

eukarióta sejtekben: van sejtmag, DNS szerveződés: lineáris molekulák, transzkripció a magban, transláció a citoplazmában egymástól elválasztva játszódik le, van belső membránrendszer, három féle belső váz, szemiautonóm organellek: mitokondrium és színtest

biológiai membránok vizsgálata: **fagyasztva törés**

A membránban lehetnek integráns és perifériás fehérjék, amelyek a membránhoz kapcsolható folyamatokat biztosítják. Csak a külső felszínen található cukor-oldallánc!

Az együtt működő fehérjék gyakran lipid „**tutajokba**” (raft) tömörülnek

A **membránfehérjék** (és a biológiai membránok) fő **funkciói:**

A membránon keresztül történő **transzport** folyamatok biztosítása

Energiatermelés (mitokondrium, kloroplaszt)

A külvilág felől érkező jelek fogadása, feldolgozása, továbbítása: **receptorok**

Kapcsolódás a szomszédos sejtekhez vagy az extracelluláris mátrixhoz: **sejtkapcsoló struktúrák**

Kapcsolódás a **sejtváz**hoz, A sejtidentitás kialakítása

A **passzív** transzport esetében a mozgás irányát a koncentráció- és/vagy töltéskülönbség határozza meg. Az **aktív** transzport energia felhasználásával az elektrokémiai koncentráció-grádienssel szemben szállít.

A csatornák és a transzporterek esetében a mozgás irányát a koncentráció- és/vagy töltéskülönbség határozza meg.

A **csatornák** csak ionokat engednek át, valamilyen jel (legtöbbször feszültségváltozás, molekulakötődés) hatására. Egyes esetekben csak egyfélét, máskor többfélét is.

A **transzporterek** három csoportba oszthatók

uniporter: Az uniporterek mindig az alacsonyabb koncentráció felé szállítanak, egyféle anyagot

szimporter: A szimporterek azonos irányba szállítanak, az egyik anyagot koncentráció-grádiens mentén, a másikat azzal szemben

antiporter: Az antiporterek ellentétes irányba szállítanak, az egyik anyagot koncentráció-grádiens mentén, a másikat azzal szemben

A **pumpák** energia (ATP)-befektetéssel szállítanak koncentrációgrádiens ellenében

A **Na⁺ /K⁺ ATP-áz** (pumpa) egy ATP „költségén” 3 Na⁺ -ot visz ki és 2 K⁺ -ot hoz be a sejtbe

Az ioncsatornák és a pumpák működése révén a plazmamembrán két oldalán feszültségkülönbség jön létre – ez a **membránpotenciál**

Autotrófok: azok az élőlények, akik szervetlenből (CO₂) is képesek szerves anyagokat előállítani.

Heterotrófok: csak szerves vegyületekből tudják saját szerves anyagaikat előállítani.

Glükolízis a citoszolban, egy glükóz molekulából két piruvólsav és NADH, két ATP képződik

Fermentáció Anaerob körülmények között a piruvólsavból - etanol vagy tejsav képződik

citromsavciklus eukariótákban a ciklus a mitokondriumok mátrixában zajlik

A glükóz sejtekben történő lebontása folyamán 36 ATP molekula képződik, amelyek energia tartalma 1807 kJ

Gén: a DNS olyan jól definiált szakasza, amely egyetlen RNS alapján egyetlen (vagy több nagyon hasonló szerkezetű) fehérje vagy funkcionális RNS képződését kódolja.

Transzkripció: $2 \times \text{ATGC: DNS} \rightarrow 1 \times \text{AUGC: mRNA}$

Transzláció: $1 \times \text{AUGC} \rightarrow \text{His Thr Glu: Fehérje}$

Kromoszóma $\rightarrow$ heterokromatin fonal $\rightarrow$ eukromatin Szál + hurkok $\rightarrow$ gyöngysor,
gyöngy = nukleosóma $\rightarrow$ DNS kettős helix

Genom: a faj egy egyszerűes kromoszómakészletébe foglalt örökítő anyag (DNS) összessége

Kariotípus: egy sejt kromoszóma-állománya legtömörebb formájában (melyet osztódáskor, metafázisban vesz fel) elrendezve. A sok kis x-formájú bigyóka

A **DNS polimeráz** mindig $5' \rightarrow 3'$ irányban készíti az új szálát, meglévő $3' -\text{OH}$ véghez tud kapcsolódni, egyszálú DNS-ről nem tudja elkezdni a másolást. Tehát a replikáció a $3' \rightarrow 5'$ szálon (vezető szál) simán fut, a másikon: $5' \rightarrow 3'$ (lusta szál) létrejönnek az Okazaki-fragmentumok, utóbbiak végül összekapcsolódnak.

Mitózis: kromoszómaszám-tartó osztódás. Diploid leánysejtek.

Mitózis: diploid anyasejt (I I) $\rightarrow$ replikáció $\rightarrow$ (X X) $\rightarrow$ mitózis $\rightarrow$ (II) (II): diploid leánysejtek
profázis: távolodó centroszómák, formálódó mitotikus orsó, kromoszómák tömörödése
prometafázis: kialakul a mitotikus orsó, fragmentálódó sejtmaghártya
metafázis: nincs sejtmaghártya, kromoszómák az egyenlítői síkban, bekötődtek a kinetochor mikrotubulusok
anafázis: mikrotubulusok toló és húzóereje miatt távolodnak a pólusok, és távolodnak a kromatidák
telofázis: sejtestest kettéválása, kialakul a sejtmaghártya

Mitotikus nondiszjunkció: egyik sejtbe kevesebb kromoszóma megy $\rightarrow$ Down-mozaik

Kromoszómavesztés: XY-ban XY/XO: női/férfi vagy XX-ben XX/XO: Turner-mozaikok jönnek létre

Meiózis: kromoszómaszám-felező osztódás. Haploid ivarsejteket hoz létre.

Meiózis: replikáció (I I i i) $\rightarrow$ (XX xx) $\rightarrow$ meiózis I: (X x) (X x) $\rightarrow$ meiózis II: (I i) (I i) (I i) (I i)
replikáció: csak egyszer történik meg
profázis: apai és az anyai eredetű homológ kromoszómák párba rendeződnek hosszuk mentén, tetradok, crossing over, felbomlik a maghártya, kromoszómák szállításra alkalmassá válnak
metafázis: pólusokhoz másznak a kromoszómák, a tetradok rendeződnek
anafázis: homológ (egyforma) kromoszómák szétválnak, leány kromoszómák (x-ek) együtt maradnak
telofázis: kettéválnak a sejtek
meiózis II (ugyanazek még egyszer): leánykromatidák szeparálódnak, haploid ivarsejtek.

Nondiszjunkció a meiózis I folyamán: hibás (aneuploid) ivarsejtek (4db) azaz
(X x) (X x) helyett (X)(X x x), ebből (I i) (I i) (I i) (I i) helyett (I) (I) (I i i) (I i i) lesz

Nondiszjunkció a meiózis II folyamán: hibás (aneuploid) ivarsejtek (2db) azaz
(X x) (X x) még jó, ebből (I i) (I i) (I i) (I i) helyett (I i) (I i) (I) (I i i) lesz

Nondiszjunkció következményei:

- Down-szindróma (21. kromoszóma triszómiája)
- X0, Turner szindróma (hiányzik az X kromoszóma, (meiosis I nondiszj.))
- XXY, Klinefelter szindróma (plusz X kromoszóma (meiosis I nondiszj.))
- trisómia (XXX, (meiosis II nondiszj.))

uniformitás szabálya: az F1 generáció tagjai egyformák. A domináns tulajdonság a fenotípusban

szegregáció szabálya: az eredeti szülői tulajdonságok a második generációban 3:1 arányban

Gén: az öröklődés, és a genetikai funkció egysége (a DNS jól definiálható szakasza).

Lokusz: a gén helye a kromoszómában.

Genotípus: egy élőlény genetikai tartalma, egy vagy több gént, tulajdonságot illetően.

Fenotípus: mindazon látható jellegzetességek összessége, amelyek a genetikai tartalom és a környezeti tényezők együttes hatására fejlődnek ki.

Allél: a gén olyan változata, amely a gén többi változatától megkülönböztethető.

Vadtípus: egy adott génnek a természetben leggyakrabban előforduló változata. A géneket gyakran a ritka (mutáns) allél alapján nevezik el!

Heterozigóta: olyan élőlény, amely két homológ kromoszómáján egy adott gén két különböző allélját hordozza.

Homozigóta: olyan élőlény, amely két homológ kromoszómáján egy adott gén ugyanazon alléljait hordozza.

Hemizigóta: a diploid élőlényekben egyetlen kópiában jelenlevő génekre vonatkozó állapot (mint pl. az X kromoszómákhoz kapcsolt tulajdonságok az XY egyedekben).

Recesszív: olyan allél, amely fenotípusa csak homo-, vagy hemizigóta állapotban nyilvánul meg.

Domináns: valamely allél azon képessége, hogy heterozigóta állapotban is meghatározza a fenotípust.

Expresszivitás: egy tulajdonság kifejeződésének mértéke a fenotípusban, az egyedek szintjén.

Penetrancia: a fenotípust mutató hordozók aránya a populáció szintjén.

Tesztkeresztelés: homozigóta recesszív partnerrel végrehajtva az utódok fenotípusa megmutatja a másik szülő genotípusát.

Reciprok keresztezés

cross I: fehér szemű a hím, és piros szemű a nőstény (tiszta vonalból!) Eredmény: minden utód piros szemű. Ezután felcserélik a két különböző fenotípust mutató egyed nemét:

cross III: fehér szemű a nőstény, és piros szemű a hím. Eredmény: nem minden utód piros szemű (és fehér szeműek csak a hímek)

Nemhez kötött öröklődés esetében a reciprok keresztezés nem ugyanazt az eredményt adja a különböző fenotípusú utódok arányában.

inkomplett domináns (intermedier vagy szemidomináns), és a **kodomináns öröklődés**menet

Mendel 3. szabálya: a független kombinálódás elve 9:3:3:1 (együttes öröklődés), rekombináció fellép

Kapcsolt öröklődés: Ahhoz, hogy két, azonos kromoszómán található gén egymástól függetlenül kerüljön a haploid ivarsejtekbe, közöttük kell a rekombinációnak (crossing over) bekövetkeznie. Ez nem mindig következik be. A távolság egysége: cM (centiMorgan)

Anyai hatás: valamely tulajdonságát az utódnak a szülő („anya”) genetikai állománya szabályozza, függetlenül a zigóta genotípusától.

Anyai öröklődés: A csodatölcsér levélszíne csak az „anyát” – a – női virágot – hordozó hajtás fenotípusától függ

Mutáns fenotípusok baktériumokban: **lehetőségek a szelekcióra**

1. Rezisztens ↔ érzékeny
2. Auxotróf ↔ prototróf (mégél minimál táptalajon)
3. Képesség, illetve a képesség hiánya valamilyen tápanyag (szénforrás) hasznosítására
4. Kondicionális (letális) mutánsok: permisszív körülmények között nem, csak restriktív körülmények között érvényesül a mutáció hatása

Genetikai **információcsere** baktériumokban

1. **Transzformáció:** DNS felvétele a környezetből
2. **Transzdukció:** fágok viszik új (recipiens) baktériumba az elpusztult gazdabaktérium (donor) DNS-ét
3. **Konjugáció:** közvetlen DNS-átadás két élő baktérium között – egyirányú!

A konjugáció megszakításával megállapítható, milyen sorrendben helyezkednek el a kromoszómán a gének – „**perctérkép**”

transzpozonok: képesek a genomban „mozogni”, helyüket változtatni „cut and paste” elven. A transzpozonok, azaz mozgékony genetikai elemek olyan speciális DNS-szekvenciák, amelyek változtatni tudják helyüket a genomban, kivágódnak vagy átmásolódnak, majd beillesztődnek a genetikai állomány egy másik pontján.

A **retrotranszpozonok** „copy and paste” elven mozognak: az eredeti kópia megmarad egy RNS intermedierek és egy reverz transzkriptáznak köszönhetően

A mérsékeltén repetitív szekvenciák döntő többségét transzpozonok alkotják.

Mozaikosság: különféle geno- és/vagy fenotípusú sejtek együtt- élése ugyanazon élőlény testében. Bekövetkezhet mutáció, mitotikus rekombináció, mitotikus nondisjunkció, pozíció-effektus variegáció (funkcionális mozaik), X kromoszóma inaktiváció miatt. A genetikai anyag minősége, mennyisége vagy funkciója eltérő az élőlény testét alkotó sejtekben.

mozaik: olyan élőlény, amely testét különféle geno- és/vagy fenotípusú sejtek alkotják.

Variegáció: adott háttéren más fenotípust mutató sejtek megjelenése valamely szövetben, élőlényben. Gyakori oka: transzpozon beépülése a génbe

Kimérák többszörös vagy részleges megtermékenyülés, (~kétpetűjű ikrekből egy lesz) petesejt fúzió, aggregáció (két fajtól, embriók fuzionáltatásával képződnek), Injekció („knock-out” technikával), Sejtcsere miatt

Az RNS-polimeráz mindig 5'→3' irányban készíti az RNS szálát szabályozó régió strukturális/kódoló régió - Mintaként a DNS 3'→5' irányultságú templát szála szolgál, az itt található bázisok komplementerei kerülnek bele az új RNS-be.

A DNS-nek mindkét szála lehet értelmes – különböző gének esetében

Az eukariótákban is van TATA-box, csak kicsit távolabb (~30 bp a transzkripció start előtt)

Van itt is egy közeli szabályozó régió, a **promóter**, ahová az úgynevezett transzkripció faktorok kötődnek

az eukarióta gének átíródo részének szerkezetét is: exonokból és intronokból áll

DNS (intronok+exonok) → **transzkripció** → splicing (csak exonok maradnak, mRNS érése) → export
→ transzláció(fehérje)

A **splicing** „értelme”: Az exonok különböző kombinációjával egy génről több eltérő fehérje képződhet: „**alternatív splicing**”

A polyA-farok az **mRNS** exportját, stabilitását, **élethosszát** is befolyásolja.

A DNS tehát nemcsak azt kódolja, hogy milyen fehérjék képződjenek, hanem azt is, hogy belőlük milyen sejttípusban, az egyedfejlődés melyik szakaszában, és mennyi szintetizálódjon.

Transzláció: A genetikai kód lefordítása fehérjévé. Az mRNS-ben kódolt információ a transzláció során fordítódik át az aminosavak „nyelvére”. A transzlációt a riboszómák végzik, transzfer RNsek közvetítésével. az a folyamat, amely során az mRNSben kódolt genetikai információ alapján fehérje képződik

Centrális dogma: transzkripció, RNS feldolgozása, transzláció(riboszómán).

A riboszóma alegységei eukariótákban a magvacskában szerelődnek össze.

A **tRNS**-ek olyan kis, kb. 70-80 nukleotidból álló adapter funkciójú RNS-ek, amelyek aktivált aminosavakat szállítanak a fehérjeszintézishez.

Egy tRNS-re mindig csak egyféle aminosav kapcsolódhat a 3' végén.

Az aminosavak aktiválása ATP felhasználásával történik, majd az adenilált aminosav kapcsolódik a tRNS 3' végére

eIF4: eukarióta transzlációs iniciációs faktor ! alegységei a cap-hez és a poli-A farokhoz kötődnek

A riboszóma kis alegysége megköti a metionint szállító iniciátor tRNS-t eIF2 iniciációs faktoral.

Az első AUG kodonnál az iniciációs faktorok leválnak, és kötődik a nagy alegység

A nagy alegységen három kötőhely van(EPA) a tRNS-ek számára, de egyszerre mindig csak 2 foglalt

Iniciáció, elongáció, termináció(release-faktor).

A termináció akkor következik be, mikor a riboszóma egy stopkodonhoz érkezik az mRNS-en

A riboszómán megsintetizálódott fehérje legtöbbször még nem működőképes, dajkafehérjék segítik szerkezetük kialakításában.

A fehérjék lebontása proteaszómákban vagy Autofágiával történik.

Mutáció: az örökítő anyag hirtelen bekövetkező és sejtről sejtre öröklődő változása.

A mutációk képződhetnek spontán vagy indukált módon

Az olyan báziscsere-mutációkat, amelyekben egy purin bázis helyét egy másik purin bázis veszi át (vagy az egyik pirimidinét a másik) **transziciónak** nevezik (A=T → G≡C vagy G≡C → A=T).

Az olyan báziscsere-mutációkat, amelyekben egy purin bázis helyére pirimidin bázis kerül (vagy egy pirimidin bázis helyére egy purin bázis) **transzverzióknak** nevezik (pl. A=T → T=A vagy C≡G).

tautomer átrendeződések: amino<-->imino, keton<-->enol, C=A és G=T

Bázispárcsere típusú mutáció létrejötte **depurináció** miatt: a bázisok és a dezoxiribóz közötti glükozidos kötés törése a purin bázisok elvesztését eredményezi, ez a spontán mutációk leggyakoribb formája.

Bázispárcsere típusú mutáció létrejöhet **deamináció** miatt.

A replikáció során az ismétlődő bázisoknál az új vagy a régi szál hurkot képezhet → **addíció** vagy **deléció**. Hasonló eredményhez vezet az egyszálú törés javításakor a DNS-szálak téves párosodása.

tranzíció típusú mutáció: $T=A \rightarrow T^*=A \rightarrow T^*3G \rightarrow C3G$ (3db replikáció)

Kivágásos (excíziós) reparáció

I: bázis-kivágás A hibás bázist specifikus glikozidázok ismerik fel és vágják ki.

II: nukleotid-kivágás. A struktúra jelentősebb változásával járó DNS-károsodás javítására szolgál.

pontmutáció:

Bázispár-csere típusú mutációk

Néma mutáció Ugyanannak az aminosavnak a kódja alakul ki

Értelmetlen mutáció STOP kód kialakulása

Halk mutáció Egy aminosav helyén azonos jellegű lesz (pl. Glu→Asp)

Téves mutáció Egy aminosav helyére más típusú kerül (pl. Glu→Val)

Lánchosszabbító mutáció Egy STOP kód helyére aminosavat kódoló kerül

Kereteltolódásos (frameshift) típusú mutációk A mutáció alapja: addíció vagy deléció a nyitott leolvasási keretben (ORF) – emiatt a transzláció közben “elcsúszik” a tripletek határa

A mutációkat a fehérjék funkciójára gyakorolt hatás alapján is osztályozhatjuk

amorf mutáció: teljesen megszűnik a fehérje funkciója (pl. teljes génvesztés, vagy termelődő, de működésképtelen fehérje)

hipomorf mutáció: csökkent aktivitás (kevesebb, vagy kevésbé hatékony fehérje képződik)

hipermorf mutáció: túlzott aktivitás (több vagy aktívabb fehérje képződik)

neomorf mutáció: új funkció vagy új expressziós mintázat kialakulása

antimorf mutáció: a fehérje nem működik, de ráadásul akadályozza a sejtben az ép fehérjék funkcióját is

kromoszóma mutációk

inszerció(egyikből másikba megy bele) **transzlokáció**(kicserélődik a két krom.ban valami)

deficiencia(egy krom.ban eltűnik egy rész) **duplikáció**(megdupl. -II-) **inverzió**(megfordul -II-) kariotyping-gal kimutathatóak

mutagének: olyan hatás, amely képes a mutációk indukciójára.

reverzió következtében visszaáll a normális fenotípus

szuppresszor mutációk is második mutációk, amelyek vagy helyreállítják az eredeti fenotípust, vagy csökkentik a mutáns fenotípus erősségét - de mellettük megmarad az első mutáció is.

extragénikus szuppressziók esetében a második (a szuppresszor hatású) mutáció nem ugyanabban a génben következik be, mint az első mutáció.

reparáció a DNS-hibák enzimatisz javítását jelenti

Klónozás: egyetlen sejt/élőlény szaporodása/szaporítása ivartalan szaporodással/szaporítással.

Molekuláris klónozás: egyetlen DNS-szakasz megsokszorozása és fenntartása élőlényekben, vektor segítségével.

Vektor: olyan DNS molekulák, amelyek alkalmasak arra, hogy idegen eredetű DNS-szakasz épüljön beléjük, azt valamilyen gazdasejtbe juttassák és sokszorozzák.

DNS-fragmentek készítése klónozáshoz

- Fizikai „darabolással”
- Restrikciós enzimmel/enzimekkel
- Polimeráz láncreakcióval.

Rekombináns DNS: különféle eredetű szakaszokból álló DNS

restrikciós enzimek: DNS-t reprodukálhatóan, jól meghatározott helyen lehet elvágni, hasítani velük

genomkönyvtár: olyan vektorok gyűjteménye, amelyek valamely faj teljes genomját tartalmazza

RFLP: restrikciós fragment hossz polimorfizmus.

Egy mutáció létrehozhat vagy elronthat restrikciós helyet – az adott szakasz amplifikálása után végrehajtott emésztés alapján a restrikciós fragmentek hossza alapján eldönthető a mutáció jelenléte a genomban.

VNTR: variable number of tandem repeats. Analízis.

változó számú, repetitív bázis sort mutat ki két kromoszómán. többször végzik el.

SNP: single nucleotide polymorphism.

Olyan egy bázispár különbségen alapuló polimorfizmus, amely a populáció legalább 1%-ában jelen van. Bárhol lehet a genomban! Alkalmazás: betegségek, öröklődésmintázat, személyazonosítás, emberi evolúció

Southern blot: DNS→emésztés→gélelektroforézis→filterezés jelölt próbával→DNSpróba hibridizál a komplementerszállal→ tisztítás, detektálás, csak az látszik aminek kell

Northern blot: RNS→emésztés→gélelektroforézis→filterezés jelölt próbával→DNSpróba hibridizál a komplementerszállal→ detektálás, csak az látszik aminek kell

Western blot: fehérjék→emésztés→gélelektroforézis→ellenanyag próba

GFP: Green fluorescent protein

Egyszerűen aktiválható (kék fénnel) és detektálható (fluoreszcens mikroszkóp)

Nincs szükség szubsztrátra

élő minta is vizsgálható – időbeli változások követése!