

Biokémia vizsga

2014. június

Témakörök

I. Az élő szervezet molekulái	3
1. a genetikai információ áramlása: DNS, RNS, fehérjék.....	3
2. a fehérjék szerkezete és funkciói.....	7
3. az enzimek működése: a Michaelis-Menten egyenlet.....	10
4. vizsgálati módszerek: NMR, krisztallográfia stb. (vázlatosan)	13
5. Szénhidrátok, lipidek vitaminok	18
II. A szervezet energiaháztartása	22
1. glikolízis.....	22
2. citrát kör	27
3. oxidatív foszforiláció.....	29
4. az energia tárolása: zsírok és glikogén.....	33
III. Bioszintézis és lebontás.....	34
1. DNS-szintézis: replikáció.....	34
2. RNS-szintézis: transzkripció, splicing.....	38
3. fehérjeszintézis: transzláció.....	41
4. fehérje lebontás: proteolízis.....	43
5. rekombináns DNS technológia	44
IV. Lipidek, membránok, izomműködés	46
1. rossz és jó koleszterin: LDL, HDL	46
2. a membránok felépítése.....	47
3. membrántranszport	49
4. ioncsatornák	52
5. érzékelés és mozgás.....	54

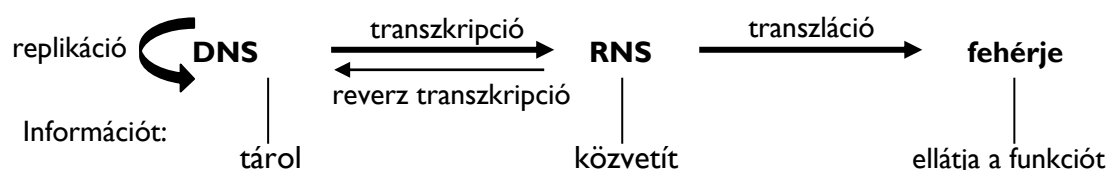
I. Az élő szervezet molekulái

I. 1. A genetikai információ áramlása: DNS, RNS, fehérjék

Az „öt ország” elméletét az utóbbi években leváltotta a „három domén” elmélet, amely a legújabb genetikai eredmények alapján sorolja az élőlényeket az alábbi csoportokba:

- baktériumok
- archeák
- eukarióták

A genetikai információ áramlásának centrális dogmája (James Watson), és az egyes lépések nevei:



Más néven: **genom, transzkriptom, proteom**

A **replikáció** az a folyamat, melynek során a DNS megkettőződik a DNS polimeráz enzimek segítségével.

A **transzkripció** az RNS szintézise DNS templátról az RNS polimeráz segítségével.

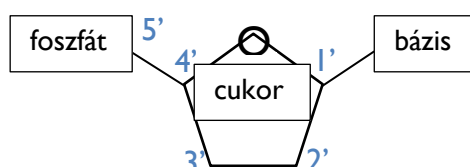
A **reverz transzkripció** retrovírusokra jellemző, melyek egyszálú RNS-el rendelkeznek, az azt végrehajtó enzim a reverz transzkriptáz. E folyamat segítségével a vírus képes DNS-szakaszokat létrehozni, amelyek beépülnek a sejt genomjába.

A **transzláció** a fehérje szintézise RNS templátról a riboszómákon.

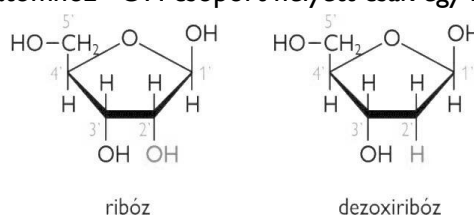
Egyes elméletek szerint (RNS világ) az élet kezdetén RNS molekulák voltak az információ hordozói (ma ez a DNS) és a reakciókat elősegítő enzimek is - **ribozimek** (ma ezek túlnyomó részt fehérjék).

A DNS és RNS láncok alkotói a **nukleotidok**, amelyek **nukleinsavakból** és **purin- és pirimidinbázisokból** állnak.

Egy **nukleinsav** alapszerkezete:



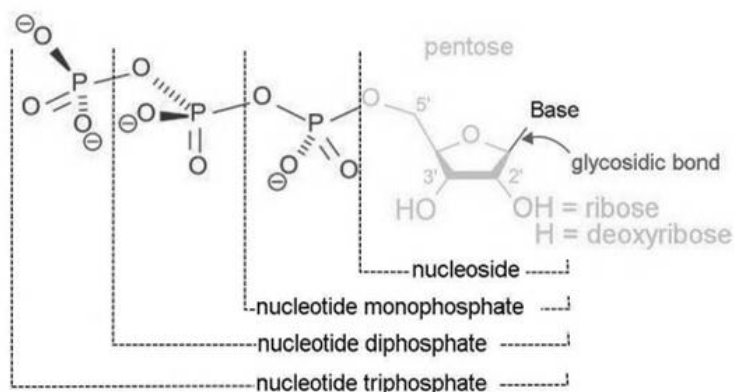
A cukrok lehetnek: **ribóz** vagy **dezoxiribóz**. Az RNS-ben található ribóz annyiban különbözik a dezoxiribóztól, hogy a 2' szénatomhoz –OH csoport helyett csak egy hidrogén csatlakozik:



Az –OH csoporthoz kapcsolódhat a 4 különböző bázis. A cukor + bázis csoportot **nukleozidnak** nevezzük.

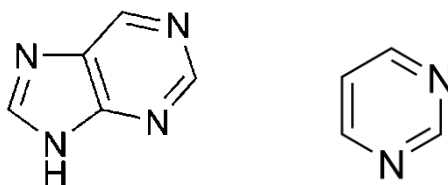
A HO-CH₂ csoportokhoz kapcsolódhatnak a foszfátcsoporthoz - ha egy, akkor mono-, ha több, akkor di- és trifoszfátoktól beszélünk.

Az így létrejövő **nukleotidot** a hozzákapcsolódott bázistól és a foszfátcsoporthoz számától függően nevezzük el, pl. citidin-monofoszfát, adenozin-trifoszfát.



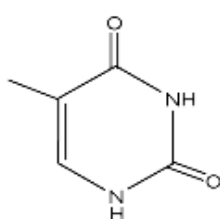
A négy bázis: **A**denin, **C**itozin, **G**uanin, **T**imin (+ RNS: **U**racil).

Az alapjukként szolgáló **purin** és **pirimidin**:

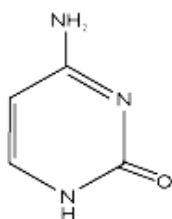


Purinbázisok: A, G

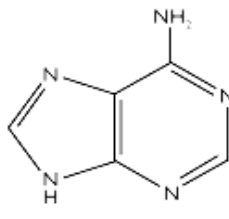
Pirimidinbázisok: C, T, U



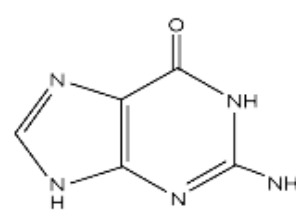
timin



citozin



adenin

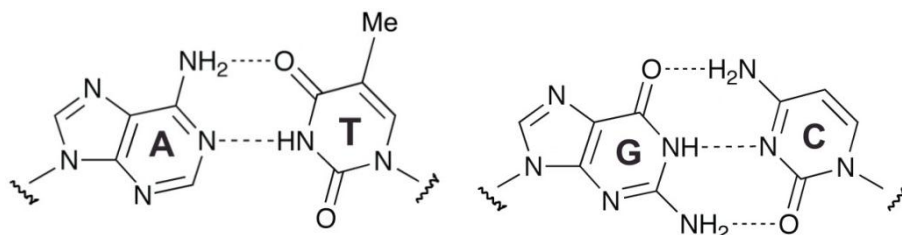


guanin

A DNS és RNS szekvencia konvenció szerint 5' → 3' irányban halad.

A DNS stabilabb, mint az RNS, főleg lúgos közegben, mivel az RNS –OH csoportja ott könnyen hidrolizál (szomszédcsoporthatás).

A bázispárosodás elve: purin-pirimidin párok jönnek létre, 2 vagy 3 hidrogén-híd kötéssel összekapcsolva, az alábbi módokon: **A=T** (vagy U), **G≡C**



A DNS két, ellentétes irányú szálból áll, melyek egymás komplementerei:

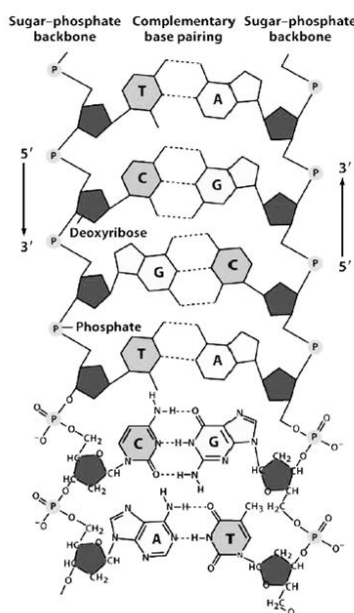
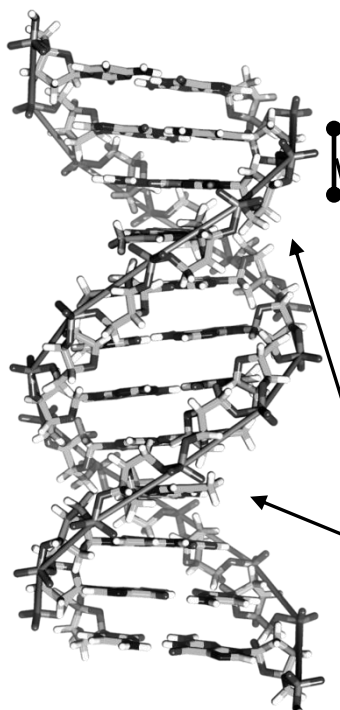


Figure 3-8 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2005 John Wiley & Sons



A DNS **kettős spirál** szerkezetének felfedezése **Watson** és **Crick** nevéhez köthető, e mellett Rosalind **Franklin** és Maurice **Wilkins** is sokban hozzájárult.

A cukor-foszfát alkotja a spirál vázát, kívül található, a bázispárok belül, a tengelyre nagyjából merőleges síkban helyezkednek el.

Egy „lépcsőfok” kb. 3.4 Å.

Egy 360°-os fordulatban kb. 10 bázis helyezkedik el, a spirál átmérője pedig kb. 20 Å.

A spirál kicsit el van „csúsztatva”, ezért található rajta kis árok (**minor groove**) és nagy árok (**major groove**).

Az örökítőanyag vírusokban ettől igen eltérő formákban is megjelenhet:

- cc ss DNS (circularly closed single stranded) – cirkuláris, zárt, egyszálú.
pl. M13 bakteriofág.
- cc ds DNS (circularly closed double stranded) – cirkuláris, zárt, kétszálú.
pl. λ-fág.
- kétszálú, lineáris DNS. pl. bárányhimlő (varicella) vírus.
- egyszálú, anti-sense RNS. pl. influenza.
- egyszálú, sense RNS. pl. HIV.
- kétszálú RNS. pl. rotavírusok.

Baktériumokban (pl. e. coli) általában **cirkuláris kromoszoma** található, kicsi, extrakromoszomális kettős szálú cirkuláris szakaszokkal (**plazmidok**).

Az emberi DNS lineáris, kettős szálú, 24 db többszörösen strukturált kromoszómába rendezve, e mellett a sejtekben még található **mitokondriális DNS**, amely **cirkuláris, kettős szálú**.

Gén: egy olyan DNS szakasz, amely egy géntermék (polipeptid vagy RNS) szintéziséhez szükséges információt tárolja.

A szűken vett definíció csak a **struktúrgént** jelenti (polipeptid vagy RNS elsődleges szekvenciáját kódoló DNS), a tágabb definícióba beleértjük a **regulátor szekvenciákat** (promóterek, enhancerek, stb.) is.

Az RNS különböző típusai, és az általuk ellátott feladat:

- **mRNS** (messenger) hírvivő, fehérjeszintézis.
- **tRNS** (transfer) fehérjeszintézis.
- **rRNS** (ribosomal) fehérjeszintézis.
- **ribozim** – enzimatis aktivitással rendelkező RNS.
- **snRNS** (small nuclear) enzim komplexek része, a splicingban van szerepe.

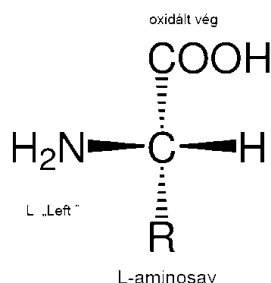
I. 2. A fehérjék szerkezete és funkciói

Fehérje: aminosavakból felépülő polipeptidláncok, melyeket peptidkötés tart össze. Számos biológiai funkciót látnak el:

- szerkezetkialakítás (citoszkeleton, kollagének stb.)
- enzimek
- transzportfolyamatok, tárolás
- hormonok
- mozgás pl. aktin, miozin
- immunitás

A fehérjék építőkövei a 20-féle **aminosav**. A természetben általában L, α -aminosavak találhatók, amelyek kb. 10^{12} fehérjét alkotnak.

Egy aminosav alapszerkezete (a kiralitást szemléltető Fischer-projekcióban):



A központi α -szénatomra kapcsolódik egy **amino-**, egy **karboxilcsoport**, és egy minden aminosavnál különböző oldallánc (R). Az aminosavak leggyakrabban **ikerionos** (zwitterionos) szerkezetet vesznek föl, a karboxilcsoportból leválik a hidrogén (COO^-), míg az aminocsoporthoz hozzákapcsolódik egy (H_3^+N).

Az aminosavak csoportosítása:

- **apoláros, nem aromás:**
glicin (Gly, G), alanin (Ala, A), valin (Val, V), leucin (Leu, L), izoleucin (Ile, I), prolin (Pro, P)
- **aromás**
fenilalanin (Phe, F), tirozin (Tyr, Y), triptofán (Trp, W)
- **poláros, töltéssel nem rendelkező**
szerin (Ser, S), treonin (The, T), cisztein (Cys, C), metionin (Met, M), aszparagin (Asn, N), glutamin (Gln, Q)
- **savas**
aszpartát (Asp, D), glutamát (Glu, E)
- **bázikus**
lizin (Lys, K), arginin (Arg, R), hisztidin (His, H)

Néhány különlegesebb közülük:

Glicin: a legkisebb aminosav, nincs oldallánca, mindössze egy H. E miatt az összes többi aminosavval ellentétben nem királis. Nehezen helyettesíthető más aminosavakkal.

Alanin: fontos szerepet játszik a glikolízisben és a citromsav-ciklusban.

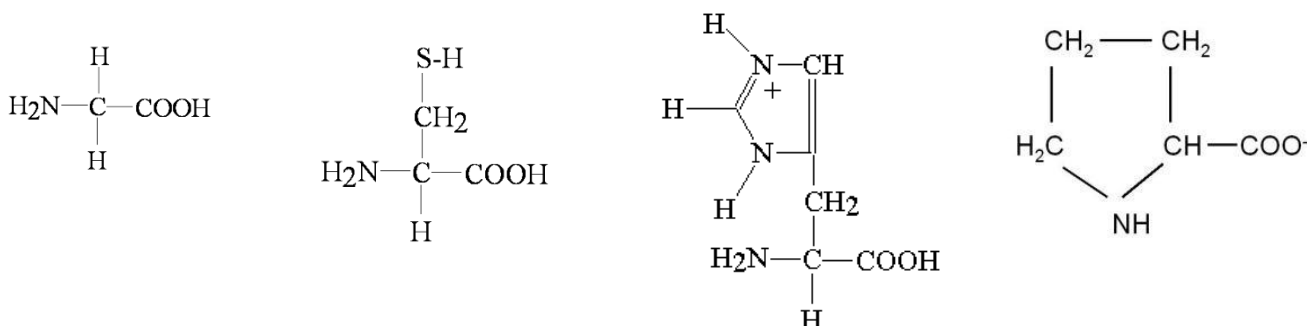
Szerin: a purin és pirimidinek szintetizálásában van szerepe. Nem esszenciális, mert glicinből szintetizálható.

Aszpartát: A glutaminsav mellett a másik savas kémhatású aminosav, 3.9-es pKa-val. Purinok szintézisében nitrogén-donor, ATP szintetizálásában pedig hidrogén-akceptor szerepét tölti be.

Cisztein: képes diszulfidhidakat képezni, amely nagyban hozzájárul a másodlagos és harmadlagos fehérjeszerkezetek stabilizálásához.

Hisztidin: pKa-ja 6,5, közel semleges. Semleges és protonált formában is előfordul, protontranszfer reakciókban gyakori.

Prolin: az oldallánc nem „lóg le”, hanem „visszakanyarodik”, és hozzákapcsolódik az aminocsoporthoz, így gyűrűt alkot.



Lambert-Beer-törvény:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

A fehérjék abszorbanciájára is alkalmazható képlet.

A : abszorbancia

ε : az elnyelő közegre jellemző állandó

c : koncentráció

l : a fény által az anyagban megtett távolság

Az egyenlet idő szerinti deriválásával összefüggést kapunk a reakciósebességre:

$$v = \frac{dc}{dt} = \frac{dA}{dt} \cdot \frac{1}{\varepsilon \cdot c}$$

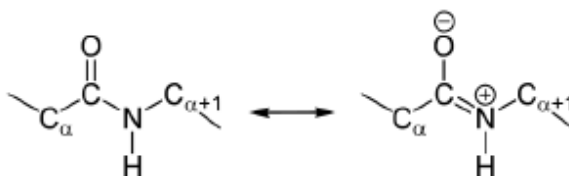
A fehérjék abszorbanciáját a triptofán és a tirozin, a két legnagyobb oldallánccal rendelkező aminosav határozza meg.

Sok aminosav nem olyan „egyedi”, mint a fent felsorolt négy. Pl. a **valin**, **leucin** és **izoleucin** oldalláncai meglehetősen hasonlóak, ezért könnyen helyettesíthetik egymást egy láncban, azaz általában könnyen mutálhatók egymásra.

A fehérje szerkezetének szintjei:

1. **elsődleges:** aminosav szekvencia
2. **másodlagos:** α -hélix, β -redő, turn, loop stb.
3. **harmadlagos:** térszerkezet (fold)
4. **negyedleges:** alegységek, komplexek

Az **elsődleges szerkezet** létrejöttét a **peptidkötés** teszi lehetővé, mely az alábbi határszerkezetekkel írható le:



A kötés hossza a C-N és C=N kötés közötti, a határszerkezetből láthatón kb. „másfél kötésnyi” a hossza és az erőssége. Az karboxilcsoport oxigénjének kettős kötése delokalizálódik, és a karboxilcsoport szénje és a kapcsolódó másik aminosav aminocsoportjának nitrogénje között is jelen van, ezzel egy síkba rendezve a három atomot.

Koncenvió szerint a szekvencia N-terminális $\rightarrow$ C-terminális irányban olvasandó.

A peptidkötés szinte csak transz-konfigurációban fordul elő a természetben, mivel a kötésszögek miatt cisz-konfigurációban az oldalláncok közel kerülnének egymáshoz.

Az egyes aminosavakra jellemző konfigurációk megjeleníthetők egy Ramachandran-plotban, amelyről leolvasható, hogy milyen **másodlagos szerkezet** jellemző rá.

Az **α -hélix** jobbkezes hélix, mely a peptidkötések mellett H-híd kötések is tartalmaz a láncban belül, melyek stabilizálják.

A **β -redő** több láncból áll, a láncok között H-híd kötések találhatók. A láncok egymáshoz képest paralell és anti-paralell is irányba állhatnak.

Ezeket kívül léteznek még kanyarok (**turn**) és hurkok (**loop**), de a lánc rendezetlen szerkezetű is lehet.

Mivel **a szekvencia meghatározza a térszerkezetet**, sok fehérje képes „visszaugrani” eredeti formájába denaturálást követően (**Anfinsen** kísérlete ribonukleázsal).

A **harmadlagos szerkezet** a különböző láncok elhelyezkedésének módját írja le, a **negyedleges** pedig a fehérjekomplexeket, a több alegységből álló fehérjéket.

I. 3. Az enzimek működése: a Michaelis-Menten egyenlet

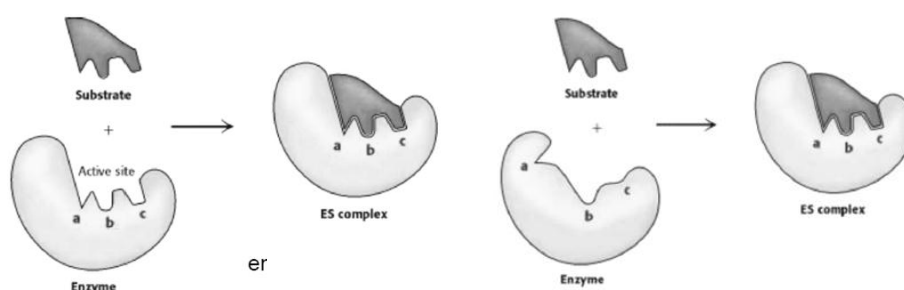
Enzim: katalitikus feladatot ellátó fehérje. Pontos térbeli kapcsolatot tud kialakítani a szubsztráttal, **enzim-szubsztrát komplexet** alkotva.

Ha a kapcsolat rögtön létrejön, **kulcs-zár (lock-key) illeszkedésről** beszélünk. Ekkor a szubsztrátkötő hely már az enzim szabad állapotában is pontos kiegészítője a szubsztrát szerkezetének.

Ha a kapcsolat létrejötte előtt konformációváltozás zajlik le, **indukált illeszkedés** történik. A szubsztrátkötő helyet alkotó egyes csoportok kölcsönhatása hozza létre a komplementer szerkezetet.

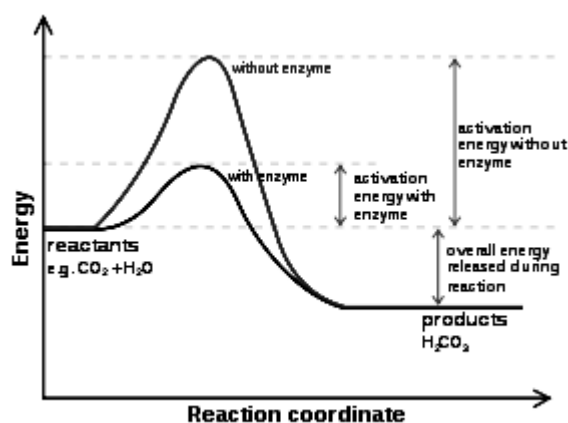
Aktív helynek nevezzük az enzimnek azon részét, melyen a szubsztrátkötő hely és a katalitikus csoportok találhatóak.

A kétféle illeszkedési mód:



Konformációs szelekció: csak a „beleillő” szubsztráttal alkot enzim-szubsztrát komplexet az enzim. A reakció befejezte után létrejövő konformációváltozások eredményezik a komplex szétválását.

Az enzim feladata: katalizál, ezáltal csökkenti a reakció aktiválási energiáját.



Holoenzim: apoenzim + kofaktor komplex. A legtöbb enzimnek egy **kofaktorra** van szüksége a működéshez. Ez lehet egy másik enzim is, ekkor ez a **koenzim**. Ha ez a kofaktor erősen (akár kovalensen) kapcsolódik az enzimhez, **prosztetikus csoportnak** nevezzük, ha nagyon gyengén, kószubsztrátnak. A koenzim nélküli, inaktív enzim az **apoenzim**.

Példák: kovalensen kötött prosztetikus csoport: biotin, liponsav. Gyengén kötött koenzim/kószubsztrát: ATP, NADP⁺, NAD⁺, tetrahidrofolsav.

Termodinamikai tudnivalók:

A + B $\rightleftharpoons$ C + D egyensúlyi reakció esetén a sztenderd szabadentalpia változás (ΔG^0):

$$\Delta G^0 = -R \cdot T \cdot \ln(K)$$

$$K = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Ez csak egyensúly esetén, amúgy $\Delta G \neq 0$, ezért az egyenlet:

$$\Delta G = \Delta G^0 + R \cdot T \cdot \ln(K)$$

Az általános egyenlet:

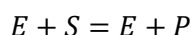
$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

G: Gibbs-féle szabadentalpia/szabadenergia, ΔG ennek a változása

H: entalpia, ΔH a reakcióhő, ha nincs térfogatváltozás

S: entrópia

Az egyensúlyi reakció enzimekre:

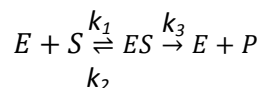


E: enzim

S: szubsztrát

P: termék (product)

Az ES-t is figyelembe véve ez így írható le:

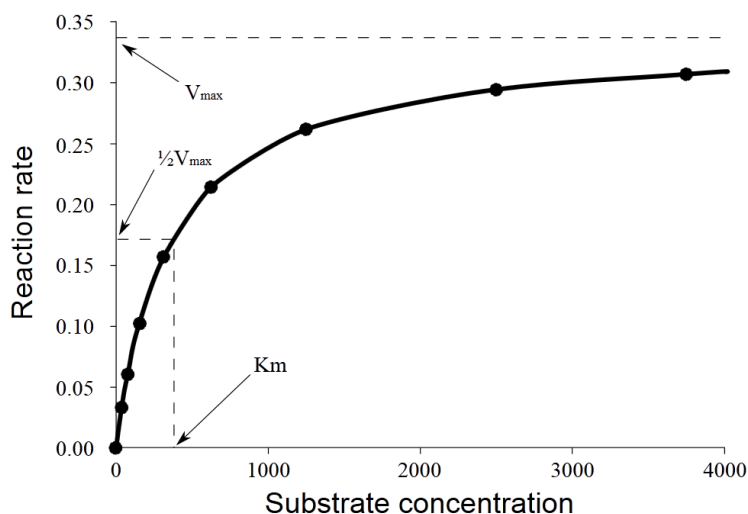


k_i : az egyes lépések sebességi állandói.

Megfigyelés, hogy a szubsztrát koncentrációjának növelése egy ideig növeli a reakciósebességet, de csak egy bizonyos mértékig, azután megáll, csak egy maximumig tudja növelni a sebességet (ez a **telítési koncentráció**).

Ezen a koncentráción maximális sebességgel, $V_{\max}$ -on zajlik a reakció.

Ez azzal ekvivalens, hogy az enzim csak ES-ként van jelen, az összes enzim „megtelt”.



A reakciósebesség:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = -\frac{d[S]}{dt}$$

azaz, időegység alatt létrejövő produktum mennyisége, fordítottan arányos az időegység alatt átalakuló szubsztrát mennyiségével.

A **Michaelis-Menten egyenlet:**

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

Ha $[S] \gg K_m$ $V_{max} = k_2[E]_T$

Ha $[S] \ll K_m$ $V_0 = \frac{k_2[E]_T[S]}{K_m}$, azaz $[S]$ a nevezőben elhanyagolható

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1} = \frac{[E][S]}{[ES]}$$

Levezetés: könyv 30. oldal

I. 4. Vizsgálati módszerek: NMR, krisztallográfia

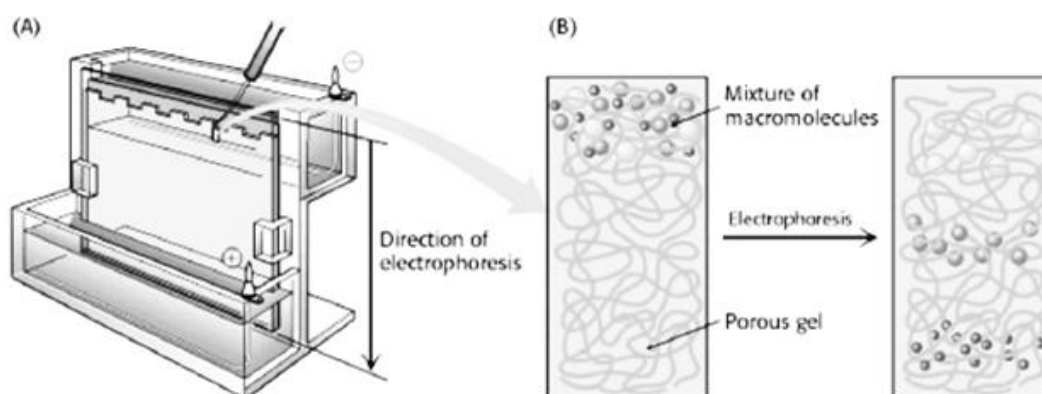
SDS-PAGE

SDS: nátrium-dodecil-szulfát

PA: poli-akrilamid

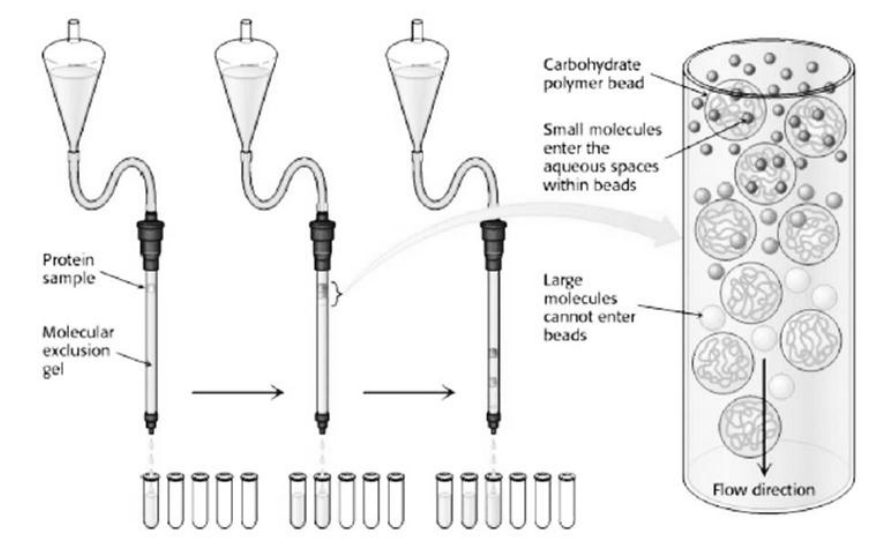
GE: gél-elektroforézis

A folyamat során a fehérjét tartalmazó mintát SDS-el keverik, majd ezt a PA gél tetejére helyezik. A gél tetején negatív, az alján pozitív töltést hoznak létre, ennek hatására a keverék a SDS negatív töltése miatt lefelé kezd vándorolni a gélen keresztül, és a nagyobb molekulák „fennakadnak”, míg a kisebbek tovább haladnak. Így a gélben fentről lefelé **csökkenő** molekulaméretű rétegekre válik szét a keverék.



Kromatográfia

Fehérjék szétválasztásához. A fehérjét tartalmazó keveréket egy géloszlopon vezetik át, melyen a kisebb fehérjék a tetején fennakadnak, míg a nagyobbak lejjebb szivárognak. A gélben fentről lefelé **növekvő** molekulaméretű rétegekre válik szét a keverék.



Ioncsere kromatográfia

Töltés szerint osztja szét a fehérjéket a gélben. Egymással kismértékben eltérő fehérjék szétválasztására is alkalmas.

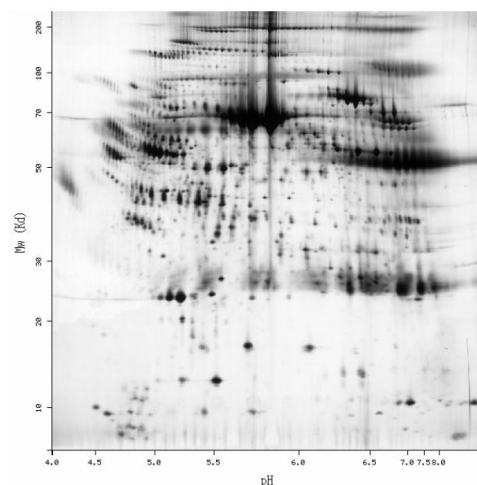


A pozitív töltésű fehérje hozzátapad a negatív töltésű „gömbökhöz”

A negatív töltésű fehérje továbbhalad

2D-elektroforézis

Gél elektroforézis, melynek során egy géllapon először 1D-ban szétválasztjuk a fehérjéket egy bizonyos tulajdonság szerint, majd ugyanezt elvégezzük a már szétválasztott, egy vonalon elhelyezhető fehérjéken 90°-al elfordítva is, így egy lapon, 2 különböző tulajdonság szerint rendezhetjük el a fehérjéket. Igen nagy felbontás lehet elérni. A proteomika elterjedt módszere.



Ultracentrifugálás

Szedimentációs koefficiens kiszámítása:

$$S = \frac{v}{a}$$

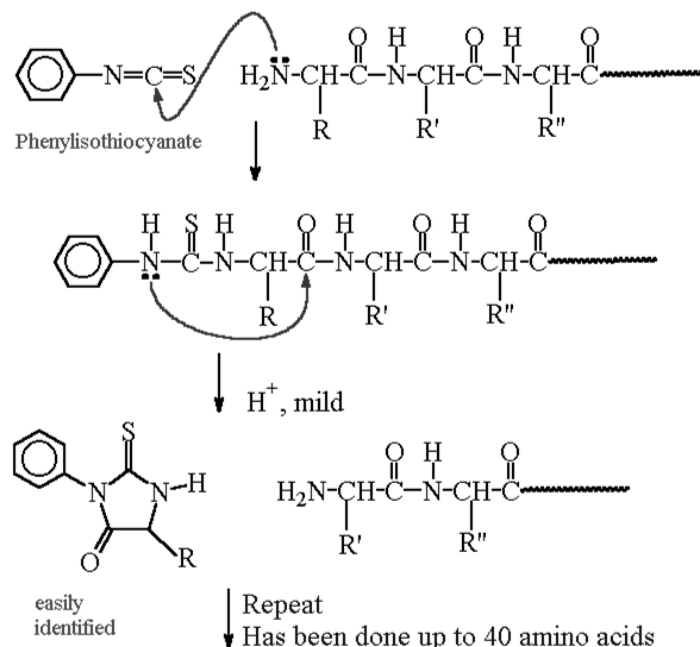
v: ülepedési sebesség

a: centrifugális gyorsulás

Svedberg egység (nem SI) technikailag időegység: 10^{-13} s (=100 fs).

Szekvenálás: Edman-lebontás

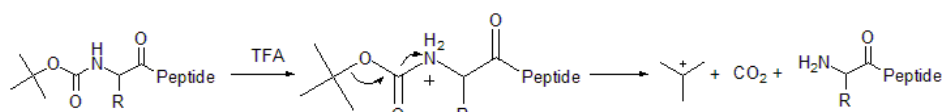
Az N-terminális felől elkezdjük leválasztani az aminosavakat fenil-izotiocianát segítségével, ezután könnyen megállapítható, milyen aminosavat választottuk le. 15-30 aminosavig működik, ezért a teljes szekvencia meghatározásához a fehérjét rövidebb szakaszokra kell bontani különböző proteázokkal.



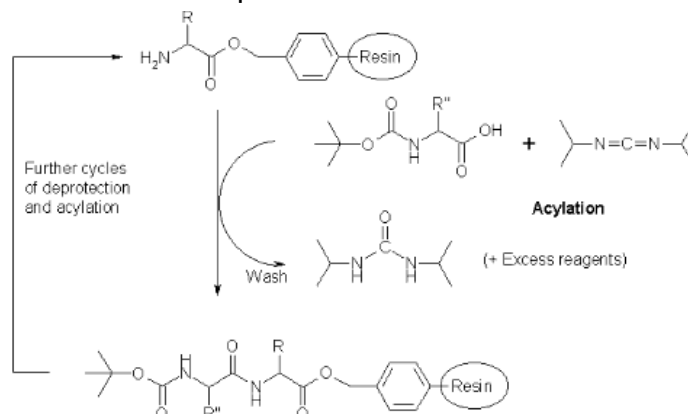
Szintézis: Peptid-szintézis

A szintézis során egy gyantához kötött aminosavat megközelítünk egy BOC (benziloxi-karbonil) csoporttal védett aminosavval. A védőcsoportot közepesen erős savval (TFA) távolítjuk el (deprotection), így ezt az aminosavat hozzákapcsolhatjuk a gyantához kötöthöz (acylation). Ezt többször megismételve egy, a gyantához kötött peptid láncot kapunk, melyet erős savval választhatunk le a gyantáról.

Deprotection (az Y alakú csoport a BOC):

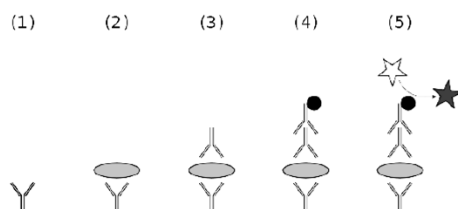


A következő BOC-vel védett aminosav kapcsolása:



ELISA

Antitestek segítségével azonosítjuk az anyagot. Először két antitest közé „szendvicsbe” helyezzük (3), majd az egyik végéhez egy újabb antitestet is kapcsolunk, rajta egy enzimmel (4), majd egy ahhoz tartozó szubsztrátot adunk hozzá (5). Az enzimreakció segítségével azonosítható az anyag (általában színváltozással).

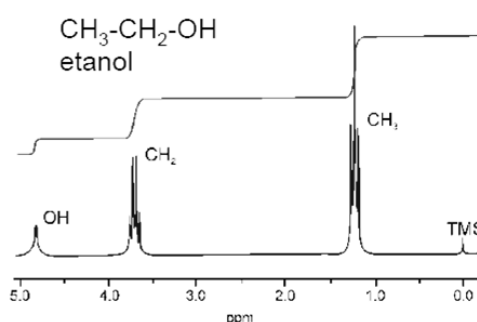


NMR spektroszkópia

A molekulát mágneses térbe helyezzük, amely megváltoztatja az izotópok magspinjét. A változás hatására kibocsátott energiát mérve kapunk egy spektrumot, amiből következtethetünk a molekula szerkezetére.

Az NMR számára legfontosabb izotópok: ^1H , ^{15}N , ^{13}C , mindnek $1/2$ a spinje.

Etanol NMR spektruma:



2D ^1H - ^{15}N HSQC: a leggyakrabban használt technika fehérjék esetén.

HSQC: Heteronuclear Single Quantum Correlation spectroscopy.

Az amid (NH) csoportok detektálhatóak vele.

NMR-el csak kis fehérjék szerkezete oldható meg, és egy szerkezetsereget kapunk eredményül (több lehetséges szerkezet összességét), amelyből következtetni lehet a valós szerkezetre.

MRI: az NMR orvosi alkalmazása képalkotásra.

Röntgen kristallográfia

Először fehérjekristályokat kell létrehozni, melyben egy elemi cella egy fehérjemolekulát tartalmaz, a cellák pedig kristálysírkba vannak rendezve.

A kristályra röntgensugarakat bocsátunk, melyeknek visszaverődéséből egy röntgendiffrakciós képet kapunk, melyből számítógép segítségével kiszámítható egy elektronsűrűség térkép, amelyből következtethetünk az atomi szerkezetre.

Bragg-egyenlet:

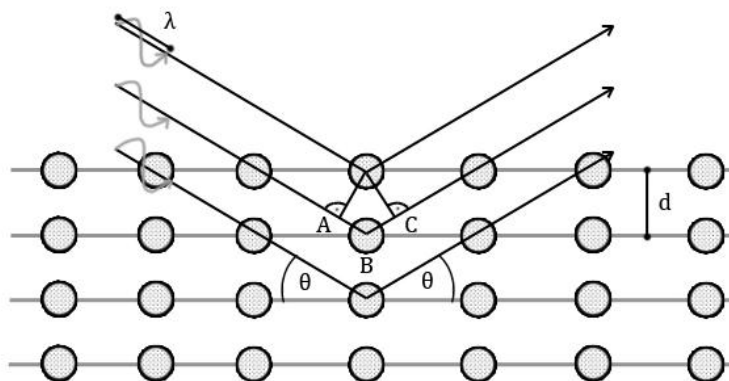
$$AB + BC = 2d \cdot \sin\theta = n\lambda$$

$AB + BC$: a párhuzamos rácssíkokról visszaverődő sugármenetek útkülönbsége

d : két rácssík közötti távolság

θ : beesési szög

λ : hullámhossz



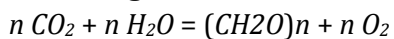
I. 5. Szénhidrátok, lipidek vitaminok

Szénhidrátok

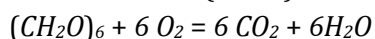
$C_mH_{2n}O_n$ képlettel felírható, aldehid- vagy ketocsoportos, legalább 2 –OH csoportot tartalmazó molekula.

Biológiai funkciói

- **energiahordozás**



fény hatására



-625 kcal, emberi energiatermelés egyik főbb folyamata

- **vázanyagok**

növényekben: cellulóz, állatokban: kitin.

- **biológiai információ hordozása**

DNS, RNS, glikolipidek, glikoproteidek

Csoportosításuk

Oxocsoport minősége szerint:

aldóz: láncvégen van $\rightarrow$ oxidálható, pl. glükóz

ketóz: 2. szénatomon van pl. fruktóz

Szénatomszám szerint:

trióz, tetróz, pentóz, hexóz, stb.

Cukor egységek száma szerint:

monoszacharid: 1

diszacharid: 2

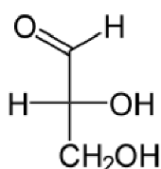
oligoszacharid: 3, 4, 5, ...

poliszacharid: 50+

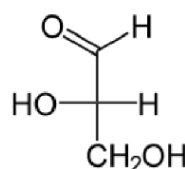
A cukrok **glikozidos kötéssel** (-O-) kapcsolódnak egymáshoz. Általában az egyik cukor 1. és a második 4. szénatomja között jön létre. α -glikozidos a kötés akkor, ha az 1. szénatom glikozidos kötése a glükóz gyűrű síkja alatt található és β -glükozidos a kötés, ha a sík felett.

Glikolizáció: cukorláncok kapcsolódása fehérjéhez (Asn, Ser, Thr, Trp láncokhoz).

A legegyszerűbb cukor a **gliceraldehid**:

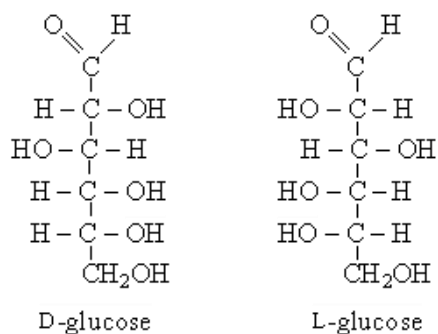


D-gliceraldehid

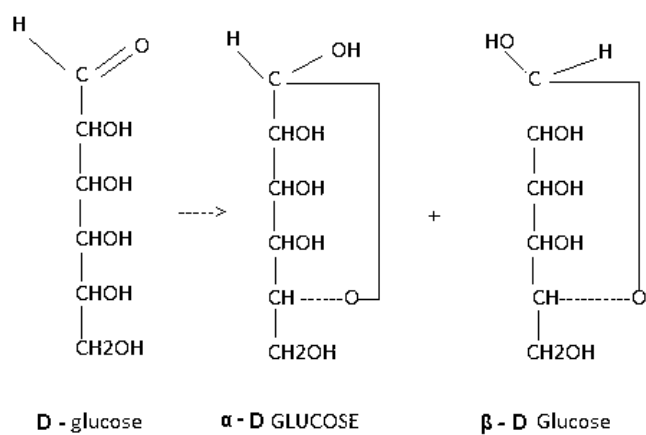


L-gliceraldehid

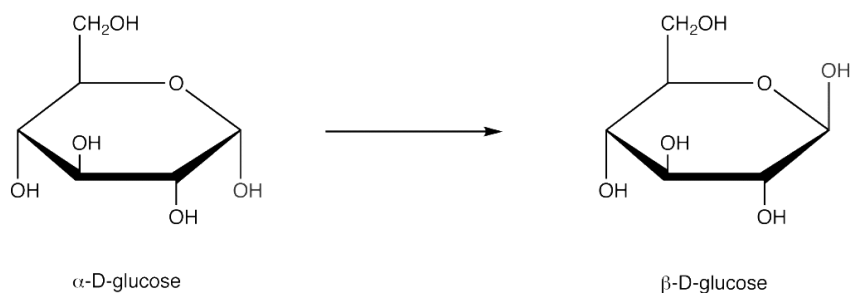
Egy fontos cukor a **D-glükóz**:



A glükóz gyűrűvé záródása:



Az így kialakuló gyűrűk:



A gyűrű szék (_ _) vagy kád (_ /) konformációt vehet fel.

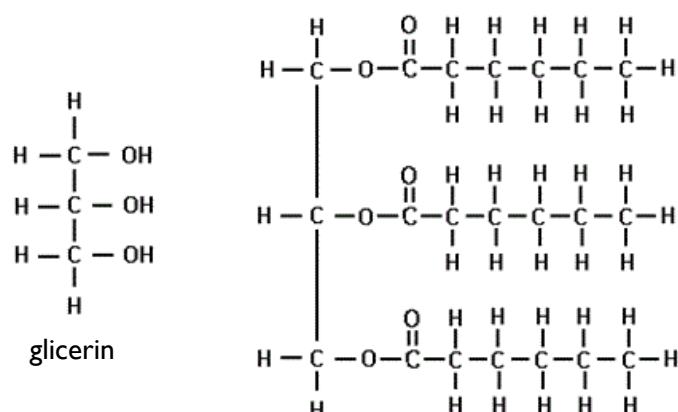
A legtöbb cukornak D és L konfigurációja létezik, általában D fordul elő a természetben.

Lipidek

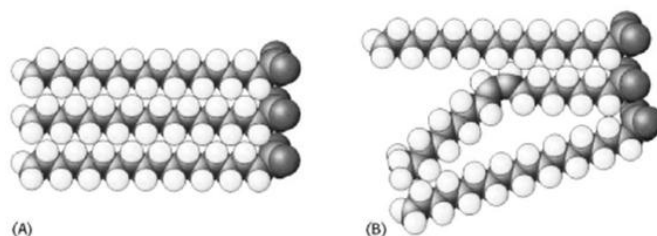
Zsíroldekony (hidrofób vagy amfoter) természetes vegyületek:

- zsírok, olajok
- foszfolipidek
- szfingolipidek
- szteroidok

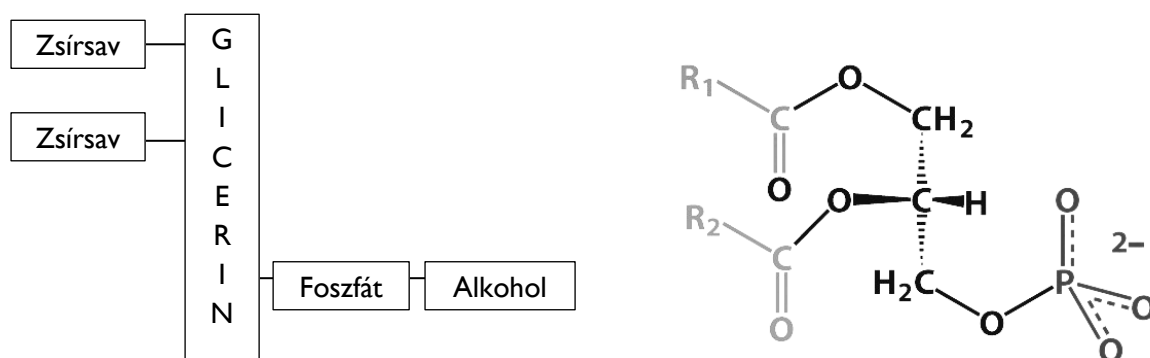
Trigliceridek általános képlete:



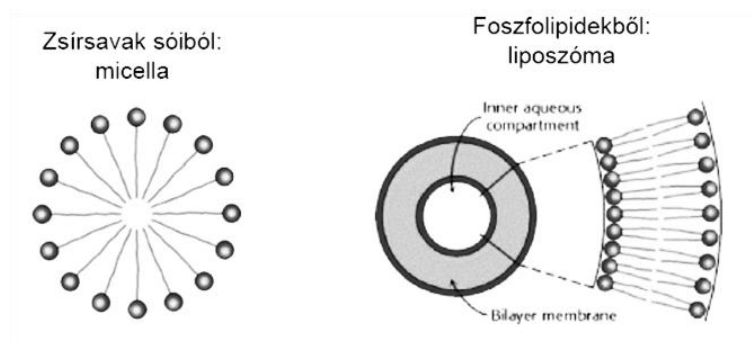
Az ábrán egy **telített** triglicerid látható (A), **telítetlennek** nevezzük azt, amelynek a három szénláncában találhatóak nem egyes kötések. A telítetlen trigliceridek lánc „elhajlik” a kötéshosszak különbsége miatt (B).



Foszfolipidek általános képlete:



Amfoter karakterűek, azaz hidrofób véggel és hidofil fejjel rendelkeznek. Így vizes közegben **liposzómát** hozhatnak létre. A liposzóma lehetett a sejtmembrán elődje. A zsírsavval hidrofób végükkel befele fordulva **micellát** alkotnak.



Vitaminok: általában koenzimek, vagy azok szintéziséhez szükséges anyagok. Csoportosíthatóak vízben és zsírban oldódó vitaminokra.

Vízben oldódó: B₁, B₂, B₆, niacin, B₅, biotin, folsav, B₁₂, C

Zsírban oldódó: A, D, E, K

II. A szervezet energiaháztartása

II. 1. Glikolízis

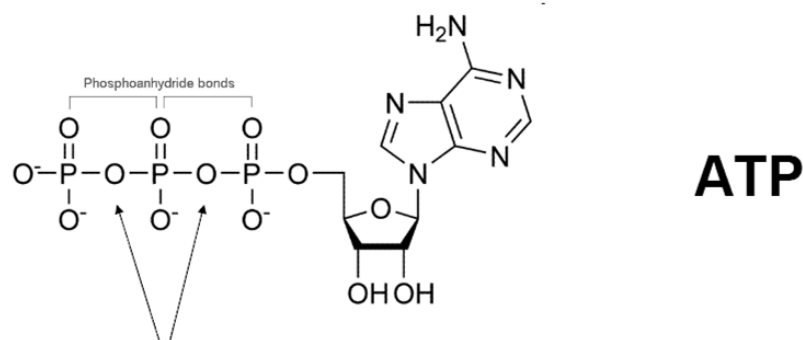
Glikolízis: „glyk- lysis” (görög) = „édes bomlás”

Anabolizmus: felépítő folyamat

Katabolizmus: lebontó folyamat

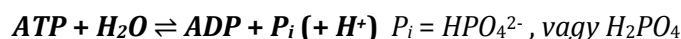
Metabolizmus: anyagcsere

ATP (adenozin-trifoszfát)



foszforsav-anhidrid kötés: „nagy energiájú”, reaktív

Az ATP hidrolízise:



$$\Delta G^0 = -30.5 \frac{kJ}{mol} \left(10.9 \frac{kCal}{mol} \right)$$

Egyéb „nagy energiájú” foszfor kötések (ATP szintézisre alkalmasak): enol-foszfát, sav anhidrid

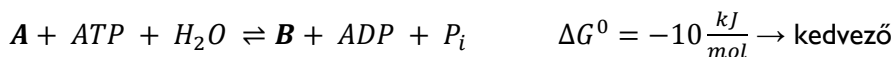
Az élő szervezetben az ATP aránya:

$$\frac{[ATP]}{[ADP][P_i]} \sim 500 \frac{1}{M}$$

Reakciók összekapcsolása az ATP hidrolízissel:



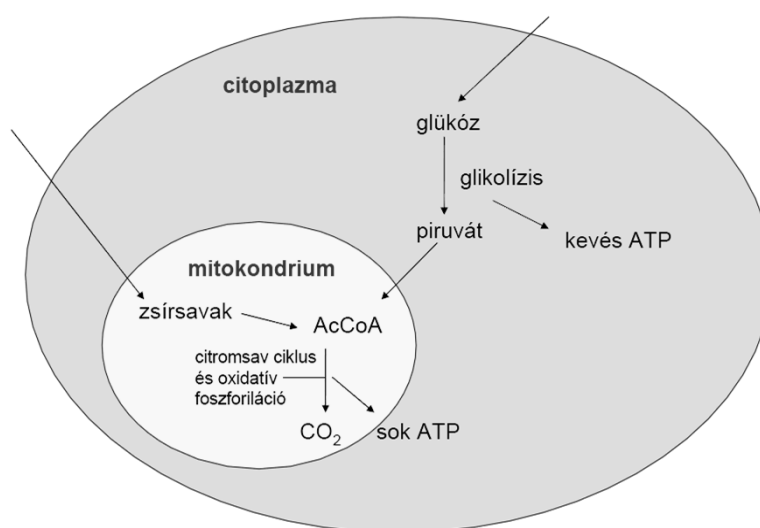
Az energetikailag kedvezőtlen $A \rightleftharpoons B$ átalakulás nem menne végbe magától, ám a kedvező ATP hidrolízissel egybekötve igen.



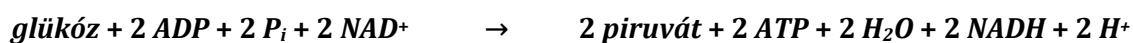
Ez után az új egyensúly így írható fel:

$$\frac{[B]}{[A]} = e^{\frac{-\Delta G^0}{R \cdot T}} \cdot 500 \frac{1}{M} = e^{\frac{-10\,000}{8.31 \cdot 298}} M \cdot 500 \frac{1}{M} = 2.8 \cdot 10^4$$

$$\frac{[ATP]}{[ADP][P_i]}$$

A sejt fő energiafolyamatai:**Glikolízis**

Röviden:

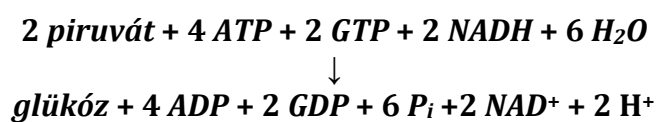
1. szakasz: $\text{glükóz} + 2 \text{ATP} \rightarrow \text{F-1,6-BP}$

2. szakasz: $\text{F-1,6-BP} \begin{cases} \nearrow \text{GAP} \\ \searrow \text{DHAP} \end{cases}$

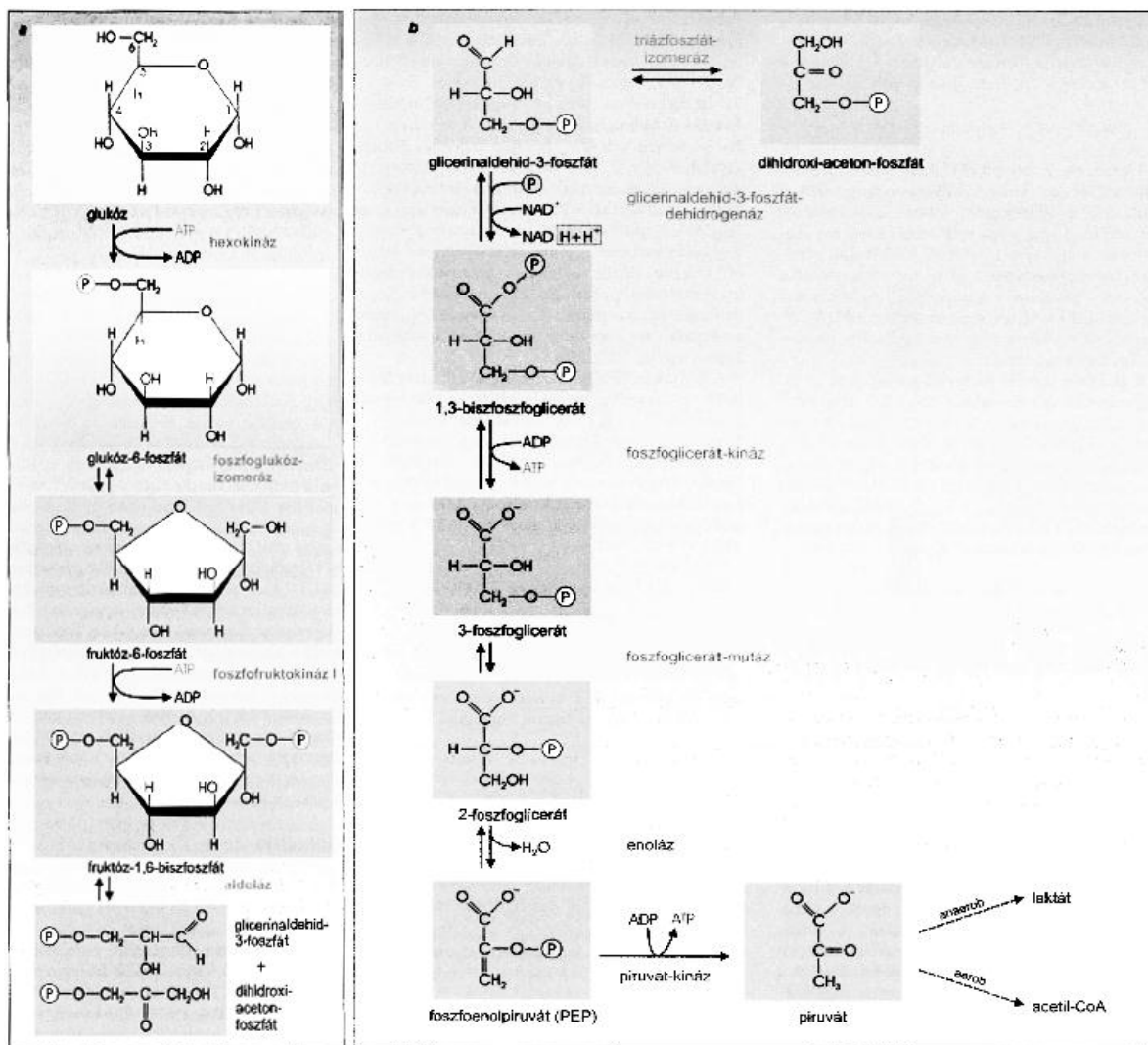
$\updownarrow$
 $\text{GAP} \rightleftharpoons \text{DHAP}$

3. szakasz (×2): $\rightarrow -\text{NADH} \rightarrow -\text{ATP} \rightarrow \text{PEP} \rightarrow -\text{ATP} \rightarrow \text{piruvát/piroszőlősav}$

Glükogenezis:



A glikolízis teljes folyamata:



A glikolízis szabályozása:

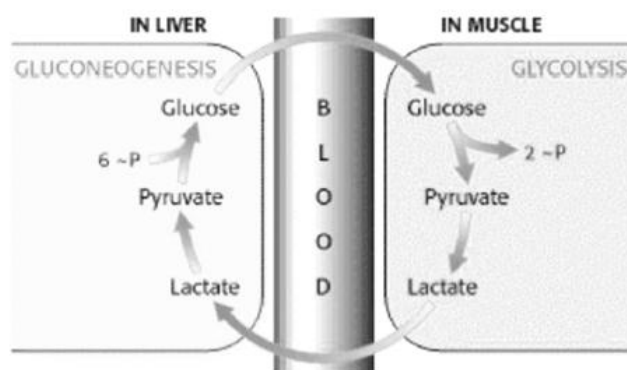
kináz enzimek: **foszfo-frukto-kináz** (PFK)

Allosteria: A szabályozó molekula nem a katalitikus helyhez köt, hanem távolabb.

Allosterikus aktivátorok: AMP, F-1,6-BP

Allosterikus inhibitor: ATP

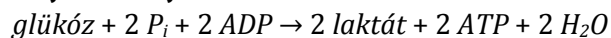
Cori-ciklus: összehangolja a glikolízist és a glikogenezist a sejtekben.



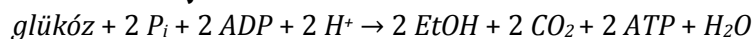
Aerob körülmények között a glikolízis során keletkező piruvát (és a NADH is) teljesen oxidálódik.

Anaerob körülmények között szükséges a NAD⁺ visszapótlása a glikolízis továbbviteléhez. Ekkor kétféle reakció következhet be:

- **Tejsavas erjedés**



- **Alkoholos erjedés**

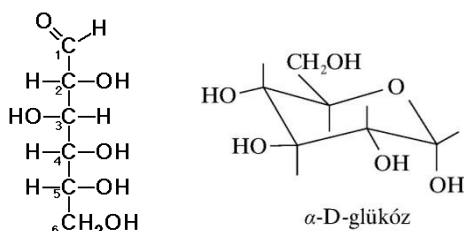


Laktóz intolerancia: a laktóz diszacharidot a laktáz enzim bontja galaktózzra és glükózzra. E enzim mennyisége felnőttkorra csökken, így alakulhat ki ez a rendellenesség.

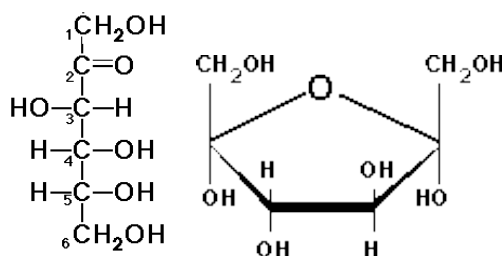
Emlőszövetekben az agy és a vörösvértestek szinte csak glükózt képesek felhasználni energiaforrásként.

Képletek

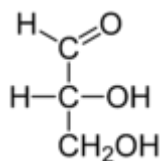
Glükóz:



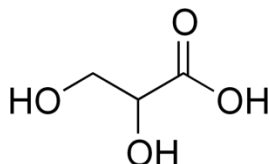
Fruktóz:



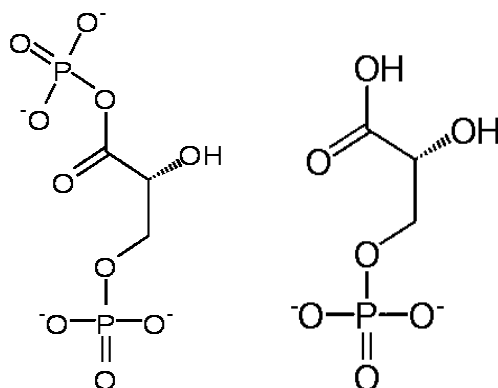
Gliceraldehid:



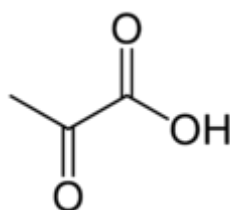
Glicerinsav:



Glicerinsav foszforilálva (1,3-bifoszfát-glicerinsav és 3-foszfát-glicerinsav):



Piroszólósav (piruvát):



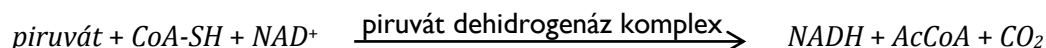
II. 2. Citrát-kör

A **mitokondrium mátrixában** (azaz a belső membránon belül) megy végbe, az oxidatív foszforiláció mellett a szervezet legfontosabb energiatermelő folyamata.

Maga a reakció nem igényel oxigént, azonban a szükséges reaktánsok (NAD^+ , FAD) miatt csak **aerob** körülmények között tud végbemenni, mivel ezeket csak oxidatív foszforilációval lehet pótolni, amely csak utóbbi körülmények között tud lezajlani.

A mellett, hogy energiaforrás, szintézisek számára is biztosít fontos intermediereket.

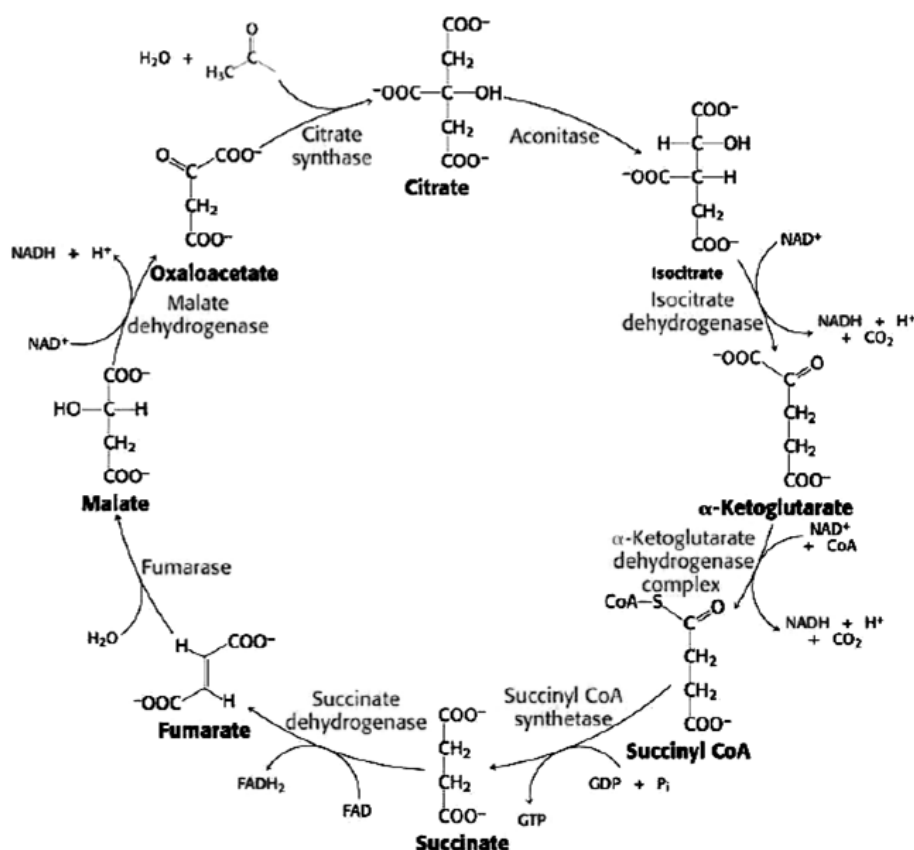
A glikolízist és citromsav ciklust összekötő lépés:



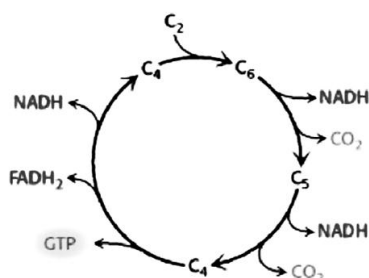
Irreverzibilis, „elkövetett” lépés (**committed step**).

A létrejövő AcCoA (acetil koenzim A) feladata az acetilcsoport oxidálható szénatomjának szállítása, amely lehetővé teszi az ATP termelését. Egy AcCoA kb. 10 ATP/GTP termeléséhez képes hozzájárulni. **Tioészter kötés** található benne.

A Citrát-kör részletesen:



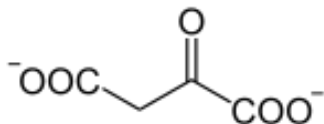
Vázlatosan:



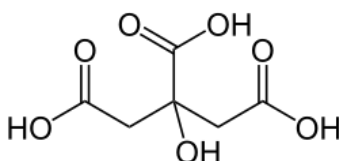
Beriberi, azaz B1 vitamin hiánya esetén a glükóz nem képes a piruváton keresztül belépni a citromsav-ciklusba, aminek következtében az agy nem jut energiához. Ez idegrendszeri problémákat, súlyos esetben halált okoz.

Képletek

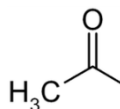
Oxálecetsav



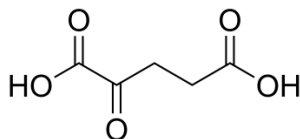
Citromsav



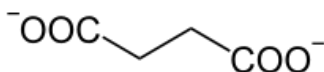
Acetil-csoport



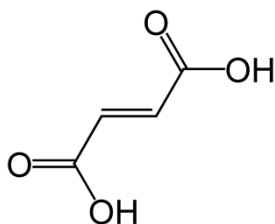
Ketoglutársav



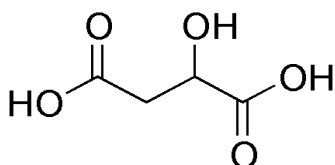
Borostyánkősav (szukcinát)



Fumársav (fumarát)



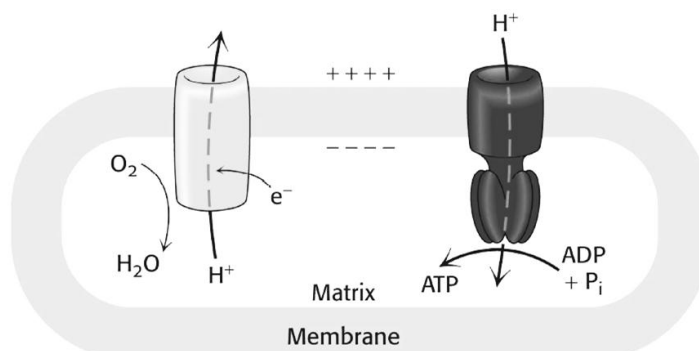
Almasav (malát)



II. 3. Oxidatív foszforiláció

A mitokondrium **belső membránján** zajlik, melyen betüremkedések (cristae) vannak, amik megnövelik a felületét.

A folyamat lényege:



Kemiozmotikus hipotézis

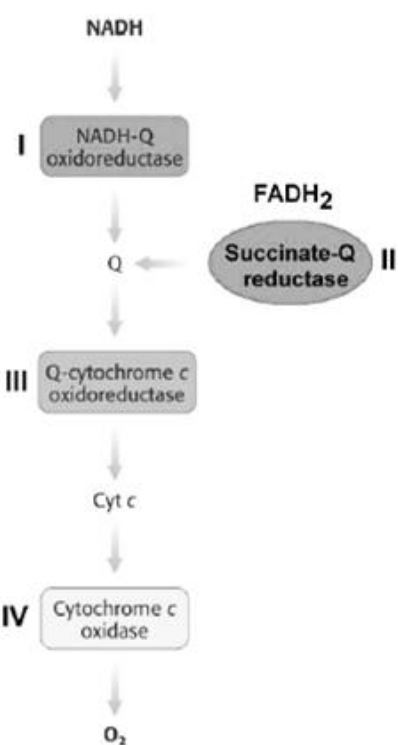
A mitokondriumban zajló elektrontranszportlánc elektronszállítása során létrejövő ATP keletkezését írja le.

A protonok beáramlása hajtja az $ADP + P_i \rightarrow ATP$ reakciót, azonban a protonok kifelé nem áramolhatnak át, csak az ATP-szintáz komplexen keresztül.

Elektron transzport lánc (légzési lánc)

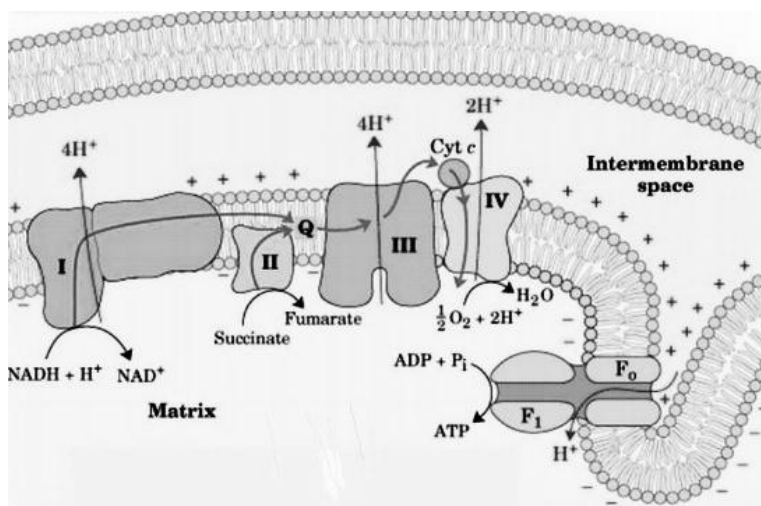
Biokémiai oxidációs-redukciós reakciók egymásutánja, ami létrehozza az elektronok szállítását egy sor elektronszállító molekulán keresztül. A légzés utolsó szakasza – **terminális oxidáció**.

Négy komplex felelős az NADH és a $FADH_2$ oxidációjáért:

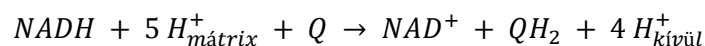


- I. NADH-Q oxidoreduktáz
- II. szukcinát-Q reduktáz
- III. Q-citokróm c oxidoreduktáz
- IV. citokróm c oxidáz

A redox reakciókkal egyidejűleg az I, III és IV komplex protonokat pumpál a mátrixból az intermembrán térbe.

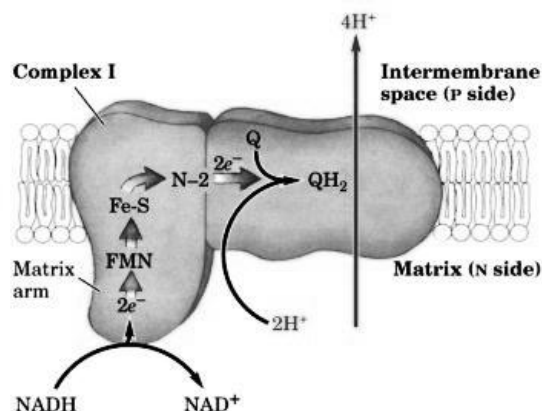


Komplex I - NADH-Q oxidoreduktáz



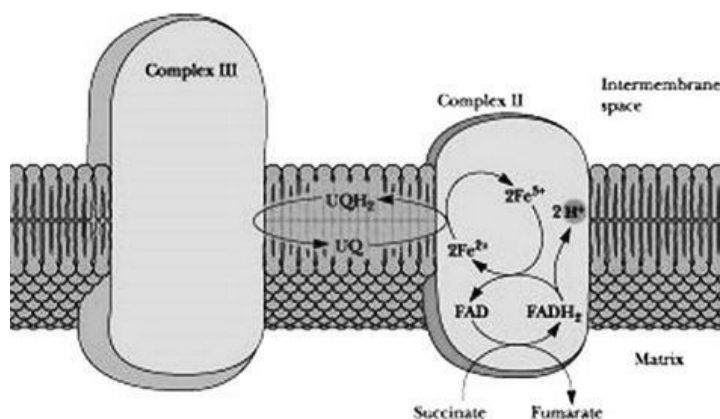
Q: **ubikinon** = koenzim Q

A komplex I katalizálja a NADH oxidációját. Több lépésben, FMN és vas-kén centrumokon keresztül redukálódik az ubikinon miközben 4 proton kerül ki az intermembrán térbe.



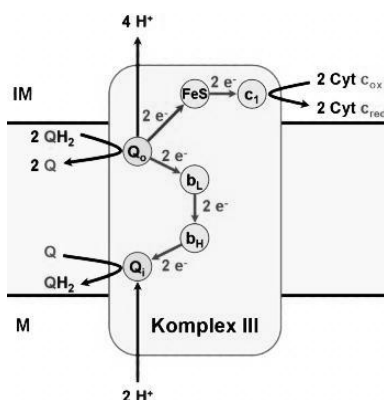
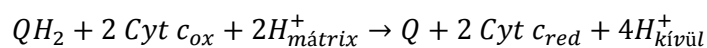
Komplex II - szukcinát-Q reduktáz

Nem szállít protonokat. Közvetlenül összekapcsolja a citromsav ciklust a légzési láncsal. A szukcinát dehidrogenáz enzim a komplex része.



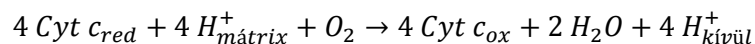
Komplex III - Q-citokróm c oxidoreduktáz

Q ciklus:

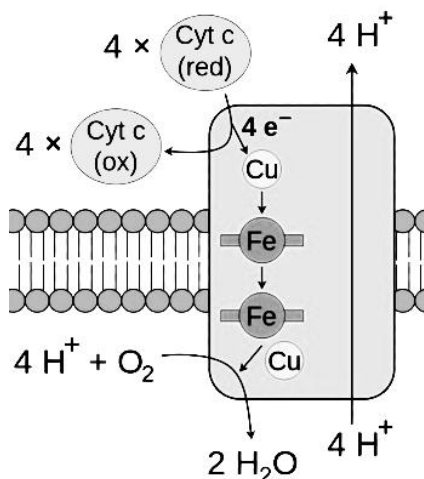
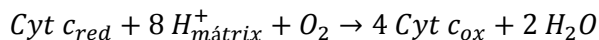


Komplex IV – citokróm c oxidáz

Maga a kémiai reakció:

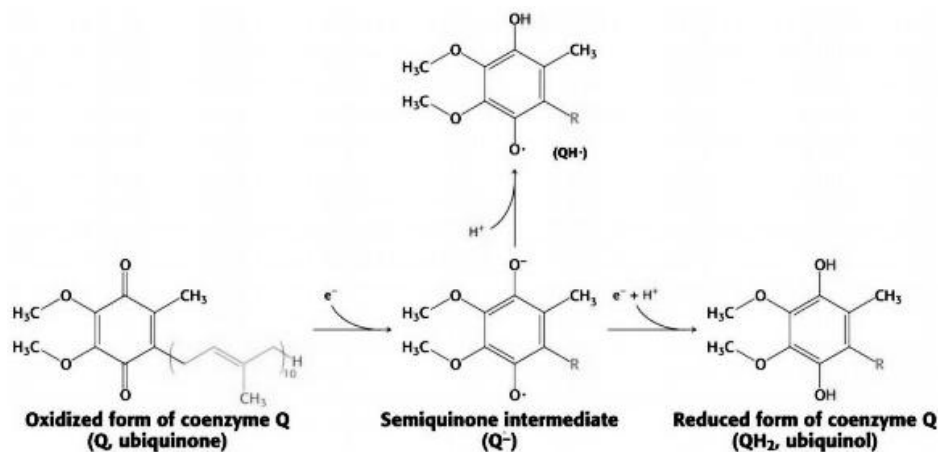


+ protonpumpa



Komplex V: ATP izolálása után maradt vízoldható komponens

Ubikinon: más néven Koenzim Q. Szabadon mozog a membránban, és képes protonokat szállítani. A komplexek közös komponense.



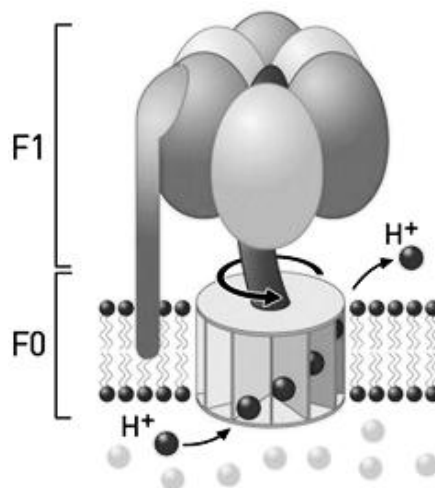
Citokróm c: egy kicsi, perifériális membránfehérje, mely a membrán külső oldalán található. Könnyen oldatba vihető. Fajok között meglehetősen konzervált.

ATP-szintáz

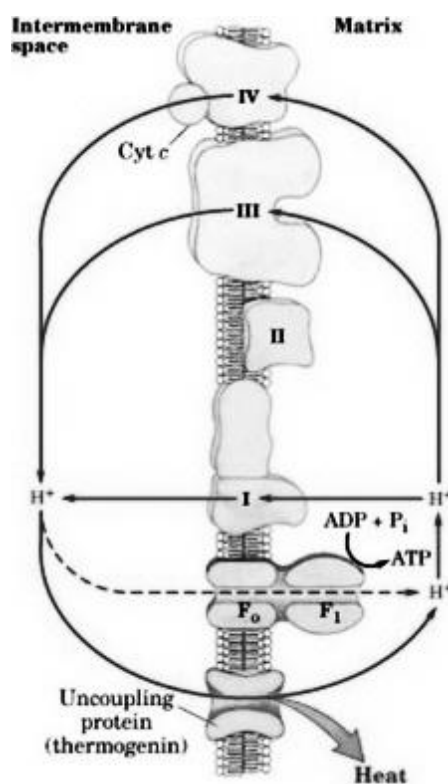
Két alegysége van:

F₀: a membránban található, propeller alakú. Forgását protonok hajtják, melyeket a Coulomb kölcsönhatások hoznak mozgásba.

F₁: a mitokondrium mátrixában található. Megköti az ADP, és hozzákapcsol egy foszfátcsoporthot, amivel ATP-t hoz létre.



Barna zsírszövet: a sárga zsírsejtnél kisebb, szögletes alakú sejt. Több zsírcseppet tartalmaz, amelyek multilokárisan, azaz több rekeszben, a sejtmag közepén, vagy a szélén helyezkednek el. A sejt membránjában **thermogenin** található, amely visszaengedi a protonokat a sejtbe. Az oxidatív foszforiláció szétkapcsolásával a sejtben nem ATP, hanem **hő termelődik**.



II. 4. Az energia tárolása: zsírok és glikogén

Triglicerid: glicerín + zsírsavak (észterkötéssel). **Telített**, ha csak egyes kötések találhatók a zsírsav szénláncában, ha kettős vagy hármasak is, akkor **telítetlen**.

Zsírok lebontása

Először szétválasztódnak glicerínre és zsírsavakra. A kapott glicerín foszforilálódik, hogy újból zsírok jölessenek létre belőle, vagy csatlakozik a glikolízishez, vagy a glükogenezishez. A zsírsavak lebontása **béta oxidációval** történik. Ez a folyamat a **mitokondrium mátrixában** megy végbe.

Az zsírsav aktiválás után acetyl-CoA segítségével 2 szénatomonként bomlik le.

A béta oxidáció négy lépése:

1. oxidáció
2. hidratálás
3. oxidáció (béta szénatomon)
4. tiolízis

A zsírsavat először aktiválni kell. Ezt az acil CoA szintetáz katalizálja:

1. $\text{zsírsav} + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{acil-adenilát} + \text{PP}_i$
2. $\text{acil-adenilát} + \text{HS-CoA} \rightleftharpoons \text{acil-CoA} + \text{AMP} \leftarrow 2 \text{ ATP-vel ekvivalens}$

Ezután az **acil kartinin transzlokáz** enzim bejuttatja az aktivált zsírsavat a mitokondrium mátrixába, hogy ott lebomolhasson.

1. **oxidáció**
 $\text{acil} - \text{CoA} + \text{FAD} \rightarrow \text{transz} - \Delta^2 - \text{enoil} - \text{CoA} + \text{FADH}_2$
2. **hidratálás/hidrolízis**
 $\text{transz} - \Delta^2 - \text{enoil} \text{ CoA} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{L} - 3 - \text{hidroxiacil} \text{ CoA}$
3. **oxidáció**
 $\text{L} - 3 - \text{hidroxiacil} \text{ CoA} + \text{NAD}^+ \rightarrow 3 - \text{ketoacil} \text{ CoA} + \text{NADH} + \text{H}^+$
4. **tiolízis/hasítás**
 $3 - \text{ketoacil} \text{ CoA} + \text{HS} - \text{CoA} \rightarrow \text{acil} - \text{CoA} \text{ (3 szénatommal rövidebb)}$
 $\rightarrow \text{acetyl} - \text{CoA}$

„A zsírok a cukrok lángjában égnék”

A zsírsavlebontásból származó acetyl-CoA a citrát kör során bomlik le. A citrát körhöz kell a glikolízis, mivel utóbbi biztosítja a szükséges piruvátot, így **a zsírsavak lebontásához szükséges a glikolízis működése**.

Glikogén: elágazó poliszacharid, főleg 1,4-glikozidos kötések tartják össze. Funkciója a rövidtávú energiatárolás.

Foszforiláció: általában azt a folyamatot jelenti, amikor egy fehérje-specifikus kináz enzim foszfát csoportot helyez egy aminosav oldalláncára (pl. Ser, Thr, Tyr, His).

Itt: **glikogén foszforiláz** felszakítja a glikogénben található észter kötések, és foszfátcsoporthoz teszt a helyükre.

Adrenalin: vagy epinefrin, a mellékvese által termelt hormon és neurotranszmitter. A glikogén lebontását segíti és szintézisét gátolja. **Kinázok** révén hat, a **glukagonhoz** hasonlóan.

Inzulin: a hasnyálmirigy Langerhans-szigeteiben található béta-sejtek által termelt polipeptid hormon. A glikogén szintézisét segíti, lebontását gátolja, ezáltal a májban a vércukorszint szabályozását segíti elő. **Foszfátáz** révén hat.

III. Bioszintézis és lebontás

III. 1. DNS-szintézis: replikáció

Chargaff szabályok

1. $T + C = A + G$ azaz purinok száma = pirimidinek száma
2. $A = T, C = G$.
3. $A + T \neq C + G$. Ezek aránya élőlényre jellemző.

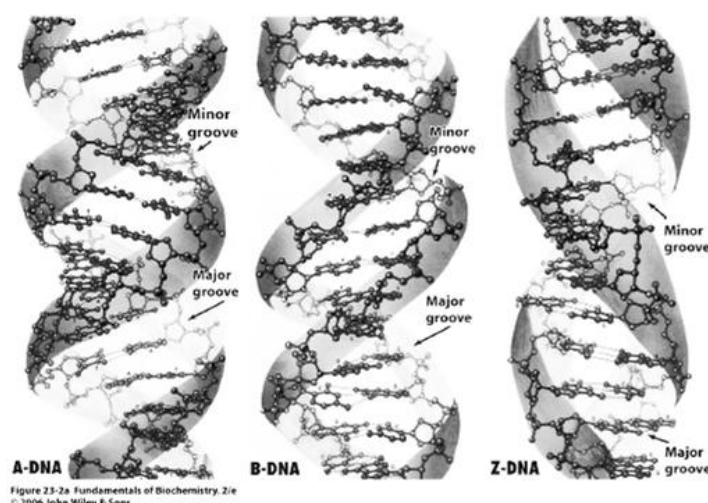
Szerkezet: lásd még I. I.

A DNS felvehet A, B és Z szerkezeteket.

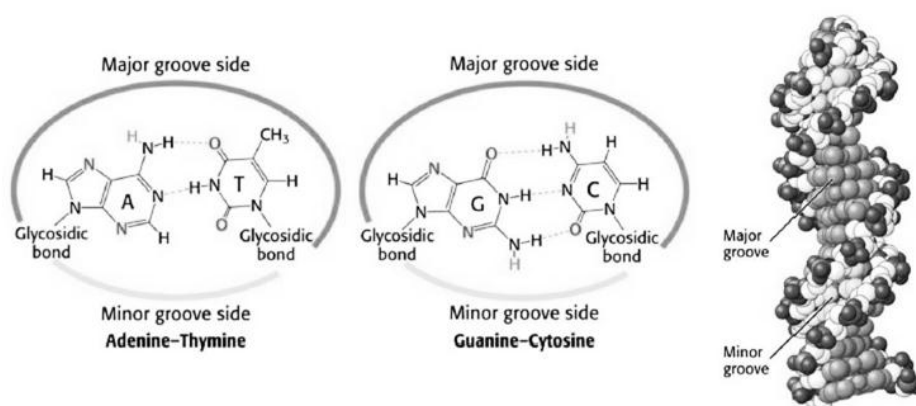
Vízes oldatban (élőlényekben) a **B** szerkezet a leggyakoribb.

Dehidratált körülmények között az **A** szerkezetet veszi fel, a bázisok síkja megdől. Az RNS kettős hélixek és a DNS-RNS hibridek általában A szerkezetűek.

Hosszú CGCGCG... szakaszok a **Z** formát veszik fel. Ez balmenetes, megnyúlt, és a foszfátok cikcakkosan helyezkednek el benne.



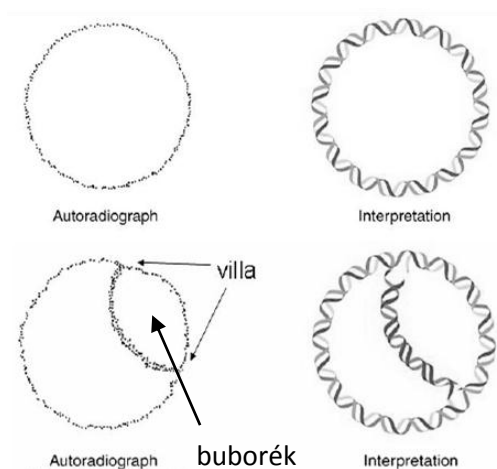
Az árkok



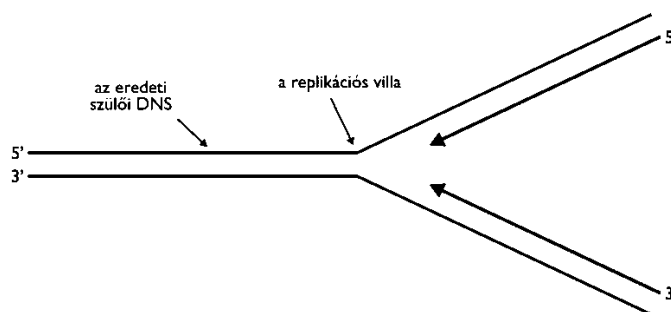
Itt alakíthatnak ki a fehérjék (pl. enzimek) H-hidakat a bázisok szabad csoportjaival.

DNS replikáció

Baktériumok (pl. E coli) cirkuláris DNS-én:



A replikáció látszólagos haladása:



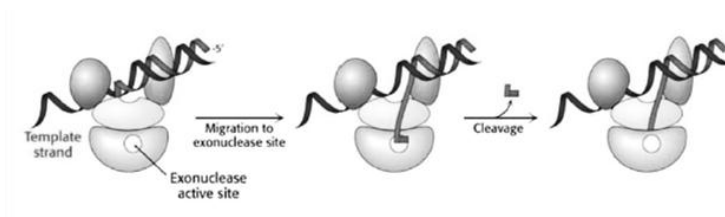
A **helikázok** kitekerik a DNS kettős szálát. A **topoizomerázok** oldják a kitekert DNS-ben a feszültséget. A **SSBP** a stabilizálja az egyszálú DNS-t, és a **primáz** létrehozza a DNS-szádra kapcsolódó RNS primert (rövid, kezdő szakasz). A **ligáz** összekapcsolja a két szálát, majd a **DNS polimerázok** elvégzik a szintézist.

A **pol III** végzi a szintézist, a **pol I** elemésztí az RNS primert, és kiegészíti a lemaradó szálát. Szintézis mellett hibajavítást is végeznek.

Működésük: a **templáton** haladva **komplementer** szálát építenek rá a rendelkezésre álló nukleotid trifoszfátokból. A primer szakaszra azért van szükség, mert csak folytatni tudják a szálát, elkezdni nem.

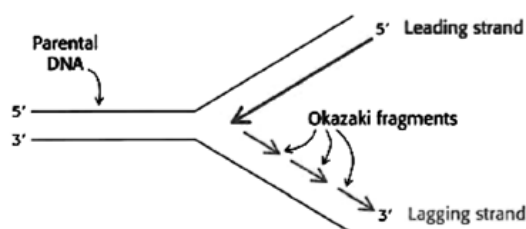
A pol I szerkezete:

Kesztyűre hasonlító molekula. A szálát a „hüvelykujj” és az „ujjak” közé fogja. A „tenyéren” található exonukleáz aktív helyhez a hibás szakaszok nagyobb eséllyel kötődnek hozzá, ami a leválásukat eredményezi, így zajlik a **proofreading** (javító) mechanizmus.



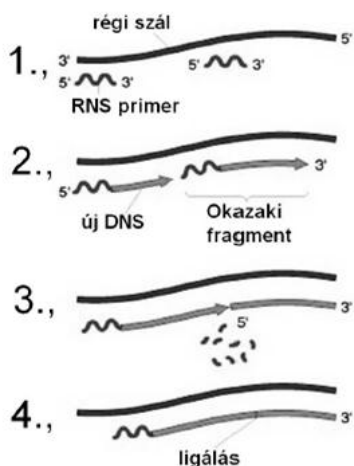
A pol III szerkezete és működése:

A munka javát ez az enzim végzi. $5' \rightarrow 3'$ irányban építi rá a komplementer szálát a templátra. A szintézis elkezdéséhez szüksége van egy primer szakaszra, amelyet a primáz enzim helyez el a templáton. A szintézis az egyik (**vezető**) szálon folyamatosan halad, míg a másikon (**lemaradó**) szakaszosan zajlik, **Okazaki-fragmentumok** jönnek létre.



A lemaradó szálon valójában van egy „hurok”, így a szakasz, amelyen a szintézis zajlik, ugyanabba az irányba áll, mint a vezető szál, szintén „befeje” mutat.

Az elmaradó szál szintézise



1. a **primáz** elhelyezi a primereket
2. a **pol III** felépíti a szakaszokat
3. a **pol I** a primerek helyére DNS-t épít
4. a **ligáz** összeköti a szakaszokat

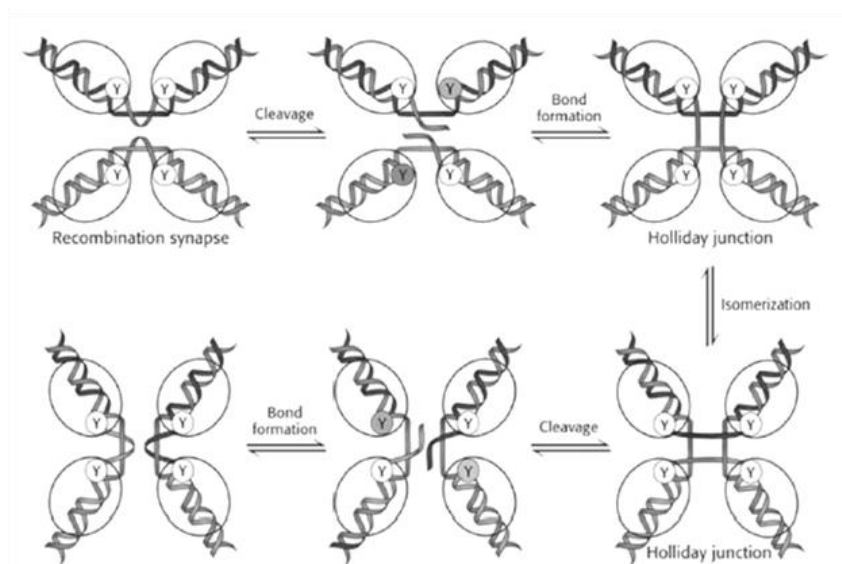
Replikációs origo: a replikáció kezdőpontja a DNS szálon. Az E coli cirkuláris DNS-én egy db. van, az ember lineáris DNS-én kb. 30 000. Ez egy AT párokban gazdag régió (mivel ott kevesebb a H-kötés, könnyebben felszakítható), és kötőhelyek találhatók rajta az enzimek számára.

Az emberi kromoszómák végein **telomerek** találhatóak. Ez egy ismétlődő, információt nem hordozó DNS-szakasz, cipőfűzővéghez szokták hasonlítani, mivel feladata az információt tartamazó DNS-szakasz védelme a „kopás” ellen.

A **telomeráz** enzim feladata e szakasz növelése. Ez egy speciális reverz transzkriptáz, melynek nincs szüksége templátra, mivel magában hordozza.

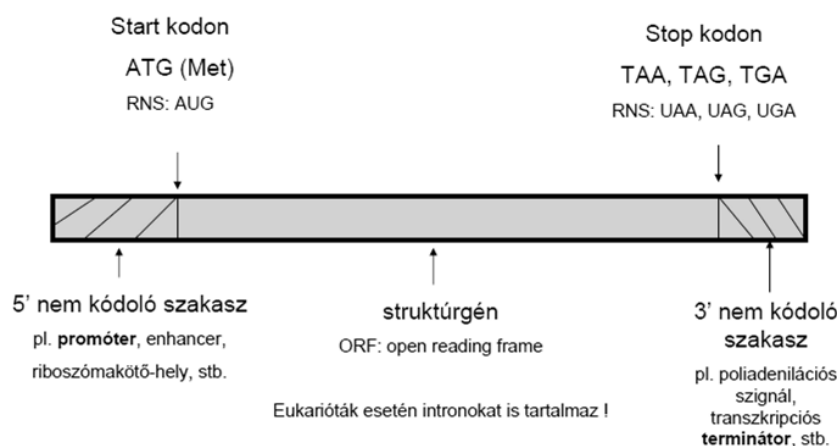
A kor előrehaladtával csökken a telomeráz aktivitás, a telomerek „lekopnak”, a genetikai információ sérül, ez pedig sejthalálhoz vezet.

Rekombináció: egymáshoz hasonló (homológ) DNS szakaszok rekombinálódhatnak. A két spirál közel kerül egymáshoz, egy ponton kereszt alakban összefonódnak (Holliday keresztelágazás), majd rekombinálódva válnak szét: a pontok két oldalán lévő szakaszok kicserélődtek.



III. 2. RNS-szintézis: transzkripció, splicing

Egy gén szerkezete:



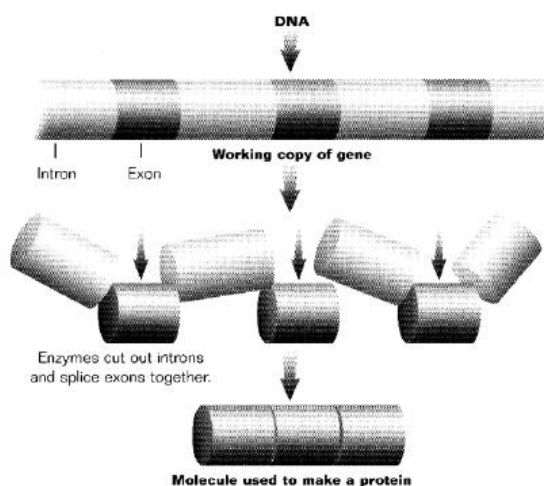
A transzkripció a **sejtmagban** zajlik.

Splicing

Exon: fehérjét kódoló szakasz

Intron: a kódoló szakaszok közé beékelődött nem kódoló szakaszok

A **splicing**, azaz az intronok kivágódása, a mRNA érése során történik. A folyamat során az exonok „összekeveredhetnek”, ezt nevezzük **alternatív splicingnak**, ami a biodiverzitás egyik forrása.



Ez lehet „self-splicing”, amikor a szakasz önmagától vágódik ki. Az RNS itt ribozimként viselkedik, és guanozin kofaktor katalizálja a reakciót.

Spliceosome: itt az RNS snRNS szakaszt tartalmaz, amely ribonukleoproteid hatására kivágja az intront.

A folyamat során az RNS-en egy lasszó/hurok forma alakul ki, és átkeresztesződik.

Példa: B-limfociták antitestjének elengedése a membránról.

Transzkripció (az RNS szintézise)

Lépései:

kezdés (iniciáció) → láncnövekedés (elongáció) → befejezés (termináció)

A folyamatot az **RNS polimeráz** végzi, melyen feladatai:

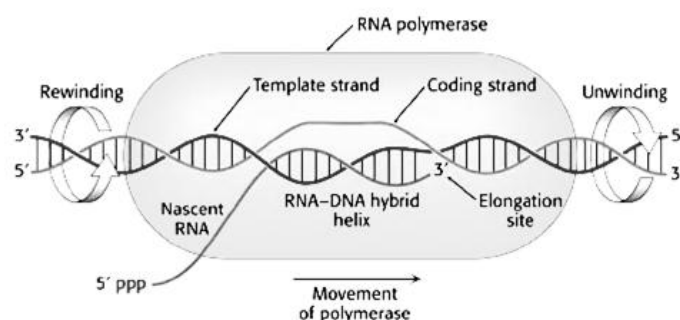
1. a promóterek (a transzkripció kezdetét meghatározó DNS szakasz) felismerése
2. a DNS szükséges szakaszának kitekerése
3. katalízis (a nukleotid trifoszfátok összekapcsolása a templátnak megfelelően)
4. termináció
5. transzkripciós faktorokkal való kölcsönhatás (főleg eukariótákban)

A szintézis 5'→3' irányban halad, és a DNS szintézissel ellentétben itt **nincs szükség primerre**.

Promóter: a transzkripció kezdetét meghatározó szakasz, például:



A szálon egy **transzkripciós buborék** jön létre, ahol a DNS szál szétnyílik. Az RNS az egyik szálon épül, ideiglenesen egy RNS-DNS hibrid spirált létrehozva. Végül az RNS letekeredik, a DNS pedig újra összezárul.



Termináció

1. fehérje-független

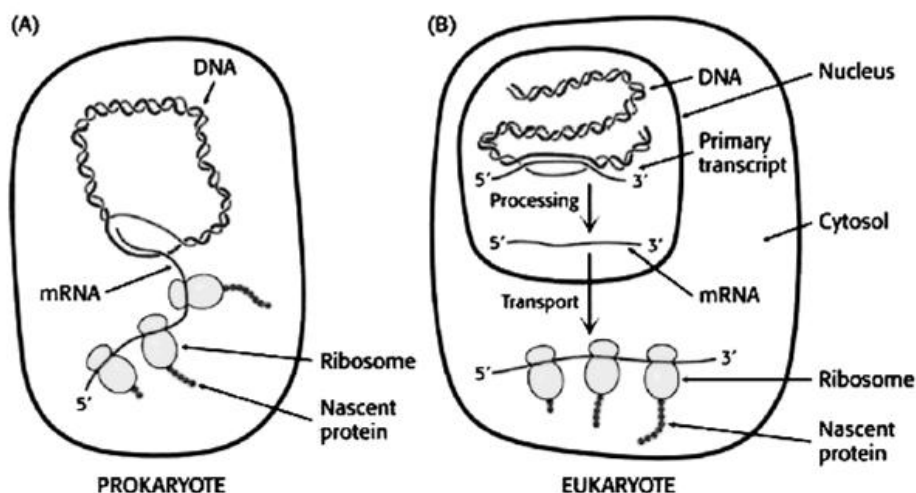
A keletkező RNS szálon egy GC-dús régió „hajtűkanyar” alakul ki, ez a **terminációs szignál**, amely után egy UUU... szakasz, a terminátor található.

2. fehérjétől függő

Az RNS szálat a ρ fehérje választja le a DNS templátról. Amikor a fehérje eléri az RNS-en található terminációs szignált, ATP hidrolízis zajlik le rajta, ami energiát biztosít a szál leválasztásához.

Prokariótákban az mRNS rögtön átíródik, nem módosul, az rRNS és az tRNS azonban igen. Pl. a tRNS-es több helyen is módosított ribózt és módosított bázisokat tartalmaznak.

Eukariótákban az mRNS-t először el kell szállítani a sejtmagból a citoplazmába, ahol a riboszómák fehérjét szintetizálhatnak róla.



Transzkripciós faktor: az mRNS szintetizálását elősegítő fehérjék. A transzkripciós faktorok a TATA régió körül gyülekeznek, bonyolult komplexet alkotva.

Enhancer: rövid DNS szakasz, melyen az aktivátorfehérjék hatására elindul a transzkripció.

Silencer: ezen a régió áll le a transzkripció. Ha a transzkripciós faktor köt vele, meggátolja az RNS polimeráz kötődését a DNS-hez.

Poliadeniláció: az mRNS poszt-transzláció módosulása. A 3' végen egy poli-adenin farok alakul ki.

RNS editing: a rekombinációhoz hasonló kereszteződés, ami lehetővé teszi, hogy egy RNS szárról több fehérje legyen szintetizálható. Az alternatív splicing egyik formája.

III. 3. Fehérjeszintézis: transzláció

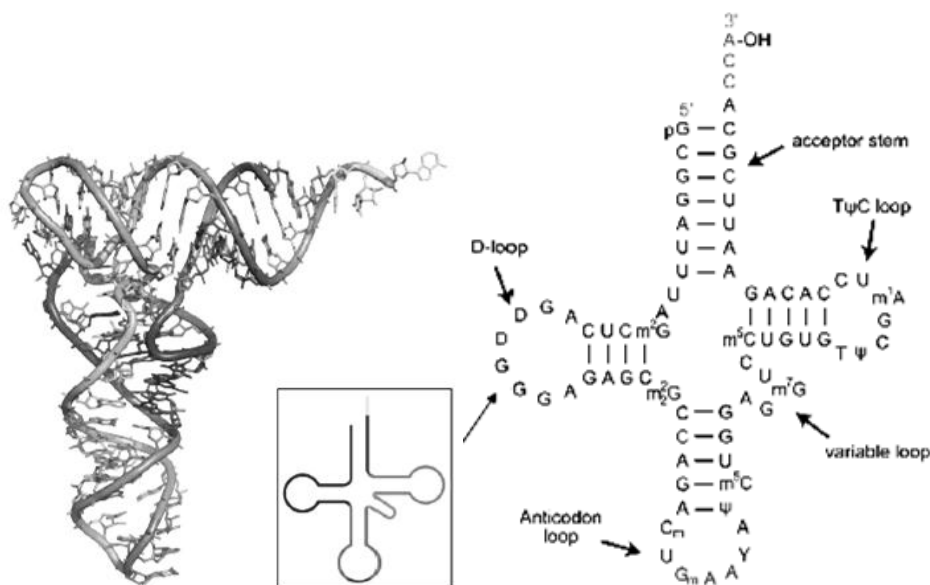
Kodon-szótár:

		Second Position							
		T		C		A		G	
First Position	T	TTT	Phe	TCT	Ser	TAT	Tyr	TGT	Cys
		TTC	Phe	TCC	Ser	TAC	Tyr	TGC	Cys
		TTA	Leu	TCA	Ser	TAA	Stp	TGA	Stp
		TTG	Leu	TCG	Ser	TAG	Stp	TGG	Trp
	C	CTT	Leu	CCT	Pro	CAT	His	CGT	Arg
		CTC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
		CTA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
		CTG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
	A	ATT	Ile	ACT	Thr	AAT	Asn	AGT	Ser
		ATC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
		ATA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
		ATG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg
	G	GTT	Val	GCT	Ala	GAT	Asp	GGT	Gly
		GTC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly
		GTA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly
		GTG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly

- degenerált: egy aminosav → több kód
- viszont egyértelmű: egy kód → egy aminosav
- univerzális: más fajokra is érvényes

A tRNS

Minden aminosavhoz saját tRNS tartozik, melyen antikodon kötőhely található, és egy akceptor vég, melyhez az aminosav kötődhet.



A tRNS-eknek egy ötödik, I bázisa is lehet, amihez háromféle bázis is kapcsolódhat. A tRNS-ek száma nem egyezik meg a kodonokéval, éppen az ilyen, több bázissal is párosulható részek miatt (Wobble-hipotézis).

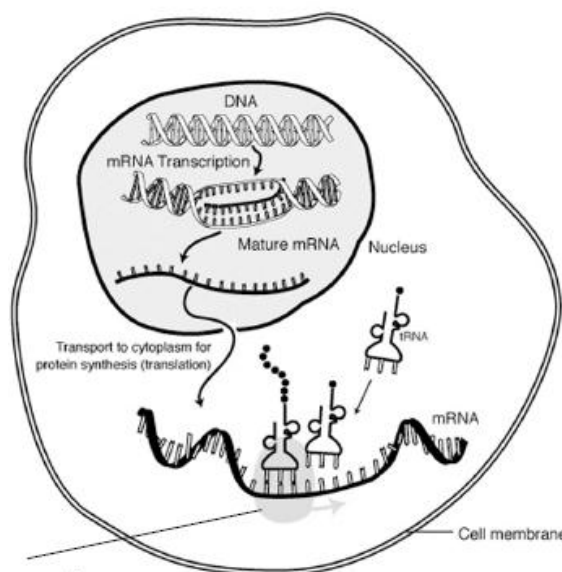
A fehérjeszintézis a **riboszómákon** történik, a citoplazmában, az endoplazmatikus retikulumon.

A riboszóma egy ribozim (azaz enzimként viselkedő RNS), RNS-fehérje komplex.

A kodonokat az **aminoacil-tRNS szintetázok** ismerik fel. A DNS polimerázokéhoz hasonló javító mechanizmussal is rendelkeznek. Az RNS aminosav-kötőhelye képes farokcsóválás szerű mozgásra az enzim két kötőhelye, az aktív hely és a javító hely között.

A szintézis inicializációja

Prokariótákban: az rRNS a fehérjékhez hasonlóan képes másodlagos és harmadlagos szerkezeteket is fölvenni. Egy ilyen, bonyolult térszerkezetű rRNS a **16S**. Az ezzel komplementert képező **Shine-Dalgarno szekvencia** után nem sokkal helyezkedik el az AUG (ritkábban GUG) start-kodon. Eukariótákban az **5' Cap** tölti be a Shine-Dalgarno szekvencia szerepét.



A szintézis (elongáció):

A riboszóma két alegysége az mRNS-re csatlakozik. Benne **három kötőhely** van tRNS-ek számára, amelyek magukkal hozzák a megfelelő aminosavat. Ez a három hely az **A** (aminoacil tRNS), **P** (peptidil tRNS) és **E** (exit.) A tRNS antikodon kötőhelye az mRNS-re csatlakozik. Miközben a tRNS-ek egymás mögé helyezkednek, a rajtuk lévő aminosavak összekapcsolódnak. Az így létrejövő polipeptid lánc egy alagúton/csatornán át távozik a riboszómából.

A riboszóma folyamatosan halad az mRNS láncán, amihez GTP hidrolízise adja az energiát.

A szintézis 5' → 3' irányú.

Termináció

Amikor a riboszóma elér a stop-kodonig, arra egyetlen tRNS sem tud rácsatlakozni. Helyükre az annak felismerésére képes RF1 és RF2 kerülnek, melyek szerkezete hasonló, és vízmolekulát szállítanak aminosav helyett. Így a peptidlánc képzése leáll.

In vitro transzláció: amikor mesterséges tRNS-ek segítségével nem természetes aminosavat építenek a láncba.

A szintézisben résztvevő további faktorok

Iniciáció: IF1, IF2, IF3

Elongáció: EF-Tu, EF-Ts, EF-G

Termináció: RF1, RF2, RF3

A kiemelték GTP-ázok.

III. 4. Fehérje lebontás: proteolízis

Szerepe:

- emésztés
- már nem szükséges fehérjék lebontása
- biológiai folyamatok szabályozása

A fehérje lebontását a peptidkötés elszakítására képes **proteáz** enzimek végzik.

Emésztés

Proenzim, zimogén: az emésztőenzimek inaktív alakja

Inaktív

- tripszinogén
- proelasztáz
- kimotripszinogén
- prokarboxipeptidáz
- prolipáz

Aktív

- tripszin
- elasztáz
- kimotripszin
- karboxipeptidáz
- lipáz

A lebontásra ítélt fehérjék először **ubiquitinnel** jelölődnek meg (csak eukariótáknál). Az ubiquitin izopeptid kötéssel kapcsolódik a célfehérje egy lizin oldalláncára.

Ezután a fehérje lebontása a **proteaszómában** zajlik le. Ez egy hordó alakú fehérjekomplex, 4×7 alegységből áll, a középső kettő β alegységen mutatható ki a proteáz aktivitás. A henger mindkét végén egy-egy sapka fehérje található, melyek rendelkeznek ubiquitin kötőhellyel, és feladatuk a fehérje unfoldingja és a proteaszómába juttatása.

A proteázok gátlása **inhibitorokkal** történik.

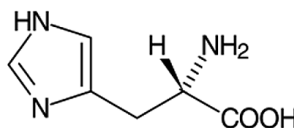
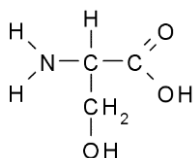
Kulcs-zár inhibitor: tökéletesen illeszkedik a proteáz aktív helyébe. Pl. BPTI.

Molekuláris egérfogó: **serpinek** (szerin proteáz inhibitor):

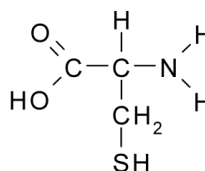
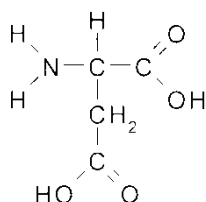
- A reaktív hurkot elhasítja a proteáz és létrejön az acil-enzim komplex.
- A hurok beékelődik egy β-lemezbe magával rántva a hasító proteázt.
- A katalitikus szerin pozíciója torzul, így egy **stabil, kovalens acil-enzim komplex** jön létre.

Képletek

Ser és His



Asp és Cys



III. 5. Rekombináns DNS technológia

A **ligáz** enzimet gyakran használják rekombináns DNS-ek létrehozásához, mivel bármilyen eredetű DNS szakaszokat képes összekapcsolni.

Polimeráz láncreakció (PCR) segítségével a sejtmagbeli DNS replikáció **in vitro** imitálása lehetséges, vektor és gazdatörzs nélkül, tetszőleges mennyiségben másolható a DNS, azonban ehhez ismerni kell a kezdő és befejező szekvenciákat. Legkritikusabb lépése a primer tervezése, melyet ma már általában számítógéppel végeznek.

A **qPCR** (quantitative) ennek valós idejű formája. A DNS-hez fluoreszcens festéket adnak, hogy nyomon követhessék a replikációt. Az intenzitás a PCR termék mennyiségével arányos. Relatív (pl. GAPDH belső kontrolhoz viszonyított) és abszolút kvantifikáció lehetséges.

A **DNS szekvenálása Sanger-módszerrel** történhet. A lánchoz didezoxi-nukleozid-trifoszfátot (dd A/T/G/C TP)-t adnak, amely képes megállítani a láncnövekedést. Ebből egy komplementer szekvenciát kapunk.

Az **agaróz gélelektroforézis** is alkalmas szekvenálásra. Hasonló a PAGE eljáráshoz, csak poliakrilamid gél helyett jóval nagyobb pórusméretű agarózt használunk.

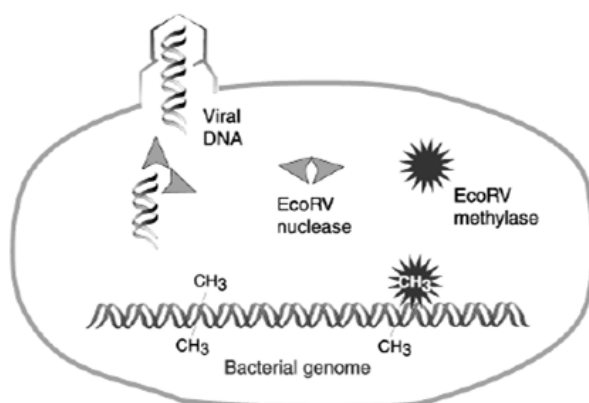
A **génszintézis elve**: a hosszú láncokat rövidebb szakaszokra (oligonukleotidokra) bontjuk. Ezeket ligázok segítségével vegyesek összefűzzük, ekkor már PCR-el sokszorozható.

A DNS klónozása

A speciális enzimekkel létrehozott mesterséges DNS szakaszt (**mutagenézis**) ligázzal egy **vektorba** (pl. plazmid) illesztjük. Az így létrejött rekombináns DNS-t megfelelő gazdaszervezetben (pl. E coli) sokszorozítjuk, és ezt a nagy mennyiségű klónozott DNS-t már analizálhatjuk.

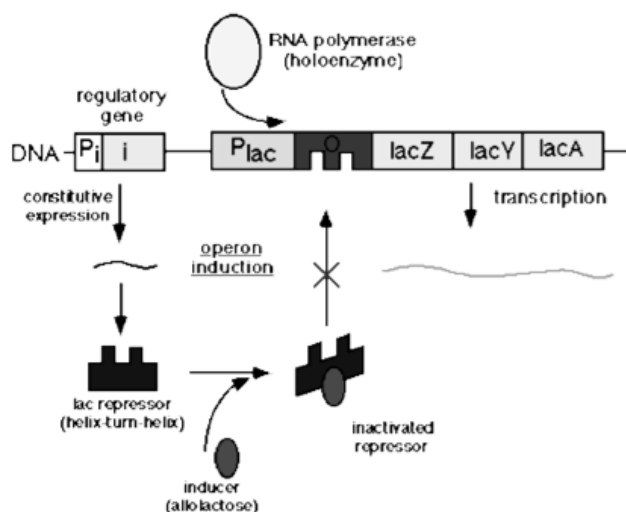
Ma már megtalálhatjuk a klónozni kívánt gén szekvenciáját az interneten, ezután a klón megvásárolhatjuk, vagy magunk szintetizálhatjuk PCR-el.

Restrikciós enzim: prokarióták immunrendszerének is mondható. **Endonukleázok**, melyeknek a baktériumokban megvan a saját metiláz párja, ez utóbbi akadályozza meg, hogy az endonukleáz lebontsa a DNS-t. Azonban az idegen DNS-eknek (pl. vírus) nincsen védelmező metiláz enzime, ezért azokat az endonukleáz lebontja. **Palindrom** génszakaszokat ismer fel, és azokat hasítja.



Rekombináns fehérje termeléséhez **cDNS**-t használnak: ez az mRNS reverz transzkriptázzal készült DNS másolata, mivel előbbiről habár rögtön szintetizálható lenne a fehérje, az RNS túl instabil klónozási célokra. A cDNS azonban alkalmas baktériumokban történő rekombináns fehérje termelésre.

Expresszió: az E coli **lac operátorán** alapul. Ez utóbbi represszor fehérje a DNS-hez kötődik, megakadályozva a róla történő átíródást, azonban indukáló szer hatására konformációváltozás lép fel, a lac represszor leválik, ekkor megindulhat a transzkripció.



Fehérjeexpresszió: a rekombináns fehérje nagy mennyiségű előállítás. Legkritikusabb lépése a gazdasejt kiválasztása, szempontok:

- fehérje mérete
- rekombináns fehérje hozam
- aktív fehérjére van-e szükség

IV. Lipidek, membránok, izomműködés

IV. 1. Rossz és jó koleszterin: LDL, HDL

Lipoproteidek: lipidekből (trigliceridek, szfingolipidek, foszfogliceridek, koleszterin) és fehérjékből állnak. Feladatuk a trigliceridek és a koleszterin szállítása a vérben. Előbbit a **lipoprotein lipáz** távolíthatja el.

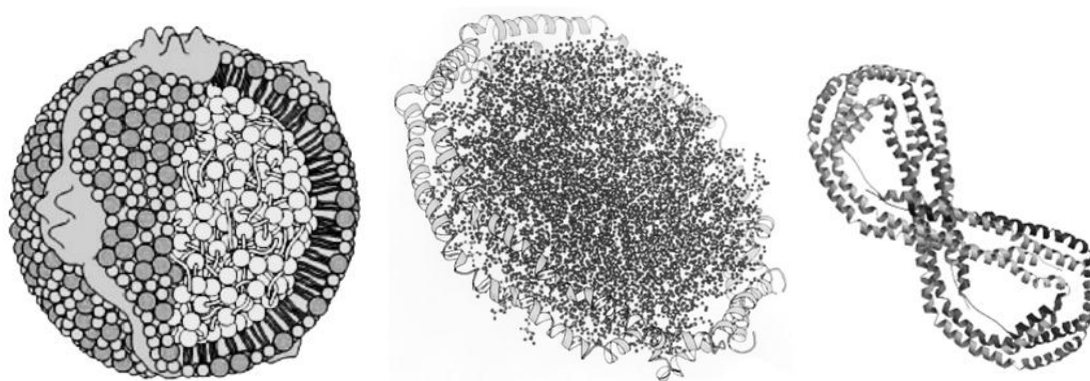
Két fajtájuk a **LDL** (low density ~) és a **HDL** (high density ~).

Előbbit a „rossz”, jelzővel szokták illetni, mivel könnyen lerakódik az erek falán, ami atheroszklerózishoz vezethet. LDL koleszterint és koleszterin észtereket szállít. A sejtek az **LDL receptoron** keresztül képesek felvenni, **endocitózissal** jut be a sejtbe.

A HDL a „jó koleszterin”, mivel nemcsak, hogy nem rakódik le, de felveszi a szabad és lerakódott koleszterineket, majd a májba szállítja újrahasznosításra. Kapcsolódhat hozzá egy észteráz, amely lebontja az oxidálódott lipideket.

Az **apo-lipoproteinek** a lipoproteidek alkotó részei. Nagyméretű, egyláncú fehérjék, melyek képesek megkötni a lipideket. A lipidek transzportjáért felelősek.

LDL, HDL és apo-lipoprotein:



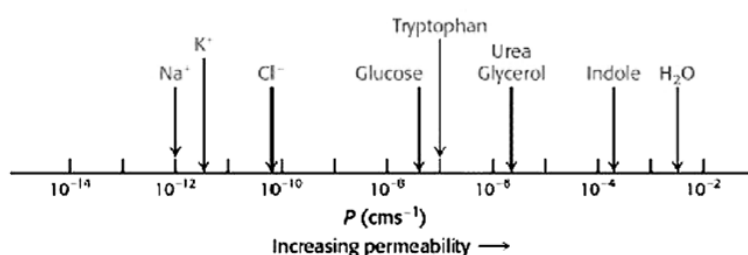
IV. 2. A membránok felépítése

A membrán tulajdonságai:

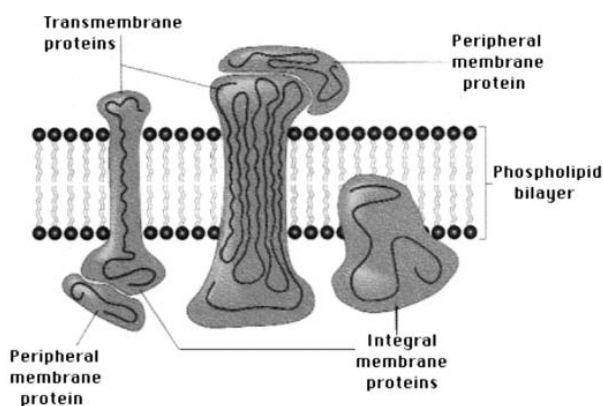
- elválaszt a környezettől
- elválasztja a sejtalkotókat egymástól
- szelektív áteresztőképesség/permeabilitás
- transzportfolyamatok zajlanak rajta
- átlagosan félig fehérjéből áll
- aszimmetrikus
- polarizáció (membránpotenciál)
- „2D folyadék” (laterális diffúzió)

A **liposzóma** egy membránhoz hasonló szerkezet.

Félig áteresztő (szemipermeabilis), ezért bizonyos anyagokat csak pumpák, csatornák és transzporterek segítségével lehet átjuttatni rajta.



Integrális (beékelődő) és **perifériális** (lazán kapcsolódó) **membránfehérjéket** tartalmaz, melyek legtöbbje α -helikális (kivétel pl. Porin, egy csatornafehérje).

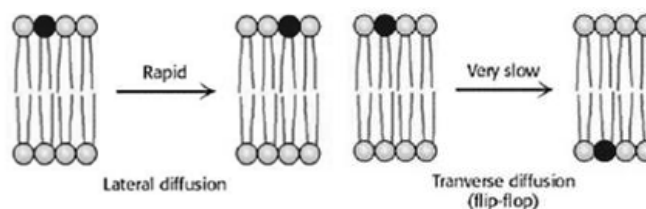


Ezek némelyike egy hidrofób **horgony** segítségével kovalensen kapcsolódik a membránba.

Transzmembrán fehérjék predikciója

A helikális transzmembrán szegmensek az aminosav-szekvenciából megjósolhatóak. Ezt úgy történik, hogy megnézzük, mennyi energia kell ahhoz, hogy egy aminosav maradékát átvigyük vizes közegbe a membránból. Így kap egy hidrofobicitási indexet. A leghidrofóbabb szakasz lesz a membránba ékelődve. β -lemezeknél (pl. porin) a módszer nem működik.

A membránokon könnyen történik **laterális diffúzió**, mivel „2D folyadékként” viselkednek. Azonban a flip-flop diffúzió (egyik oldalról másikra történő átugrás) lassan és nehezen zajlik le, a **flippáz** enzim segítségével azonban végrehajtható.



A membrándiffúzió mérése

Lipid kettősréteggel (membránféleséggel) elválasztott cellákban fluoreszcensen jelölt lipidet vagy fehérjét helyezük el. Ezt lézerrel gerjesztjük (photobleaching), majd abból, ahogyan a molekula visszaáll eredeti állapotában, következtethetünk a diffúziós állandójára, mivel ez az összefüggésben áll.

A diffúziót leíró egyenlet:

$$s = \sqrt{4 \cdot D \cdot t}$$

s: átlagosan megtett út

D: diffúziós állandó (lipidekre $\sim 1 \frac{\mu m^2}{s}$)

t: idő

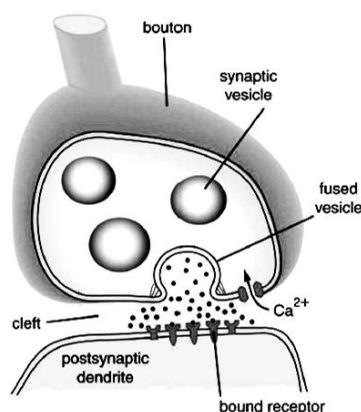
A membránok **asszimmetrikusak**, azaz létezik „kívül” és „belül”. A **flippáz** enzim válogatja, hogy mit helyez kívülre és belülre:

- **kívül:** kolin-tartalmú lipidek
- **belül:** terminális NH_2 csoportot tartalmazó lipidek

E mellett az Na^+/K^+ ATP-áz kifelé pumpálja a Na^+ , és befelé a K^+ ionokat, ezzel segítve a **membránpotenciál** fenntartását.

Sejthálál jelzője: az apoptikus sejtekben a foszfatidil-szerin a membrán külsejére kerül. Normál sejtekben ez bent található.

Szinapszis: idegsejtek egymás közötti jelátvitelére alkalmas része. A neurotranszmittert **bimbózással** (az endocitózis ellentéte) juttatja a két sejt közötti térbe, hogy a másik sejt receptorai érzékelhessék.



IV. 3. Membrántranszport

A membránok **szemipermeabilisek**. A **hidrofób** anyagok transzportja egyszerű diffúzióval zajlik, az **ionos** és **hidrofil** anyagok számára azonban a membrán átjárhatatlan.

A **hidrofób** anyagok (pl. bizonyos hormonok: ösztön, tiroxin, D-vitamin) könnyen átjutnak a membránon, ezért receptoraik a sejtmagban helyezkednek el.

A hidrofil és ionos anyagok transzportja

- **pumpák**
aktív transzport, kell energia (ATP vagy fény)
- **kotranszporterek**
aktív transzport, két anyag vándorol benne, egyik a koncentráció grádienssel egy irányban, a másik szemben
- **csatornák**
passzív transzport, a koncentráció grádienssel egy irányba, viszont szelektív

Membránpotenciál

A külső tér enyhén pozitívabb az Na^+ és Ca^{2+} iontöbblettől. Ezt a Na^+/K^+ pumpa segít fenntartani.

Nem töltött anyag átáramlásának „reakciójának” ($A_{\text{belső}} \rightarrow A_{\text{külső}}$) szabadentalpiája:

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln \frac{[A_{\text{külső}}]}{[A_{\text{belső}}]}$$

Ha a membrán mindkét oldalán ionok vannak:

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln \frac{[A_{\text{külső}}]}{[A_{\text{belső}}]} + z \cdot F \cdot \Delta U$$

z: töltés

F: Faraday-állandó ($96\,485 \frac{\text{C}}{\text{mol}}$)

ΔU : membránpotenciál (50-60 mV nyugalmi állapotban)

P-típusú ATP-ázok (pumpák, a „P” a foszforilációra utal)

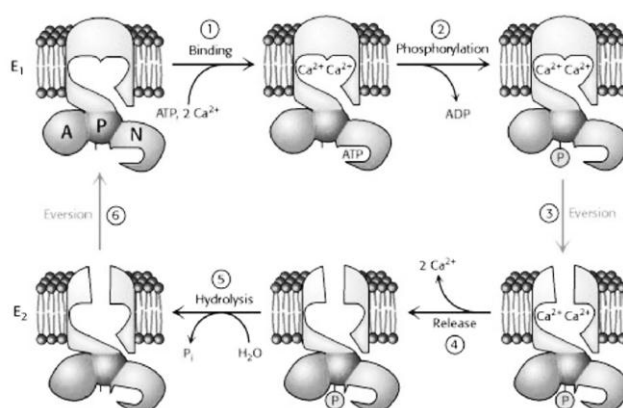
Ca^{2+} ATPáz

Az SR-ben (szarkoplazmás retikulum, izomsejtek ER-ja) a membránfehérjék 80% ez. A sejten belüli Ca^{2+} mennyiséget csökkenti, ezzel ellazítja az izmokat.

ATP-meghajtással képes „beszippantani” a Ca^{2+} -kat, majd a foszforiláció által kiváltott konformációváltozás kiengedi az inonokat az extracelluláris térbe.

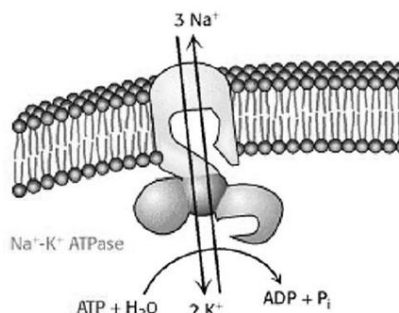
A foszfor hidrolízissel választódik le a molekuláról, ekkor a pumpa ismét „bezárul”.

A pumpa működése:



Na⁺/K⁺ ATPáz

Azaz Na⁺/K⁺ - pumpa. Aszimmetrikus működés (3Na⁺ ki, 2K⁺ be). Energiaforrása iongrádiens, a sejtben lévő ATP 20-50% e pumpa működtetésére fordítódik.



ABC transzporterek (ATP-binding cassette): bizonyos anyagok ki-be engedéséért felelős, gyógyszerrezisztanciák okozója lehet, diszfunkciója a cisztás fibrózis oka.

Kotranszporterek

Két anyag együttes transzportja. **Antiporter** ↑↓, ha a két anyag iránya ellentétes (pl. Na⁺ - Ca²⁺ cserélő), **szimporter** ↓↓, ha ugyanabba az irányba haladnak (pl. Na⁺ - glükóz szimporter).

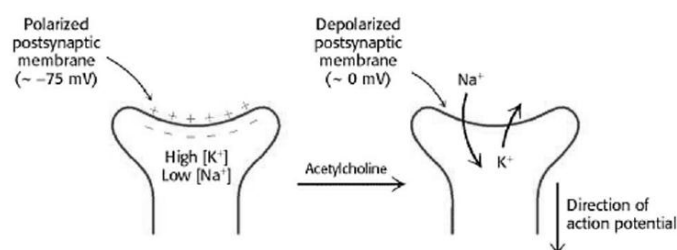
Csatornák

Gyors, szelektív transzport. Jellemzői:

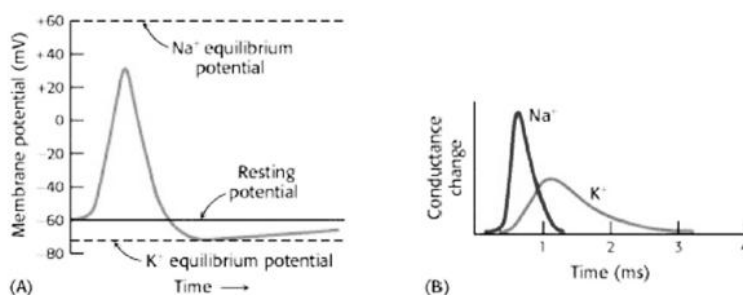
- passzív
- szelektív
- nyitott- és zárt állapot lehetséges
- a nyitás lehet: ligandum-függő, feszültség-függő
- általában spontán záródás

Acetil-kolin receptor

Ligandum-függő csatorna. A megnyílása a nagy mennyiségű K⁺ ki, és az Na⁺ beáramlását eredményezi, depolarizációt okozva.



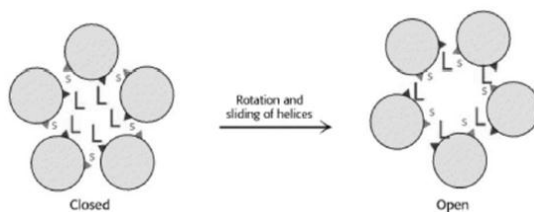
Ez viszi tovább az **akciós potenciált** a másik idegsejtbe, így megvalósul az **ingerületvezetés**.



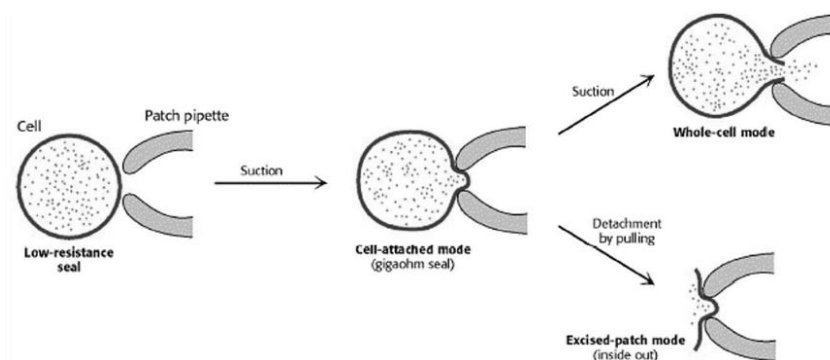
Lépések:

1. Kezdeti depolarizáció (pl. acetyl-kolin receptor által)
2. Na^+ csatornák **megnyílnak lokálisan**, ami további depolarizációt okoz
3. A depolarizáció tovább terjed ($\rightarrow$ a csatornanyitás terjed)
4. A Na^+ csatornák **bezárulnak**, közben a K^+ csatornák is megnyílnak $\rightarrow$ polarizáció
5. A Na^+ - K^+ pumpa helyreállítja a nyugalmi potenciált

A csatorna mozgása:



Patch-clamp technika

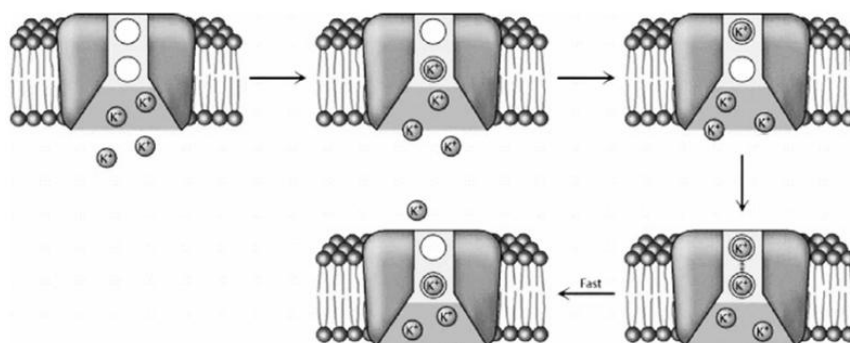


IV. 4. Ioncsatornák

Az ioncsatornák ismétlődő szakaszokból álló, pórusokkal (maguk a csatornák) rendelkező összetett fehérjék.

K⁺ csatorna

Szelektivitás: a 3 Å-széles csatornában a K⁺ dehidratálódik, és a csatorna falának CO csoportjaihoz kapcsolódik H-híddal. Na⁺ esetében a dehidratációt nem kompenzálja a CO-hoz való kötődés, ezért neki ez energetikailag nem kedvező.

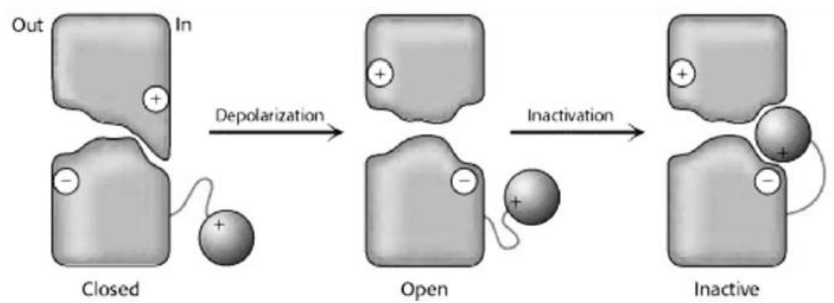


Haladás: a belépő K⁺ kilöki az előtte lévő.

Na⁺ csatorna

Szelektivitás: a hidratált K⁺ nem fér bele, mivel a K atom átmérője jóval nagyobb, mint a Na-é.

Láncos labda modell



Receptor:

- olyan idegvégződés, mely külső (pl. fény-, hang-, hő-) vagy belső ingert más, a többi sejt számára érzékelhető jellé (általában feszültséggé) alakít
- olyan fehérje, mely egy rá csatlakozó kisebb molekula (**ligandum**) hatására térbeli formaváltozáson megy keresztül, ezáltal változást okoz a környezetén pl. megnyit egy csatornát

Agonista: egy receptor ligandumát utánozza, ugyanoda köt és biológiai válaszreakciót okoz

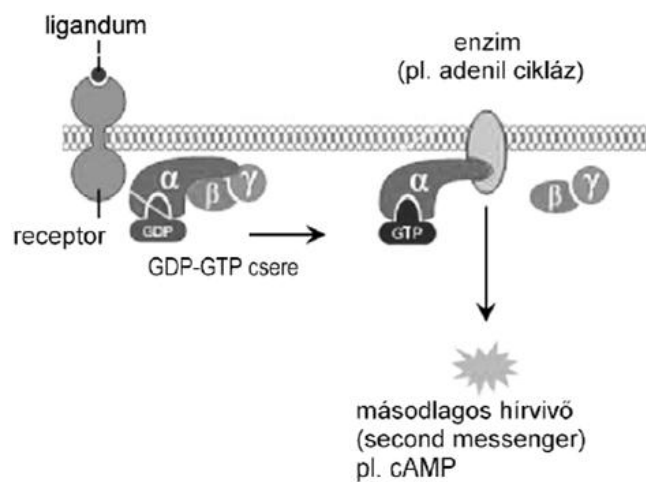
Antagonista: egy receptor ligandumát utánozza, ugyanoda köt és **gátolja** a receptor hatását

G-fehérje kapcsolt 7TM receptorok

7TM: 7 transzmembrán hélix receptor.

A leggyakoribb transzmembrán receptor, többféle van belőle.

Működése során a ligandum kötődésének hatására egy másodlagos hírvivőt (sejten belüli közvetítő) bocsát ki. Ez utóbbi lehet pl: cAMP, cGMP, inotisol, Ca^{2+}



VI. 5. Érzékelés és mozgás

Szaglás

Csillós végű neuronok, többféle kemoreceptorral a szaglóhámiban. A különböző illatanyagok különböző mintát adnak az alapján, hogy mely receptorokat aktiválták.

Látás

A retinal molekula konformációváltozása aktiválja a **rodopszin** receptort (ligandum kötés helyett).



Erős fényben színlátás: 3-féle csapsejt

Red: abszorpciós maximum ~560 nm

Green: abszorpciós maximum ~530 nm

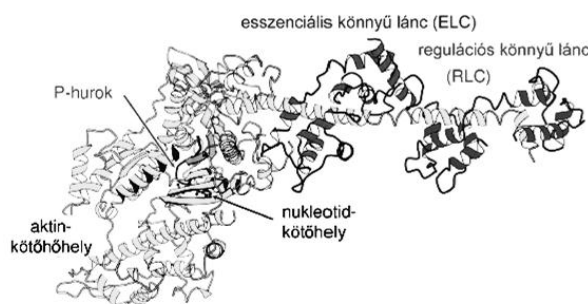
Blue: abszorpciós maximum ~460 nm

Fájdalom és hő

A VR1 (vanilloid) receptor kinyílását hő, sav és kapszaicin válthatja ki.

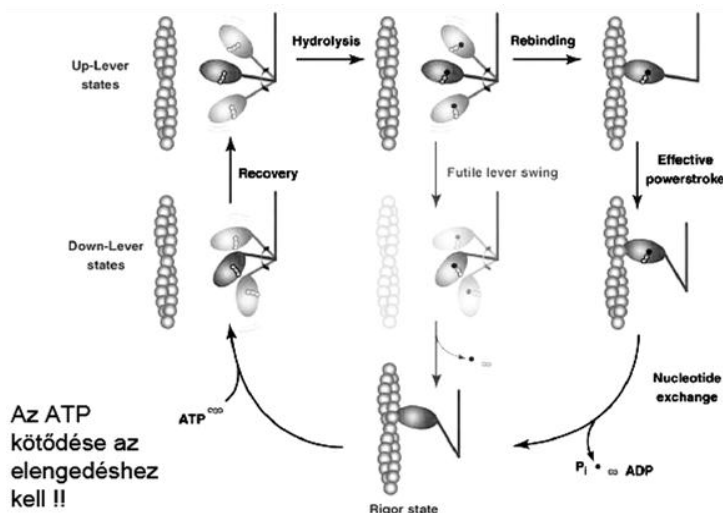
Mozgás

A **miozin** „feje”, a motor rész egy **P-hurok NTPáz**.



ADP és ATP formát vehet fel, ilyenkor kb. derékszögben elfordul. A konformációváltozást a hélixen a P-lopon a switch molekulák vátják ki.

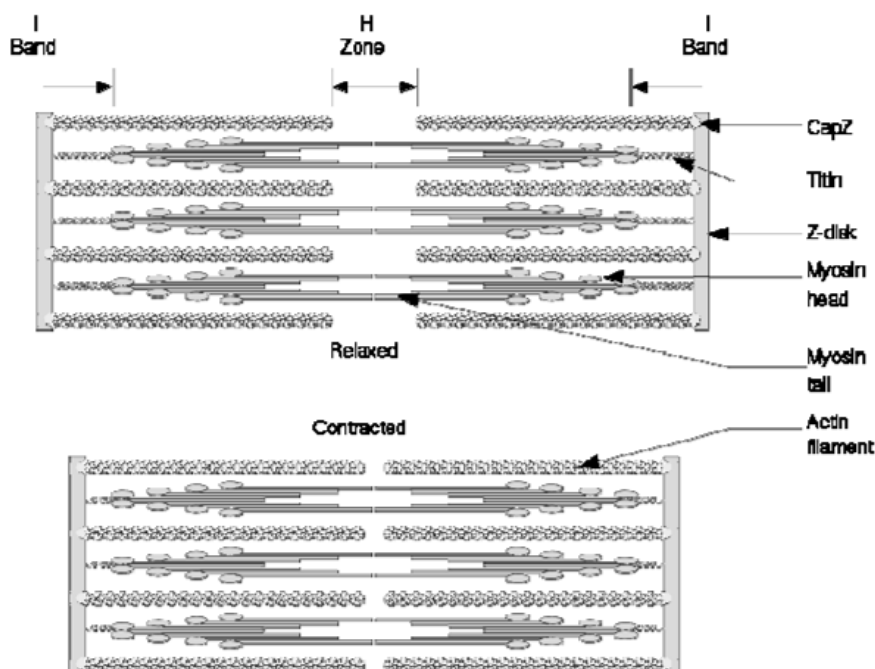
Az **aktin** egy polimer, egy kritikus koncentráció felett polimerizál ATP segítségével.



A miozin megragadja az aktin polimert, és meghúzza (**power stroke**), amelyet a foszfát és az ADP kilökődése okoz, a polimer elengedéséhez pedig egy ATP kötődésére van szükség.

Filamentum: sok miozin szál alkotta köteg.

Szarkomér: az izom „egysége”. Párhuzamosan, felváltva elhelyezkedő aktin-miozin szálak, egymással szemben. Amikor összehúzódnak, a szarkomer megrövidül.



Ca²⁺ szignál

Az aktin szálon különböző fehérjekomplexek (tropomiozin, tropomin) megakadályozzák, hogy a miozin kötődjön. A Ca²⁺ ion ezekhez a komplexekhez csatlakozva kiváltja azok leválását, szabaddá téve az aktin kötőhelyét a miozin számára.