

20. Sejt kapcsolatok, és a sejtközi állomány (extracellularis matrix)

20.2

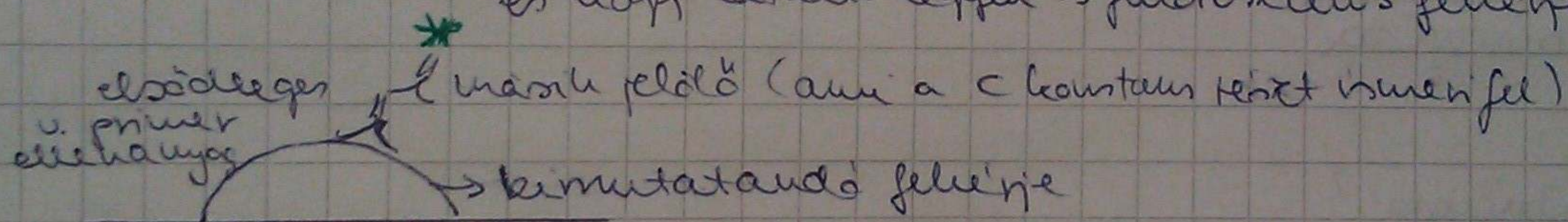
- A hám mely részében van? - megvan, hogy melyik gén vonatkozik el
(a hemideszmoszómában)

- immunfestés: a génről előidézett mRNA-t polyA farkával
↳ β-gal kihalászként → reverz transzkriptáz segítségével
cDNA-t készítek (rövidebb, intron mentes) → plasmidba
rakjuk bakteriumba klónoztatjuk
(az expresszió vektoron rajta van a promóter, a ribozóma kötőhely
és a cDNA is)

↳ felhíjásintézés → affinitás kromatográfiával a kívánt
felhíj kinyerhető

↳ extraktjuk és ellenanyagot termeltetünk

és hogy látható legyen → fluoreszcens felhíj



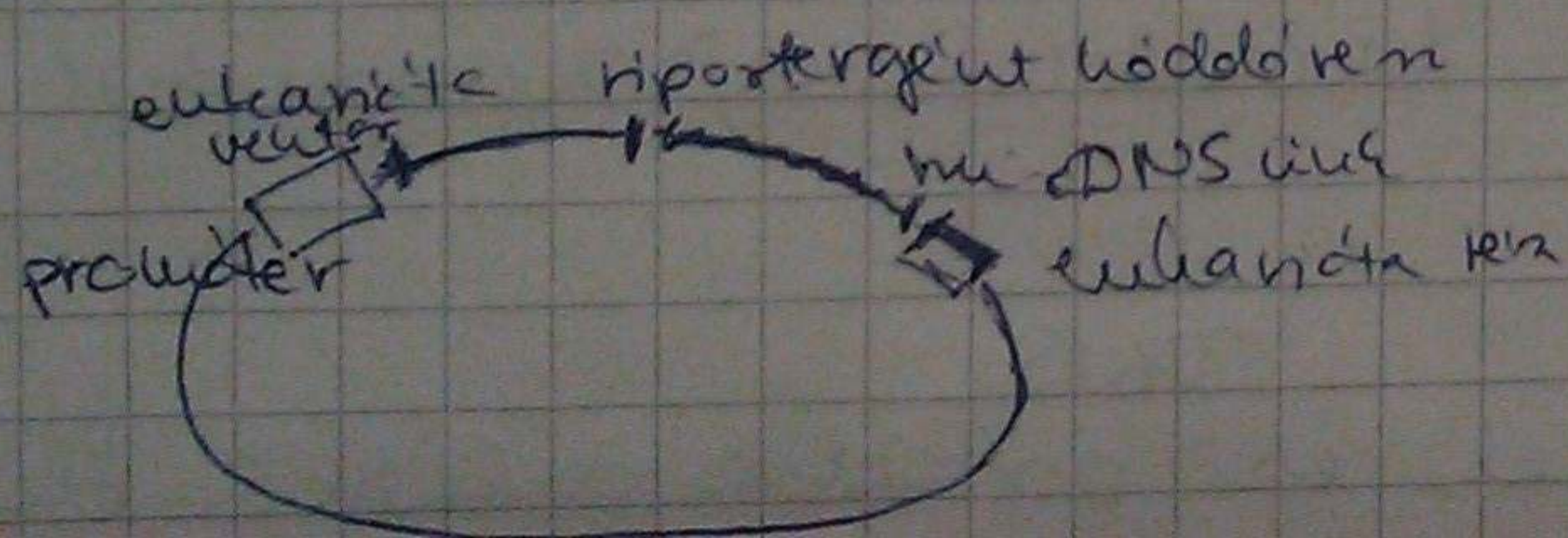
keletkezett elsődleges ellenanyag

izolálunk emberi hámsejteket, immunetolérianciával végig nézzük →

látható hol lokalizálódtak

- riportergén: GFP és rhodamin
(in vivo látható)

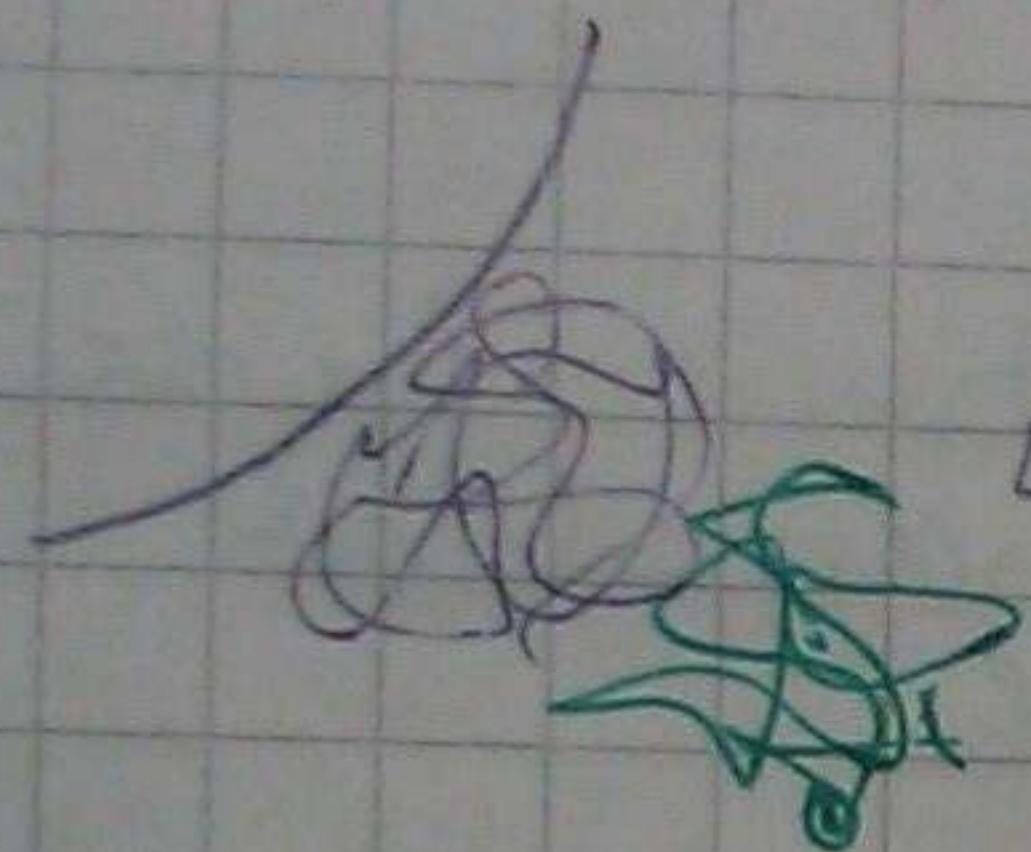
β-galaktoszidázal történő festés vizuálisan
jelzőtűvel



beinjektáljuk a cDNA-t, mellette
egy riportergént → beinjektáljuk
a sejtekbe vagy transzgenikus
állatot hozunk létre

egy hipotézist → bejuttatjuk
a sejtek vagy transzgenikus
állatokhoz hasonlóan

- Funkciója? - kölcsönhat a bőr
közvetlen partnerrel



milyen visz. felére kapcsolódhat hozzá?

affinitáskvantatográfiával kimutatva
(enzim substrát készlet kimutatása)

hordozó felületre kötődik

teljesen mindegyik sejttranszgenikus és megfigyelik, mit tudunk vele kimutatni →
azokat azokat meg lehet kimutatni, és vizsga lehet következtetni

HO teljes: interakciós partner keresése

- Nulla allél vagy gyenge allél?

nulla allél: egyáltalán $\emptyset$ kötődik felülethez → eredmény = funkció teljes hiánya

gyenge allél: kötődik felülethez, de az gyenge lehet

Western blot a felismerést kimutatására.

→ akrilamid géllel juttatjuk → méret szerint szeparál

→ kiválasztjuk hordozó blotra, elismagyagot nyomunk rá és kontrollal
szemben vizsgáljuk, hogy van-e jel és milyen erőse

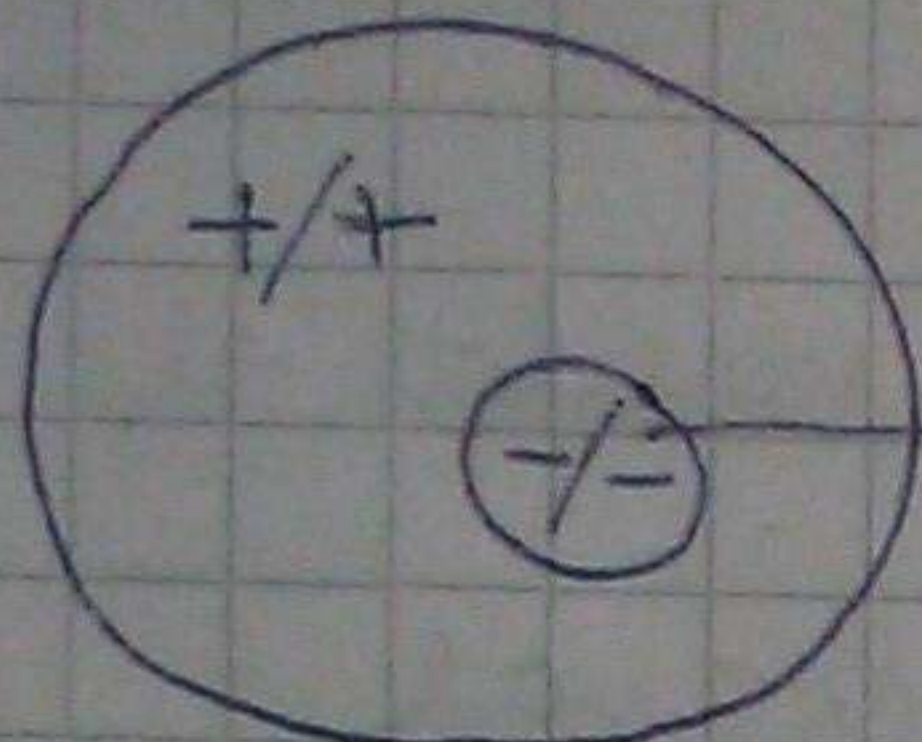
- látni van csak nagyon nagyban, de halványabb → $\emptyset$ elég a koncentráció

- látni van a jel, nagyon nagy, megerősítés meg kell → de egy aminosav-
cseré miatt $\emptyset$ megfelelő

- van csak, nagyon intenzitási, de rövidebb → deletáció

20.4

1,



→ itt sem fog mutatni a betegség

ép emberre beteg bórda ráb

2,



→ a környezet sem mutatja a betegséget

épet beteg bórfa felére átker

A gén alapvető komponensét teremt.
Nem autotóm a gén aktivitása → Kulcs a sejtől → ez magyarázhatja a jelenségét.

1. esetben a jó komponens hiányzik a beteg bórda ráb
2. esetben az ép által termelt anyag a hővel a környezetbe eljut

21. Sejt és sejtmozgás

21.2

- Milyen gének mutációja?

Működik a tubulin lánc: → dinamin motor molekulák mutációja
→ összekötő felület mutációja: nexin: egymással képest a mikrotubulus kötések nem mozdulnak el → nem lesz belőle elhajlás
(a betegség nem jár → különben nem tudna tovább adni)

- Kimutatás:

- CDNS CHIP: sejt típus kifejeződésének változása mutatható ki
kontroll sejt típusból (ép) kezelt (beteg) sejt típusból

CDNS

megjelölés

fluoreszcens

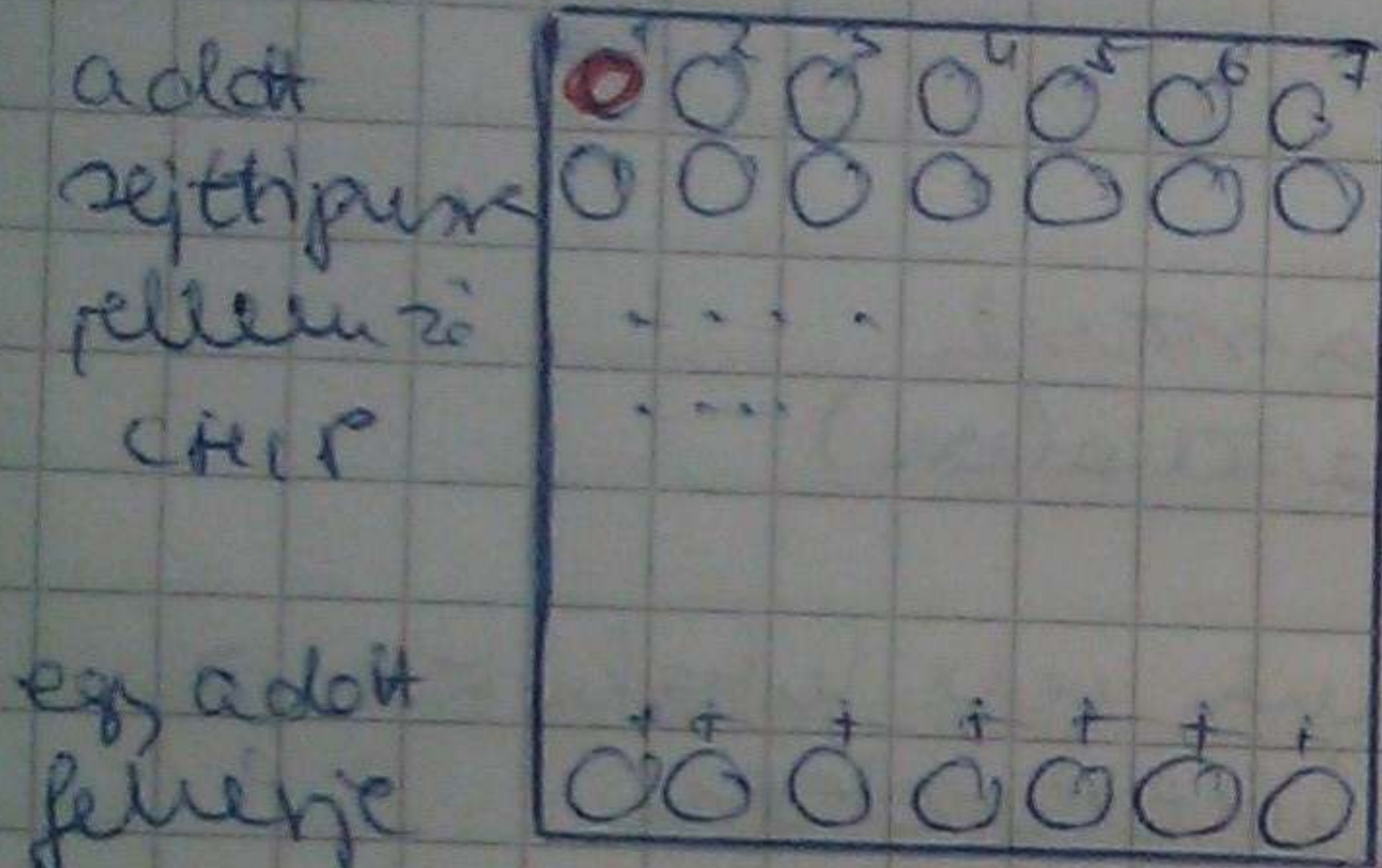


CDNS

festékkel és önmegjelöléssel lehet



megjelölés $\downarrow$ CPNS fluoreszcens festéssel és önzellenőrzéssel lehet
 * * * * *
 mennyiségi változást lehet kimutatni



ezeket denaturálva, ráöntve a fluoreszcens a beverekéket (*) és ott hibridizálva a felhőben egyeztetve vizsgálhatóak

egy adott felhője által expresszált felhőket vizuálisan fel

lehet + (poz) vagy - (neg) kontroll

↓
 dyat vizuálisan fel, ami biztos benne kell legyen

↓
 dyat vizuálisan fel, ami biztos, h. nem lehet benne

Intenzitásból lehet következtetni

* * * * *

- megállapítható, hogy a kontroll és kezelt arányában van-e különbség
- petevezetékben munka, önzellenőrzéssel egyeztetve a mintákra, vizsgálva, h. RNS reprezentációban van-e különbség
- genetikai minták is

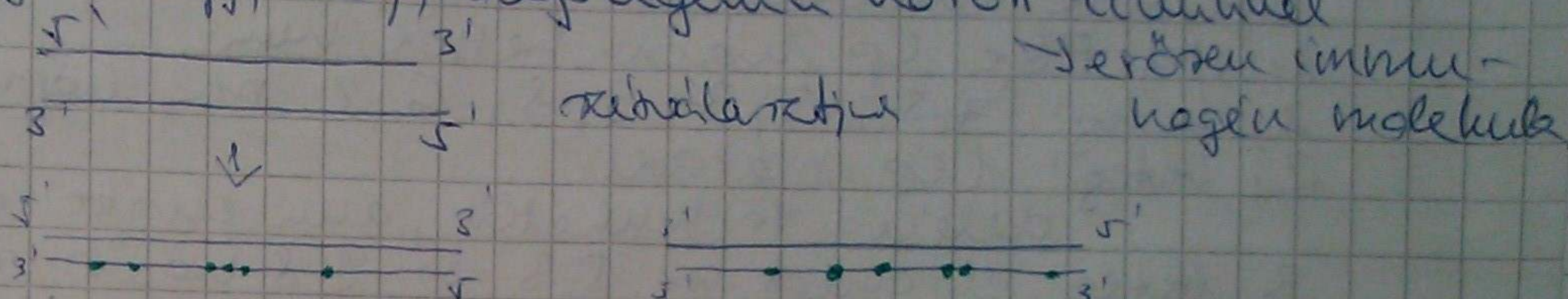
- vagy univerzálisan tudjuk, h. csak a csillók nem működnek jól ismervük azokat a felhőket, amelyek az éppen vannak jelen
- ↳ csillókhoz PCP-t: egyeztetve és betegből minták vizsgálva, megismerve hozzájuk a primert (PCP termék meg is vizsgálható)

22. A sejt ciklus szabályozása

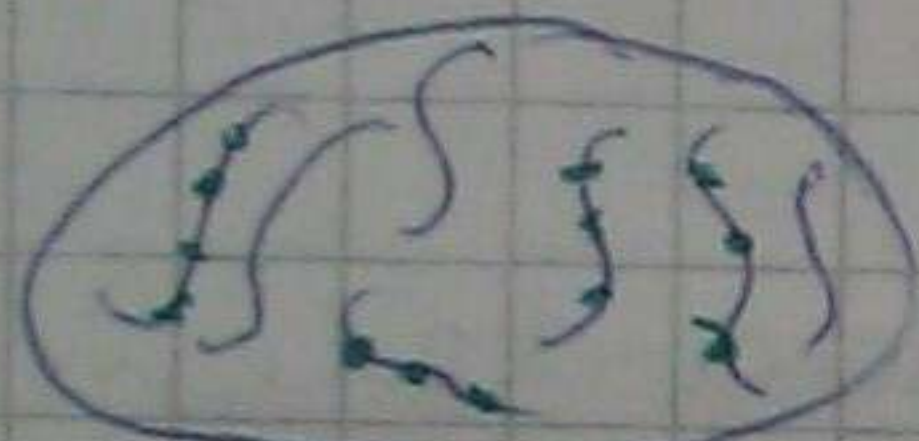
22.2

FISH-sel detektáljuk.

- felraponodjuk a cdc 13 gént úgy, hogy deoxigenin kötött timinnel
jelöljük



- denaturálom a cdc 13 nála, h. ne párosodjanak, egyenként legyenek



→ eppendorfba

interfazis

metafázis



- tárgylemezre emberi sejteket rögzítel
- fixálom a sejtet metafázisban → elhárítom a kromoszómákat
- denaturálom az emberi DNS-t → egyenként génelőmlény
- eppendorfba tartalmát ráöntöm
- enyhébb körülmények között (felvitte a nagy evolúciós távra) hibridizáltatom a sejt génelőmlényét a cdc 13 génnel
- festékpappal jelölöm, h. látható legyen

Lelátom még Southern blotot:

DNS-t szeparálom a méretű darabokra vágni, megfűtve → lokalizációt ad: gélelektrophorézissel izoláljuk

Funkció:

- 1, restrikciós körülmények között elromlik az elosztó sejt gént az elosztó mutációkban emberigént tartalmazó plazmidot cinktalunk, és vezük, h. helyreállt-e a funkció
- 2, kiutjuk a gént az emberben (v. DNS interferenciával), megvizsgáljuk a mutáció hatását, vagy megpróbálom

Chromatin ad: gelektróforézissel izoláljuk

Funkció:

- 1, restrikciós körülmények között elronthuk egy elszórt gént az elszórt mutációkban emberigént tartalmazó plazmidot cinkhatárolunk, és vizsgáljuk, h. helyreállt-e a funkció
- 2, kiindulunk a gént az emberben (v. DNS interferenciával), megvizsgáljuk mi a mutáció hatása, vagy megpróbálunk az elszórt génnel helyreállítani

22.3

Ismeret felhívás az általa kötött DNS

Kromatin immun precipitáció (ChIP):

interferon sejt

- keresztelhető a génnel stabilizálni kell a DNS felhívás kapcsolatokat

- örökös szabadda lévő DNS-t elemi szintűk → csak az marad meg, amit felhívás kötött

- affinitás kromatográfiával (ellenanyaggal) kinyerjük a mi felhívásunkat

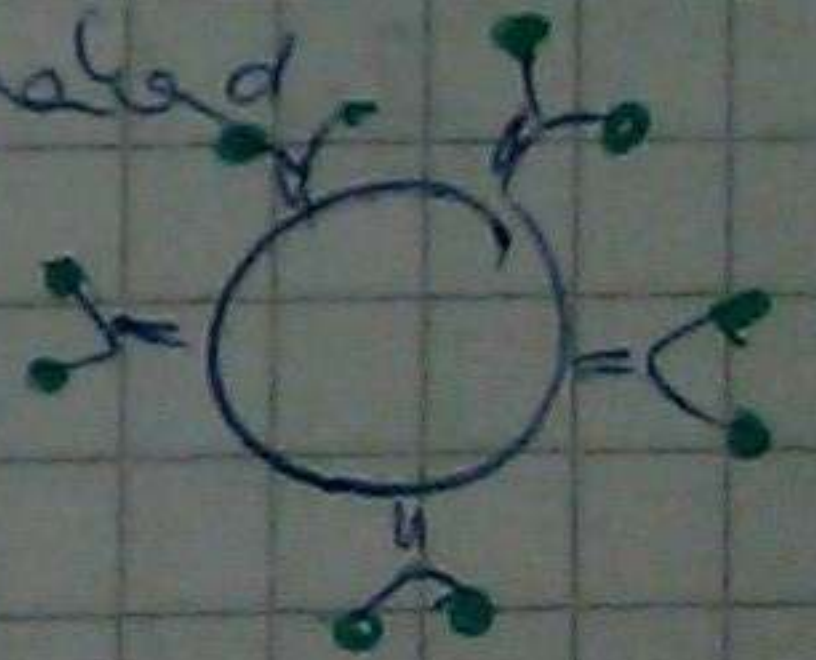
mi felhívásunkat

- kódonok göngyre a mi felhívásunkat felismerő ellenanyagot kötőnk

→ ez egy onkogen van, így a folyamatban van a mutációk → fennmarad

- aztán leemeljük róla a felhívásunkat

- elhúzzuk szekvenáljuk



Következők összetételből:

- T és A - ban gazdag kettőshétszoros könyves könyves felrakítan
- a replikációs start helyeken több A, T van → könyves a retbaktéri

24. A daganatkeprőder molekuláris biológiája

24.2.

a, 1, 2, és 3, örökölte, a mutáció jelen van a genomban
Ere a következtetésre adhat az is, h. 2. oldal tumorral rendelkezik

1. beteg: FBE ép, másik kettőre nem

2. beteg: 7,5; 5,3; 9,8; 6,2 m2 kópiában jelen van

3. beteg: 1 ép maradt

deleció történt, ami elvileg a gén elejét $\rightarrow$ 6,2 maradt

3. beteg: elcsúszott az 5,3 és 9,8 közötti resztrakció helye,

ezért megjelent az 15,1 bps térf.

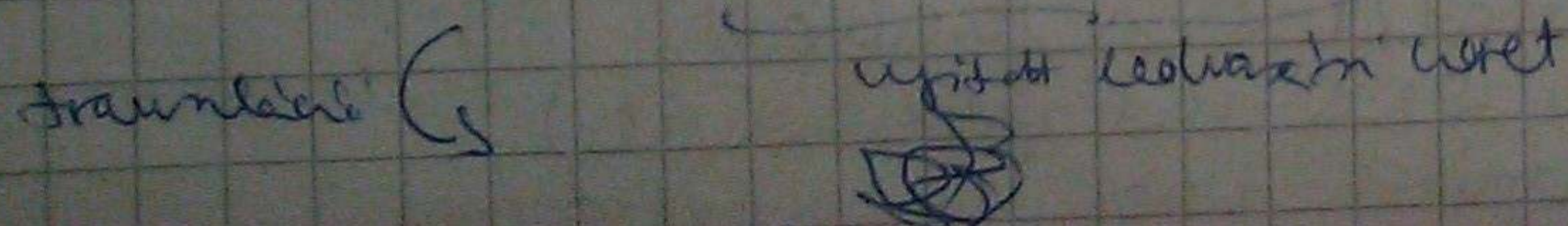
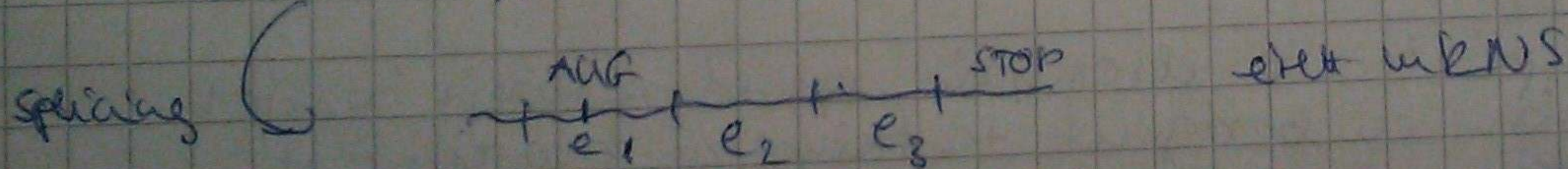
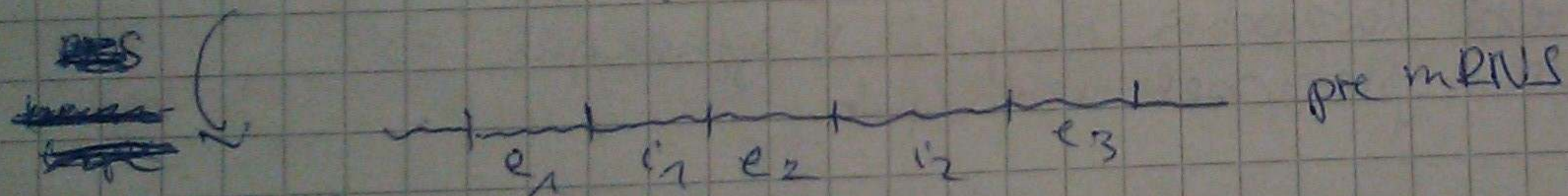
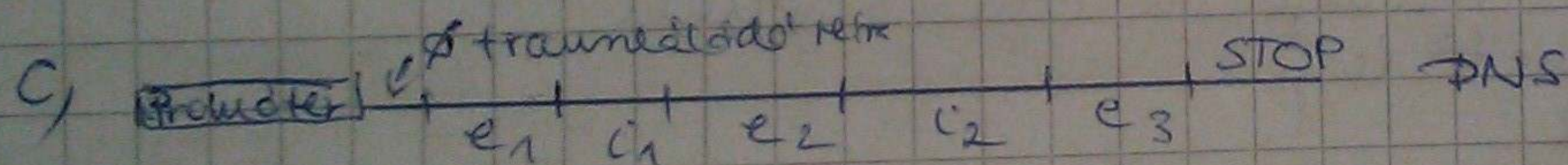
de: pontmutáció, bármilyen v. kicsi deleció

b, 1. beteg: p alapul indult (ép allele), de elvileg másik történet deleció
magaival intte a 9,8 és 6,2, és exakt

2. beteg: kromoszómáinak verze: a 10. verze el
esetleg deleció $\rightarrow$ ép allele hiány

vagy heterozigotus

3. beteg: ép allele elvenett $\rightarrow$ deleció v. kromoszómáinak verze miatt



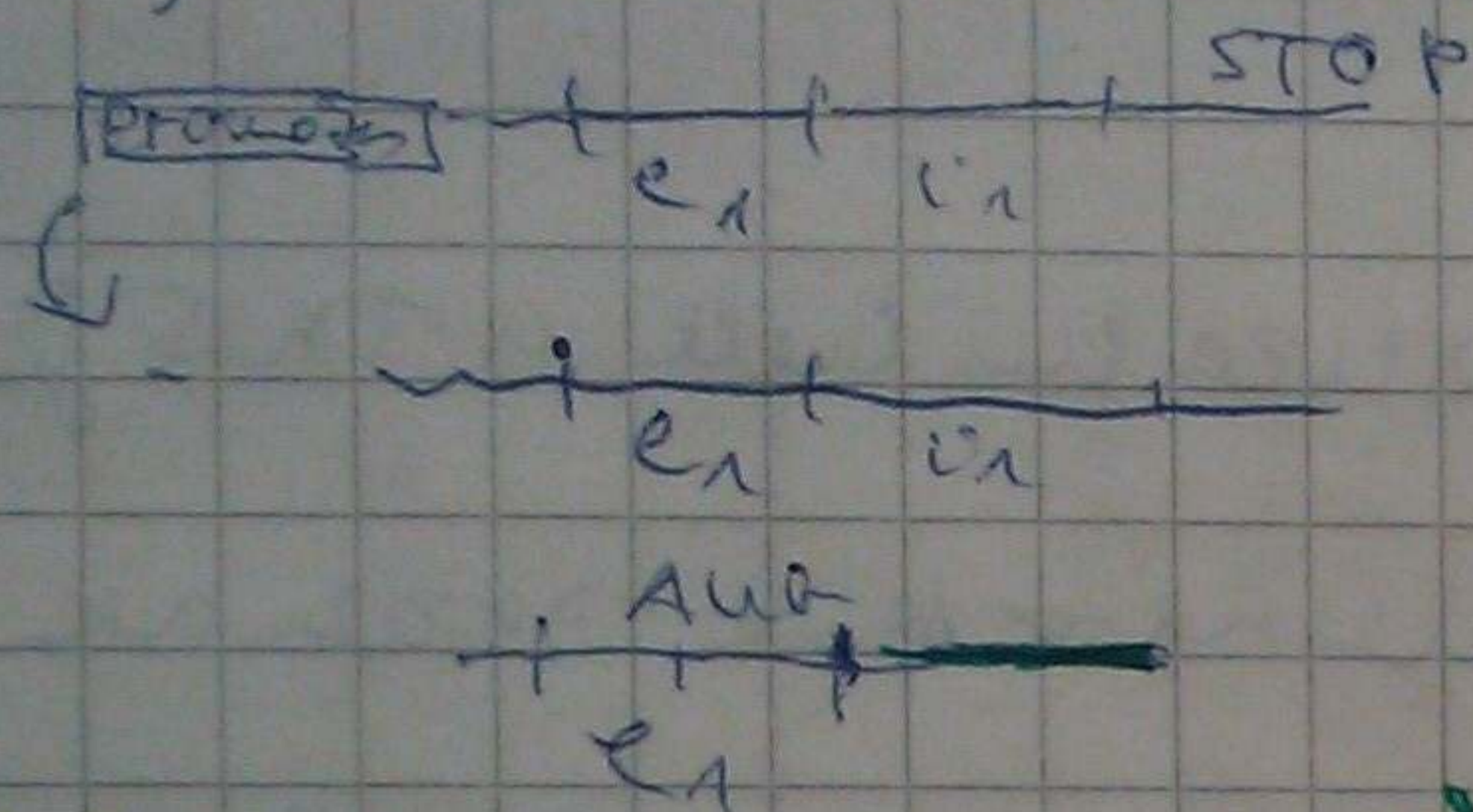
fluor

transzlató (s)

újított leolvasási ugrat

fehérje

1. beteg esetében:



DNS

pre mRNA

érett mRNA

120-od valszeg
előbb vagy utóbb
teljes STOP kodat



CSONKA FEHÉRJE

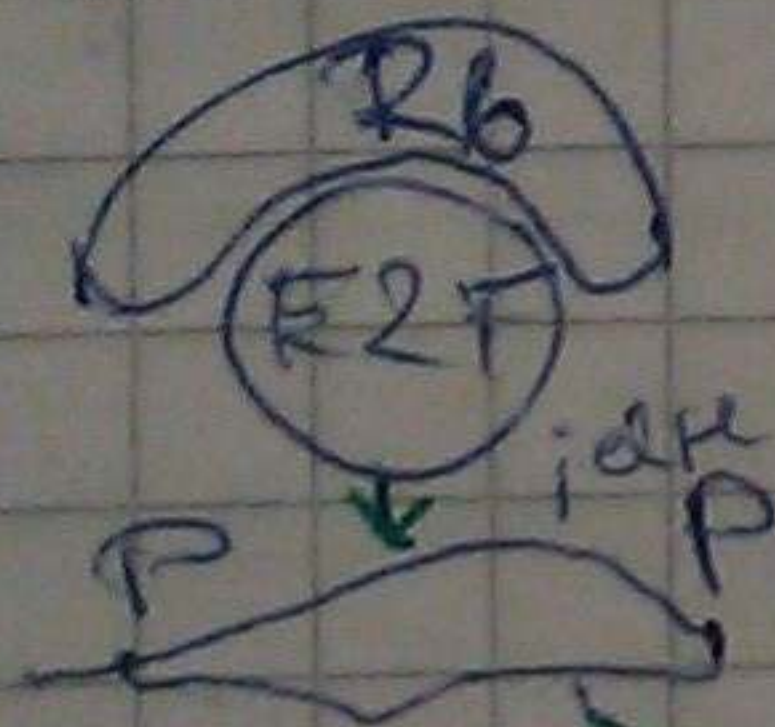
fehérje képtelen

2. beteg: csak a vége helyettesíti maximum (6,2)

nem valószínű, h. rövid róla fehérje

ha a szabványos régió mégis van, helyére még egy START kodon is
megvan az fehérje $\rightarrow$ fehérje mentes

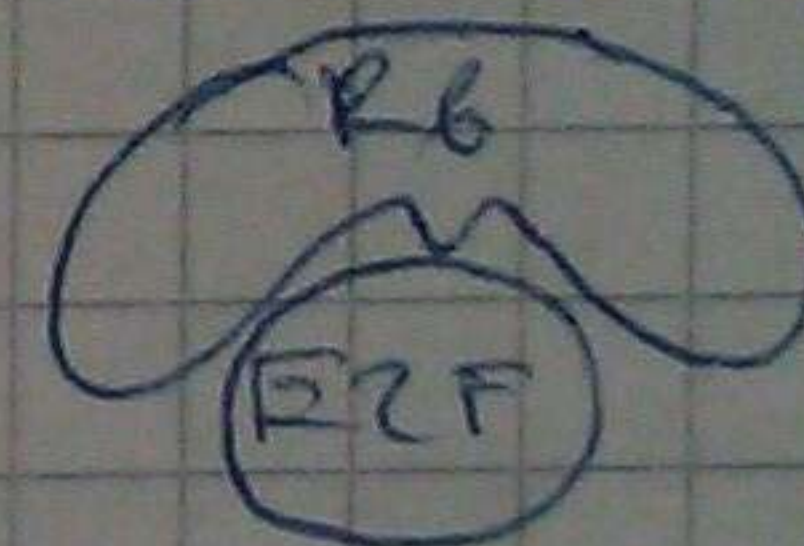
3. beteg: restrikciós helyek hiányát $\rightarrow$ csak egy kicsi deletalódot
mindenképp fehérje szintézissel pár
szekvenciális változás



$\rightarrow$ engedélyezi az antitoként

és folyó az utolsó a
sejt

de: aminosav csere
frame shift



~~valószínű~~

~~oligomerizáció~~
~~mutációk~~

d, 1-es testi sejtei és őni ivarsejtre valamelyik $\rightarrow$ ϕ örökös
2-es és 3-as atörököt 50% valószíűséggel, mert van egy allélja

e, Megmutatjuk egy egészseges követben az Rb funkcióit.
pl. RNS intezesene

- Raportgerintel transzgenikus állatot hozhatunk létre
- Egyenlőre azt kellene, exprenzalódik-e róla felülré.
 - Megmutatjuk van-e mRNS-e.

Egyenlőre kimutatás: - izdájuk az ősz mRNS

- klorogourozott gyöngyre pdsT farokkal
- ann korrekciókat adójuk cDNSe
- ezután PCR-rel megérthetjük

- felülré minten immunfestéssel v. Western blottel
- in situ hibridizáció