sejtfal megkötí, és meg is tartja a festéket, az Gram pozitív, amelyik nem festődik, az a negatív.

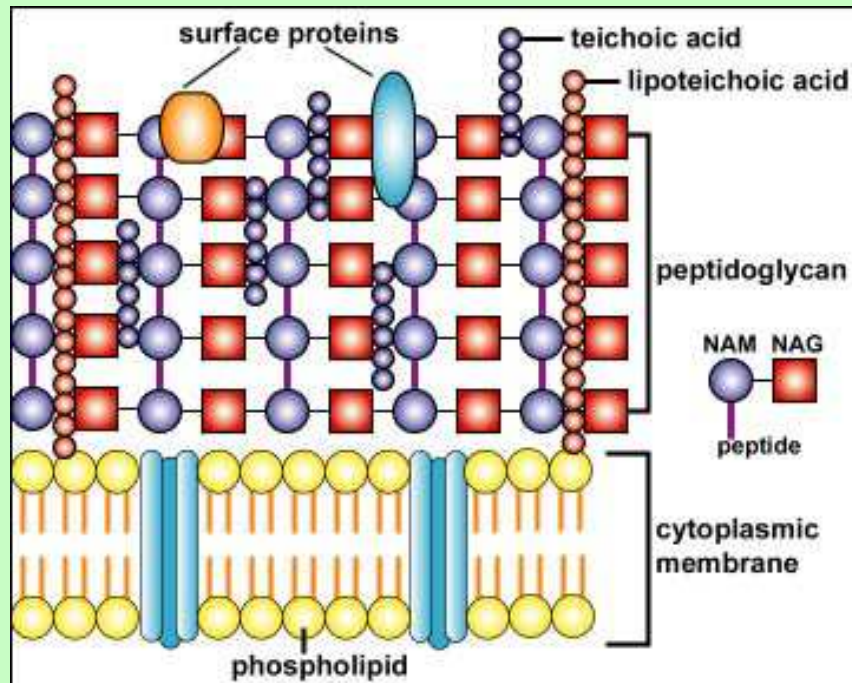


A kétféle sejtfalat eltérő rétegek alkotják

Csak prokariótákra vonatkozik!

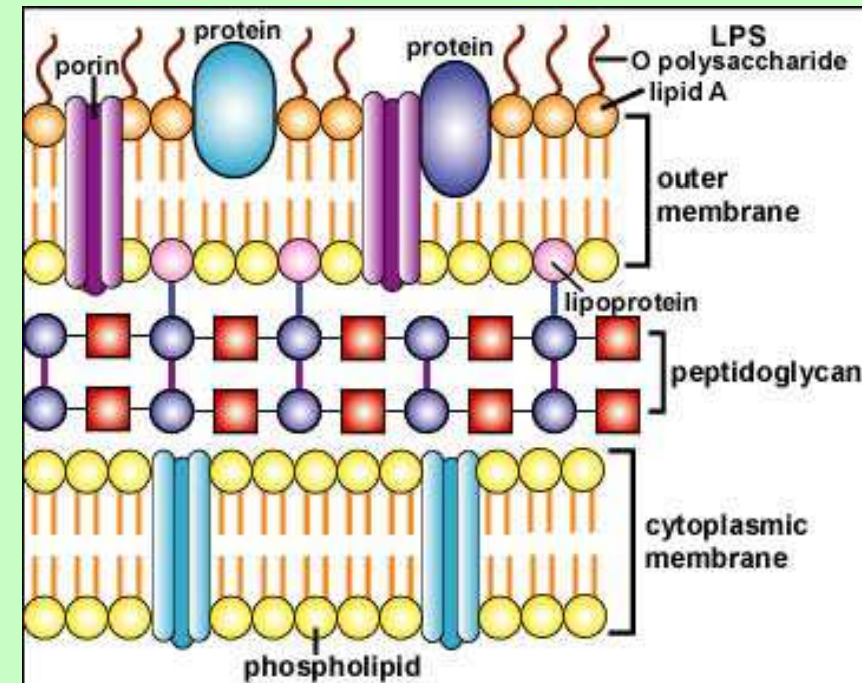
Gr- pozitív

citoplazmamembrán + egy vastag peptidoglükán réteg



Gr- negatív

két foszfatid membrán között egy vékony peptidoglükán réteg



N-acetylglucosamine (NAG), N-acetylmuramic acid (NAM)



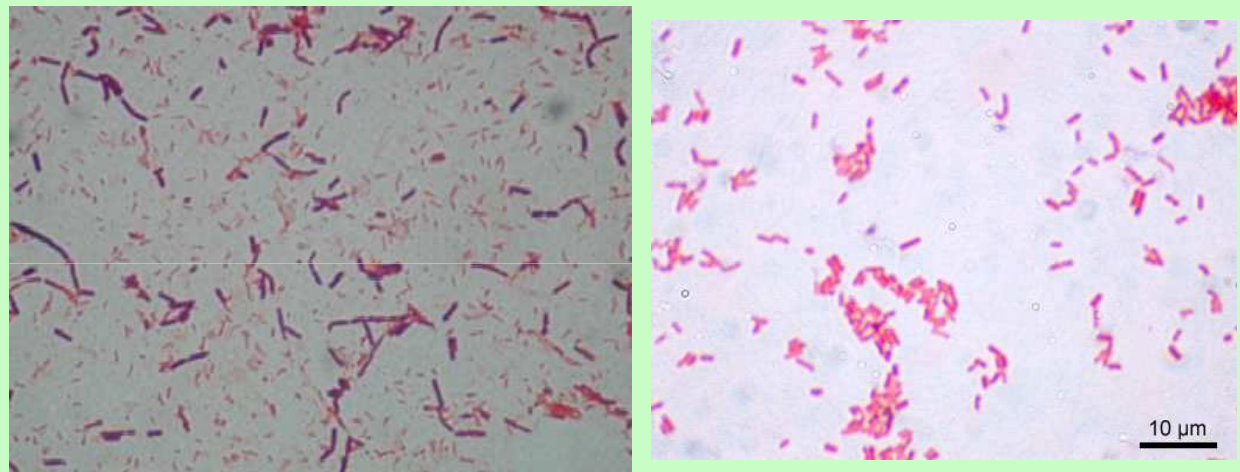
A Gram festés eredménye

Gr- pozitív



Streptococcus mutans

Gr-negatív



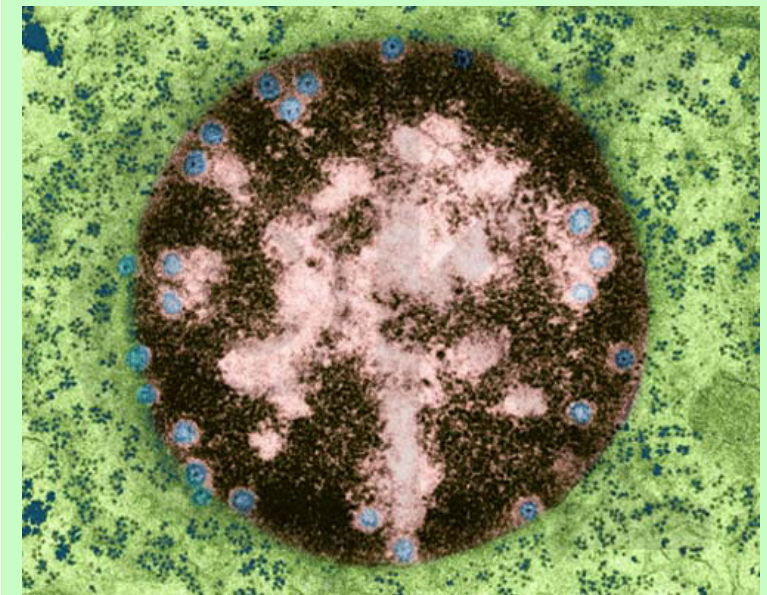
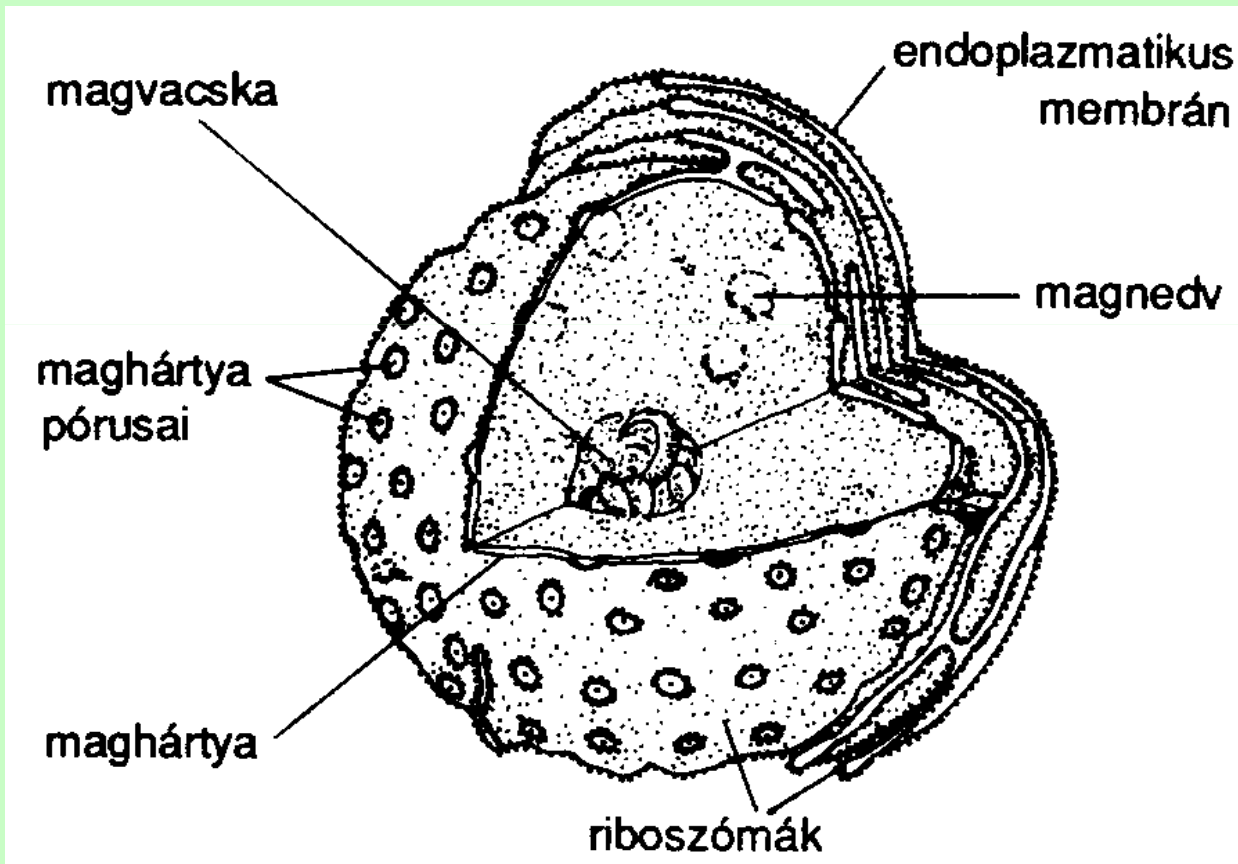
E. coli



Sejtmaghártya

Prokariótákban nincs!

Ezen pórusok, kapuk vannak, amelyeken a mRNS-ek kilépnek a citoplazmába.



Endoplazmás retikulum és a Golgi komplex

Prokariótákban nincs!

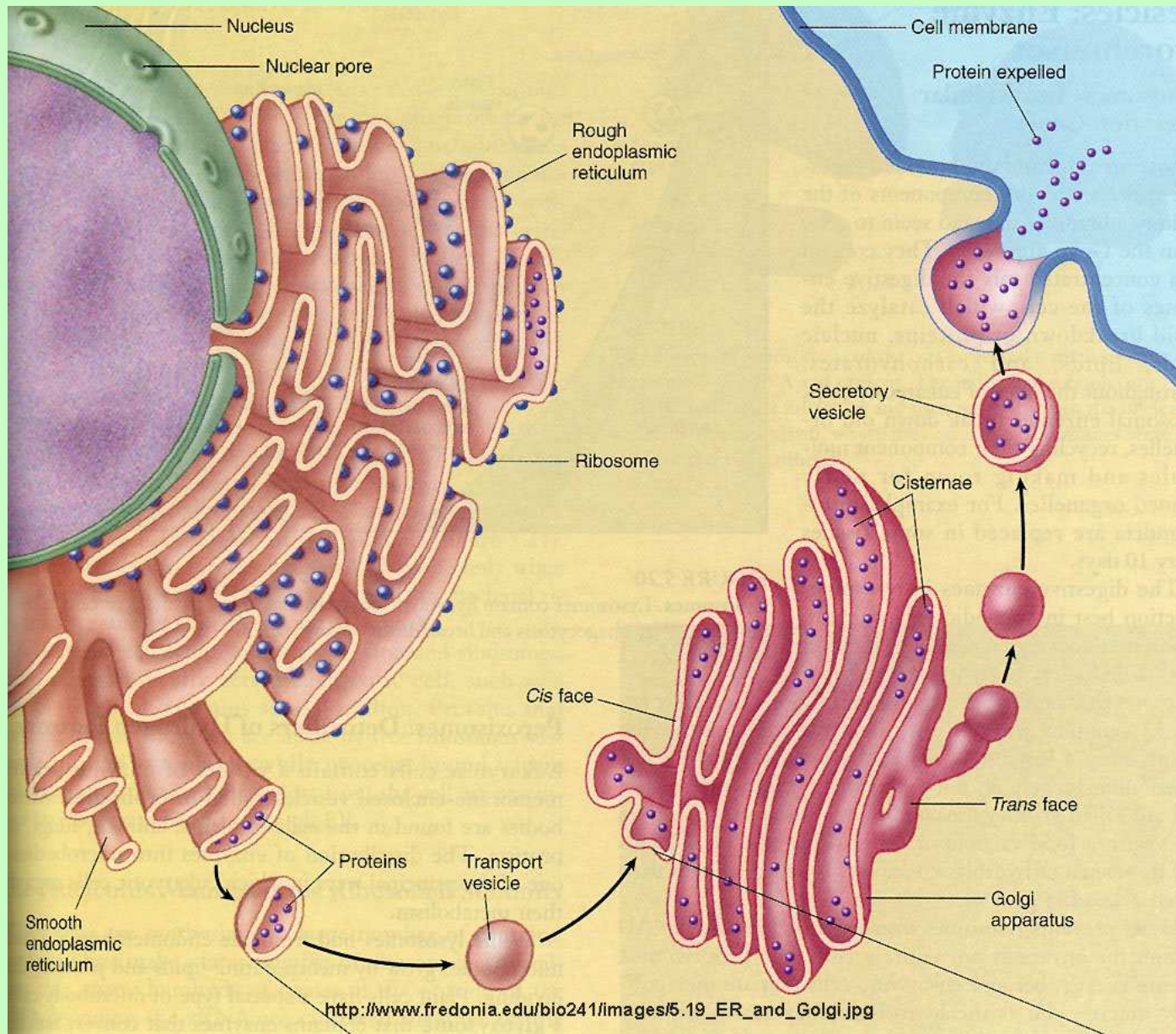
Endoplazmás retikulum: lapos membrán-tasakok, amelyek több rétegben körülveszik a sejtmagot.

DER: durvaszemcsés endoplazmás retikulum, a felületén lévő szemcsék a riboszómák (→ fehérjeszintézis)

Golgi: ez is lapos membrán-zsákok rendszere, a sejtmagtól távolabb helyezkedik el.

A képződő fehérjék az ER belsejébe kerülnek, érésük során áthaladnak a Golgi komplex rétegein, végül rendeltetési helyükre (a sejten belül vagy kívül) kerülnek. Ez a transzport vezikulákban (kisebb, lipidmembránnal körülvett cseppekben) történik.

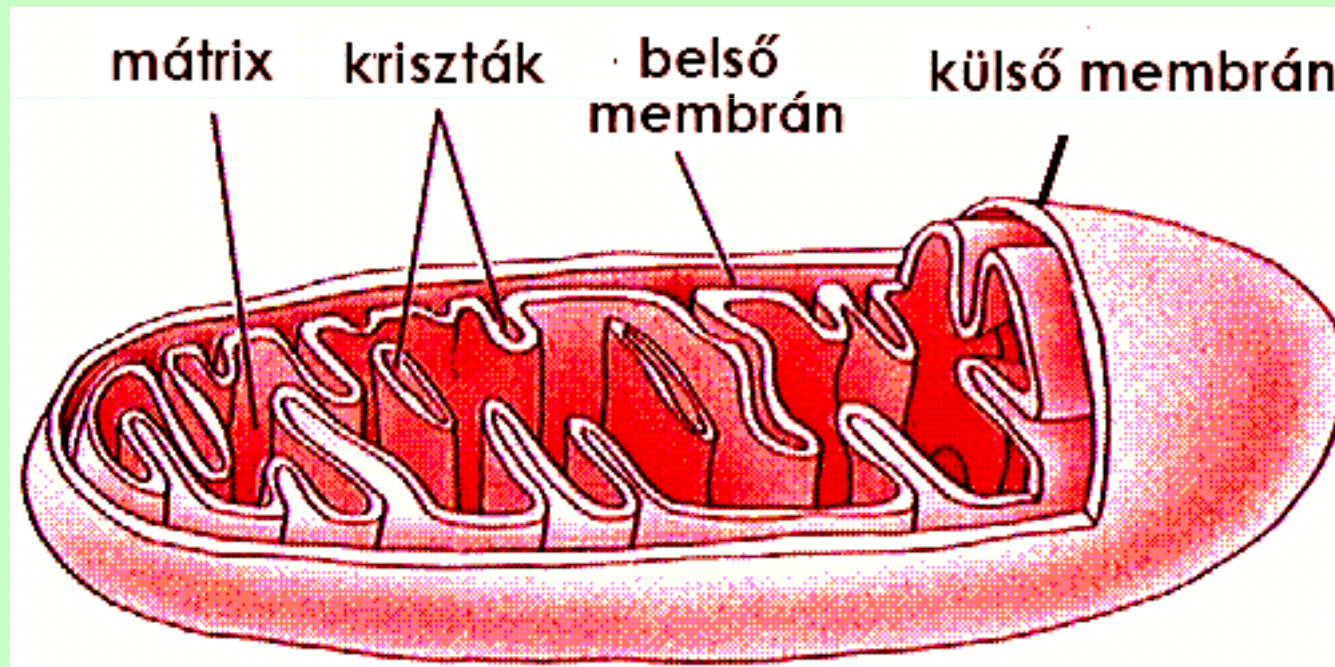


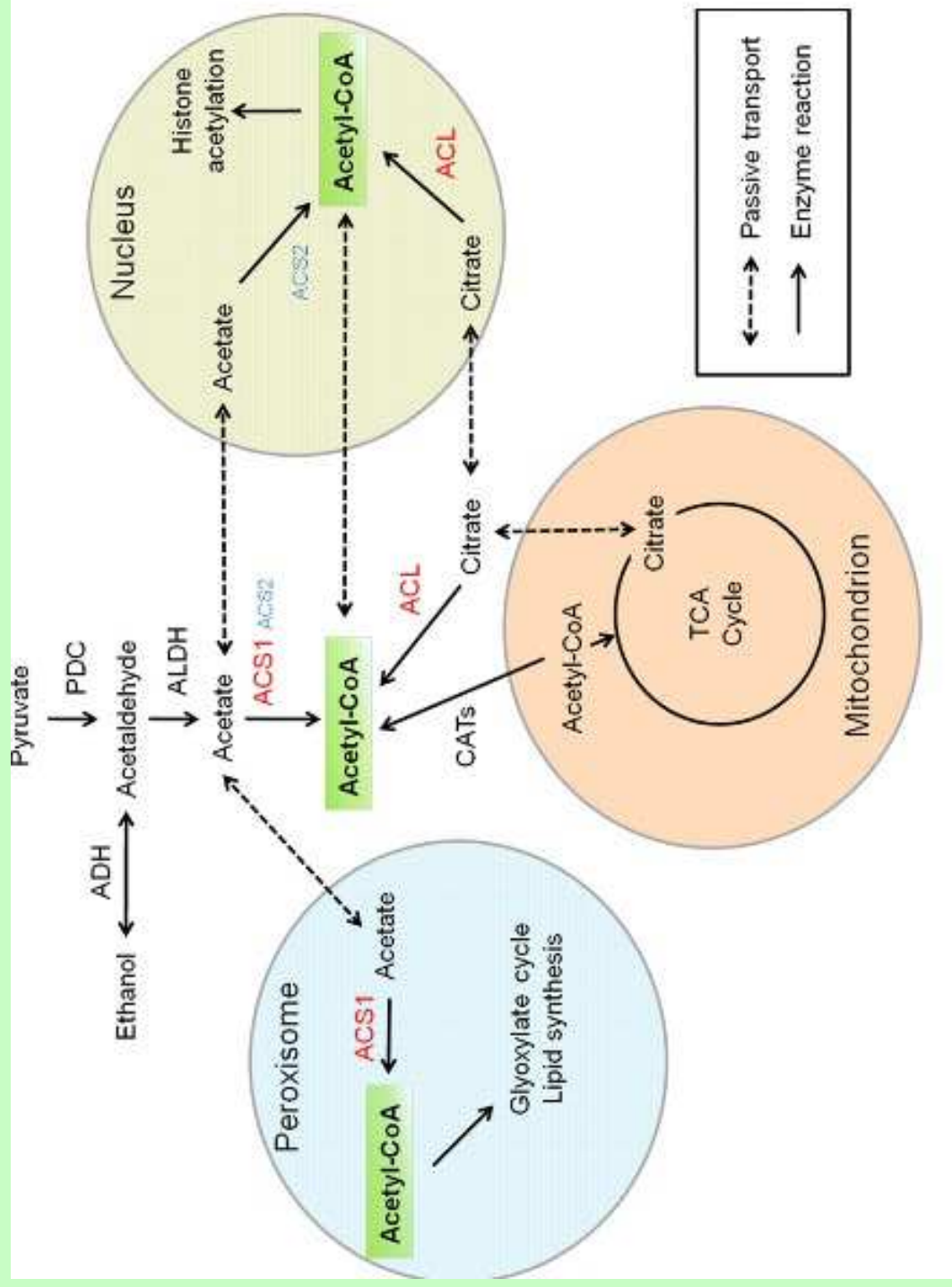


Mitokondriumok szerkezete

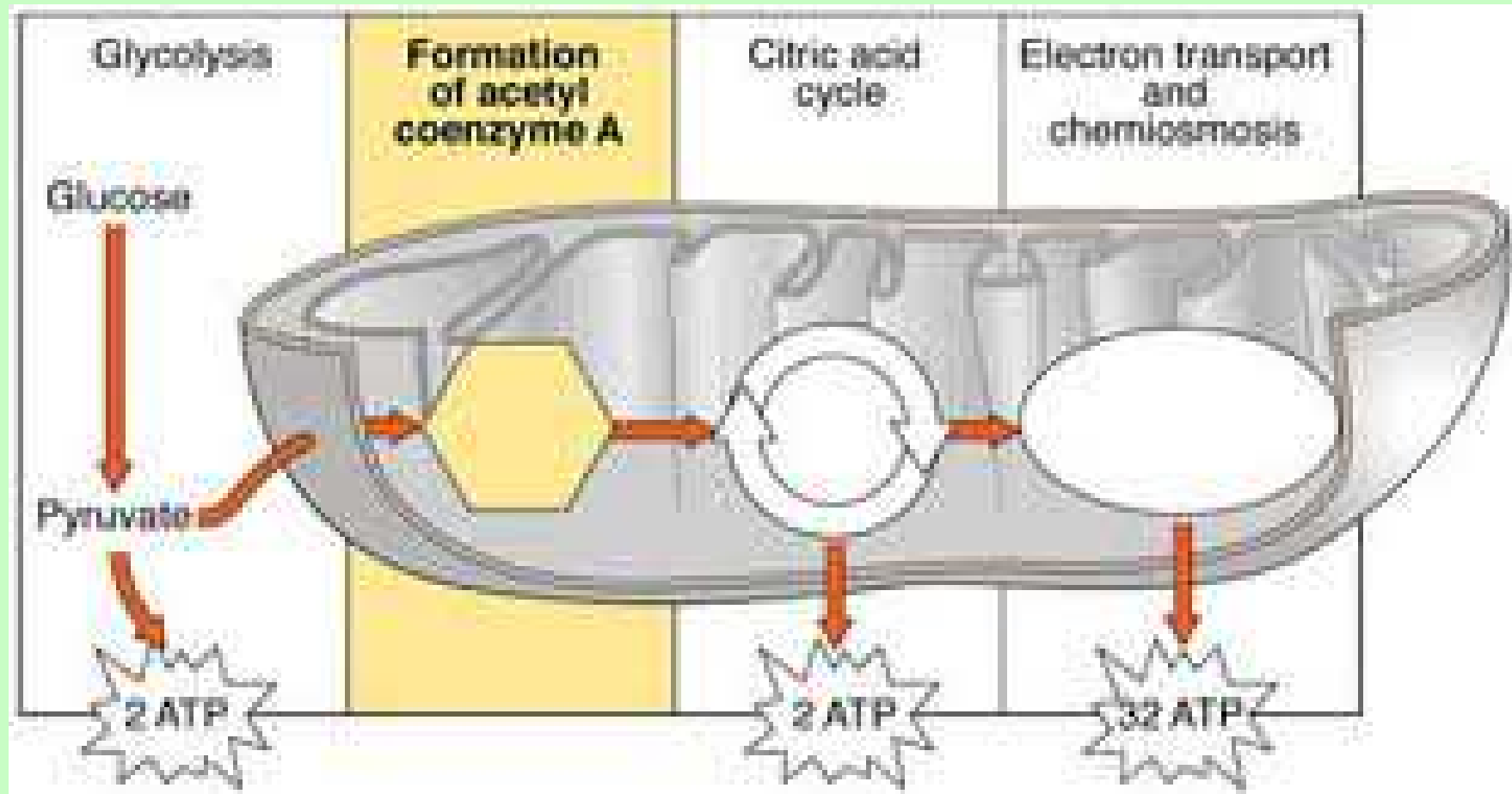
Prokariótákban nincs!

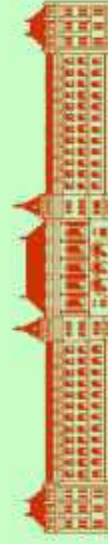
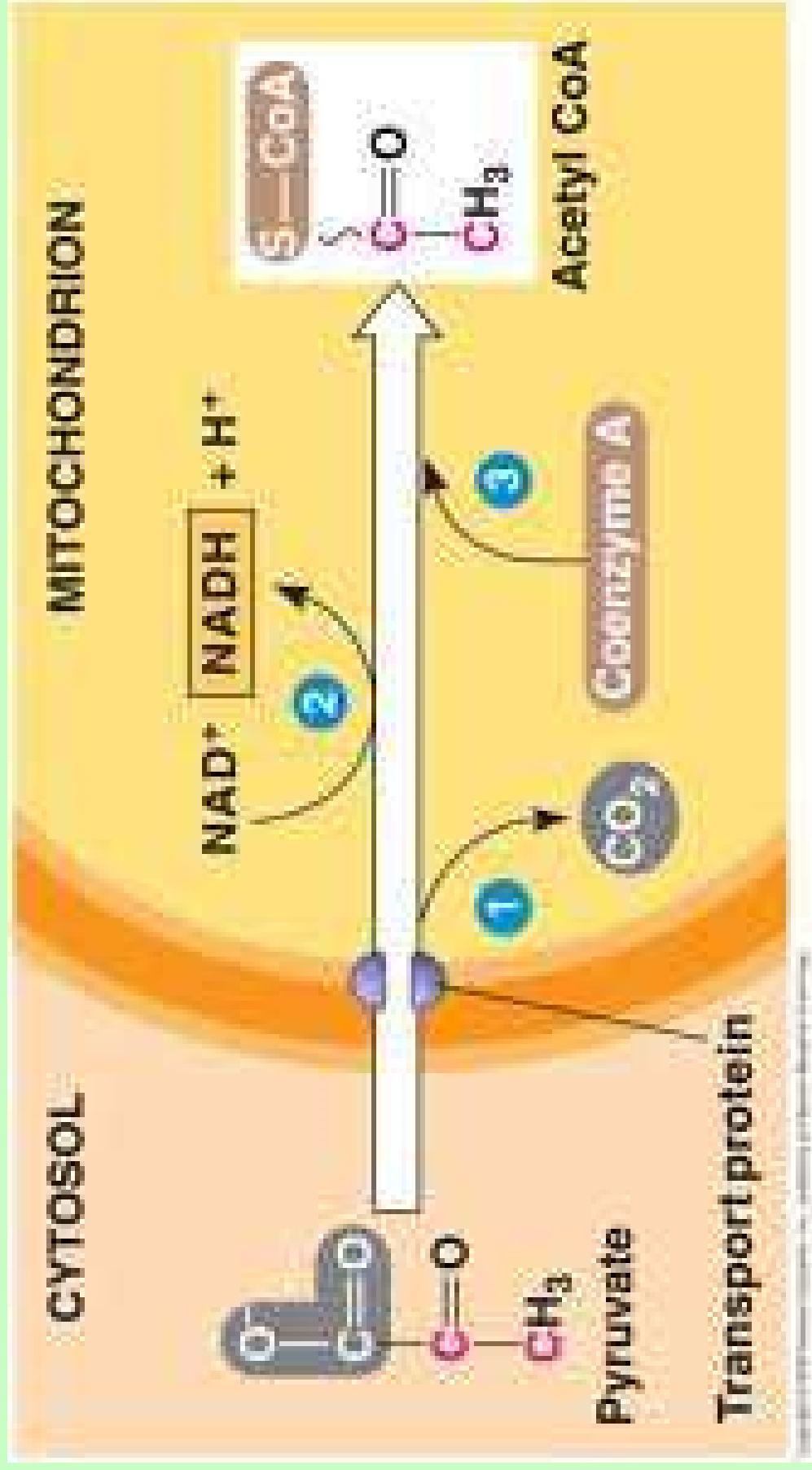
- Jól észlelhető hosszúkás szemcsék
- Akár több ezer/sejt
- Csak eukariótákban





Mitokondriumok – energiatermelő funkciók





Terminális oxidáció

Az egyes reakció lépések energiája ATP szintézist tesz lehetővé. Az egyes enzimek (citokrómok) olyan redox rendszereket alkotnak, amelyek egymásnak adják az elektronokat.

