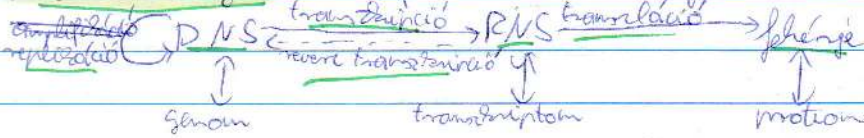


Biológia tétel

① A nukleinsavak építőkövei és szerkezete. A nukleinsavak típusai. A molekuláris biológia centrális dogmája

- Centrális dogma: az információ iránya a mátrix molekulától kezdve



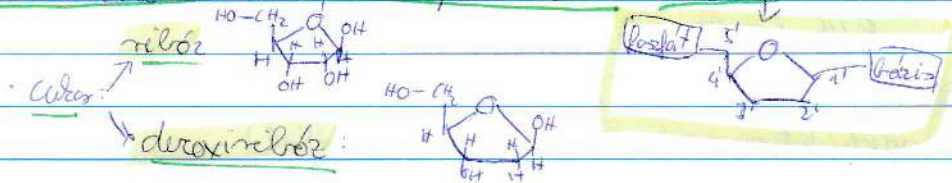
• replikáció: DNS megátírózódása DNS polimeráz enzimmel

• transzkripció: RNS szintézise DNS templátról az RNS polimerázzal

• reverz transzkripció: néhány vírus genetikai anyaga RNS (reverztranszkriptázzal → DNS)

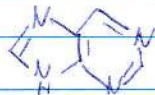
• transzláció: a fehérje szintézise RNS templátról

- a nukleinsavak (DNS, RNS) építőkövei: nukleotidok



• Bázis: az információt hordozza:

purin:
A, G



pirimidin:
C, U, T



RNS: ACGU
 DNS: ACGT

- a DNS és RNS felépítése:

• 5' → 3' irány

• pH 7 a foszfát csoportok ionizáltak → $\ominus$ töltés

• a DNS kémikailag stabilabb (az RNS lúggal könnyen hidrolizál)

• DNS: "balta" spirál (Watson-Crick modell)

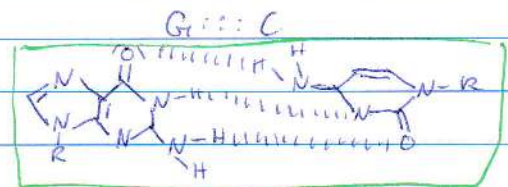
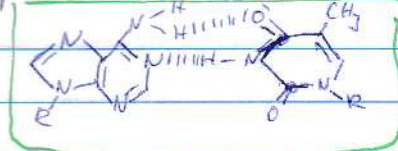
• a cukor-foszfát lánc líneál

• 10 bázis ≈ 1 fordulat

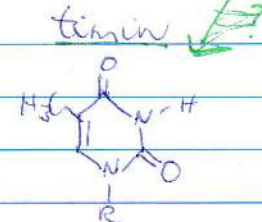
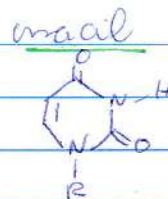
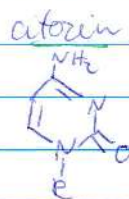
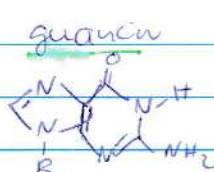
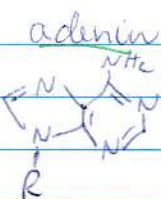
• bázisok síkja $\perp$ a tengelyre

• komplementer antiparalellepítés

bázispárosodás: A :: T



Yehesdrot
 Penagand
 dimerizáló bázisok
 szabad csoportjai H-bridge
 két fedővel hiányzik
 felhívás



- vírusok: λ -faj: kétszállú cirkuláris DNS

HIV: egyszállú RNS

rotavírus: kétszállú RNS

- ember: lineáris kétszállú DNS (+ mt DNS) - krómoszómán

- E. coli: cirkuláris kétszállú krómoszóma + plazmid (cirkuláris, 2 szállú)

- gén: oligon DNS szakasz, amely egy géntermék (polipeptid/RNS) szintéziséhez szükséges információt kódolja

• induktorgén + regulátor szekenciák

- RNS felépítése:

• mRNS: hímviró (fh. szint.)

• tRNS: transzfer (fh. szint.)

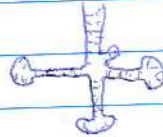
• rRNS: riboszóma (fh. szint.)

• miRNS: microRNS (génexpresszió szabályozás)

• snRNS: hisz nukleáris RNS (splicing)

• ribozim: enzimaktivitással RNS

tRNS:



- genetikai kód: degenerált (1 aminosavat több kódon kódol)

univerzális

kötegös

- cDNS: mRNS-ről affekt egyszállú DNS

• már nincsenek benne intronok a splicing miatt

- Chargaff szabály: $T+C=A+G$

$$T=A \text{ és } C=G$$

- DNS másodlagos szerkezete:

• általában B forma: bázisok sűrűsége A cukor-foszfát szinc

• A-forma: a bázisok sűrűsége megdől

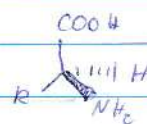
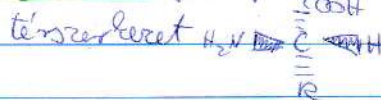
tömörrel, dehidratált körülményben (RNS, élettelen helix, DNS-RNS hibrid)

• Z-forma: balmenetes, reg-reg csatlakozás, meggyelt

hosszú G-C-GC csatlakozás

② utz aminosavat felépítése és csoportosítása, a fehérjék szerkezeti és működési, az enzimek működése: a Michaelis-Menten egyenlet

- fehérjék építőköve: aminosavat (L, D) - 20 féle kódolja a fehérjéket



L-aminosav (kivéve: glicin)

- zwitterionos szerke: $\text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{COO}^-$ (pH 2-9-en)

- csoportosítás oldallánca szerint:

a) apoláris: Met, Trp, Thr, Pro, Gly, Ala, Val, Leu, Ile hidrofób - Metionin

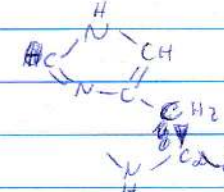
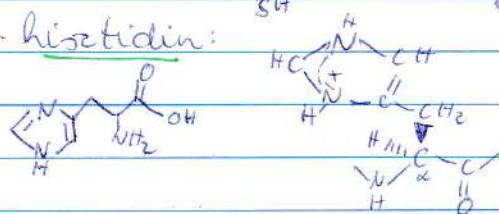
b) poláris (de nem töltött): Cys, Ser, Tyr, Thr, Gly, Asn - Szarin

c) töltött: Asp⁻, Glu⁻, Lys⁺, Arg⁺, His⁺ - Glutaminsav, Arginin

essenciális: (Ile, Leu, Met, Lys, Thr, Trp, Val, Phe) / nem essenciális

- cisztein: $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}(\text{OH}) - \text{CH}_2 - \text{SH}$ diszulfid hídakat képez
R konfiguráció

- hisztidin:



pKa = 6,5

enzimnél aktív centrum

(p⁺ transfer)

- trozin (Trp), triptofán (Trp) → fehérjék abszorpció maximuma 280 nm-en

- glicin: $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$ anionos nem kiral

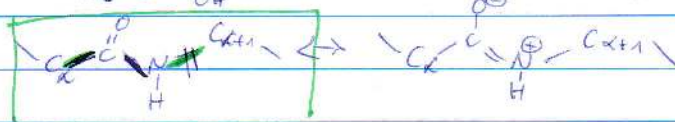
- alanin: $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}(\text{CH}_3) - \text{COOH}$

- prolin: $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$

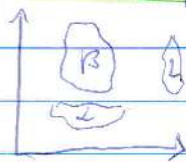
- serin: $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}(\text{OH}) - \text{COOH}$

- asparaginsav: $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}(\text{COOH}) - \text{COOH}$

- peptidkötés:



- Ramachandran plot:



a polipeptidlánc konformációjáért a $\text{C}_{\alpha} - \text{N}$ (ψ) és a $\text{C}_{\alpha} - \text{C}$ (φ) közt köv. rotáció felelős

- α-hélix: első soron belüli H-hidak (CO -- HN) + hanyatló (turn)
β-redő: láncok közt H-hidak → hanyatló hanyatló (loop)

- fehérjék szerkezetének szintjei: elsődleges: szekvencia

másodlagos: konformáció (α-hélix / β-redő, turn, loop)

harmadlagos: tér szerkezet = fold (távolabbi kölcsönhatások is)

negyedleges: fehérje-klósz kölcsönhatások (hemoglobin tetramer)

- fehérjék feltérnedése (folding):

• Anfinsen kísérlete: natív ^{denaturálható} denaturált ^{ox} → ^{redukáló} redukált natív (munkaértékelés)

• relencia meghatározása a szerkezettől

• multidimen (mozgás) fehérjék: MASP - 1/3

IgG (immunglobulin)

- enzim működése:

• partes térbeli kapcsolatot alakít ki a substráttal (kulcs-zár illeszkedés)



E/S szerkezeti líse módosul

• holoenzim = apoenzim + koenzim

cofaktorok kináz, dehidrogenáz

• olyan nem fehérje természetű anyag, amely spec. fűvel adódik E-t ad

• prostitútor csoport: az E-be erősen kötött

• speciális kötött (ATP, NADH): ko-substrát

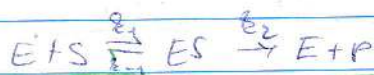
• a katalízisben résztvevő csoportok partes térbeli rendeződése biztosítja az E hatékony működését

• inhibitor az aktiváló E-t



- Michaelis-Menten modell:

- $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, egyensúlyban ($\Delta G = 0$): $\Delta G^0 = -RT \ln K$
 standard szabad entalpia



$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2 [ES]$$

steady state szélesítés

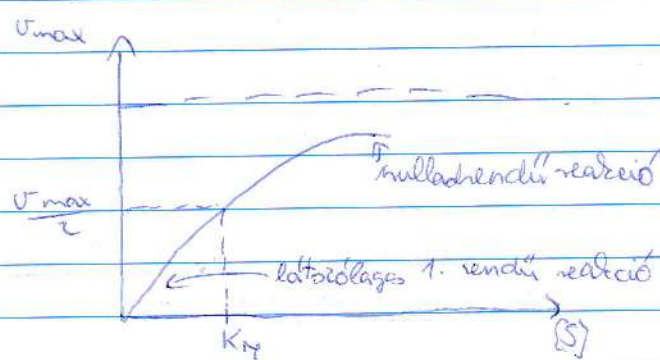
$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1 [E][S] - (k_{-1} + k_2) [ES] = 0$$

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (\text{M. konstans})$$

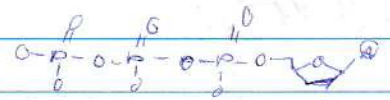
$$M-M \text{ egyenlet: } v_0 = \frac{v_{max} [S]}{K_M + [S]}$$

ha $[S] \gg K_M$: $v_{max} = k_2 [E]_T$

ha $[S] \ll K_M$: $v_0 = \frac{k_2}{K_M} [E]_T [S]$



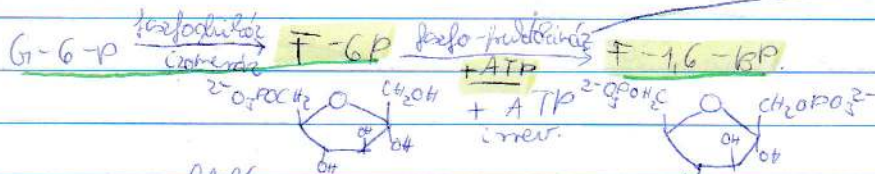
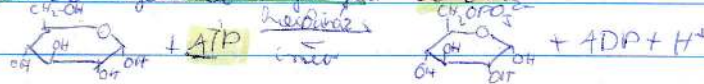
③ A glikolízis és a citrát kör



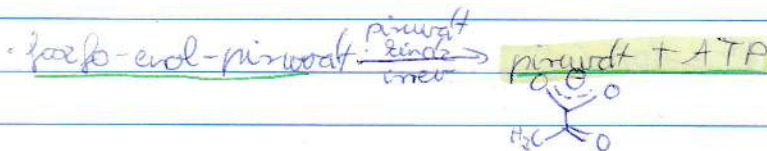
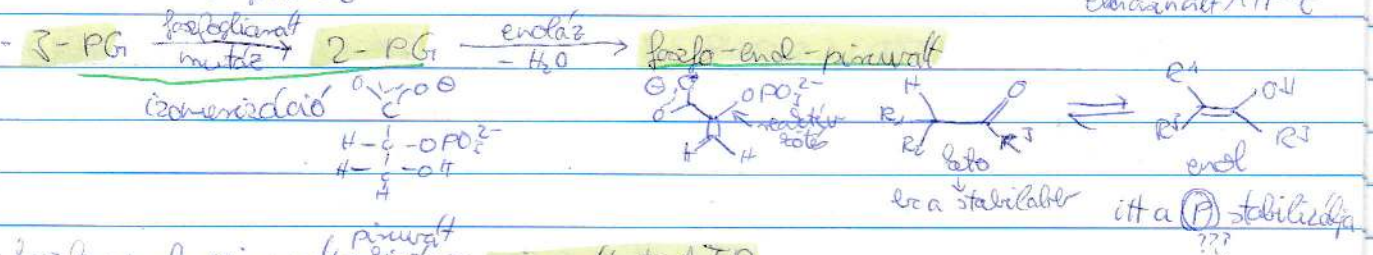
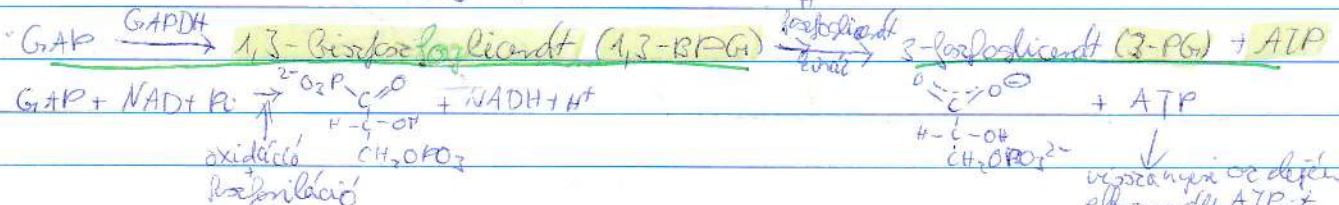
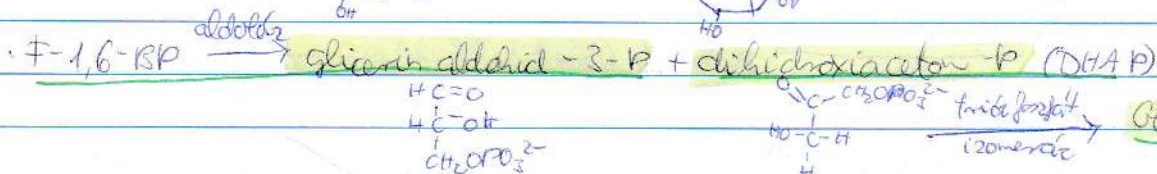
- **ATP**: a szervezet energia valutája (adenozin trifoszfát)
reaktív foszforan-anhidrid kötés: $ATP + H_2O \rightleftharpoons ADP + P_i$ $\Delta G^\circ = -30.5 \text{ kJ/mol}$
- a szervezet nagyon ATP-t szünteti fel: $\frac{[ATP]}{[ADP][P_i]} \sim 500 \frac{1}{M}$
- energiatárolás kedvező feltétel ATP hidrolízissel végbemegy
- ATP szintézise alkalmas: foszfoenolpiruvát, kreatin-foszfát, kriszofoszfát
- ATP, TAD, NAD(P), CoA: fontos alapanyagok
- **Glikolízis**:



glükóz $\rightarrow$ glükóz-6-foszfát (G6P)

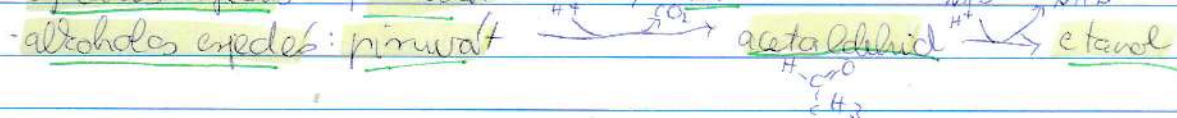


szabályozó
allosteria: a szabályzó mol
nem a katalitikus helyhez,
hanem távolabb köt
aktiválják: ATP, F-2,6-BP
(tápanyagot jelöl)
szabály: H⁺, citrát, ATP



anaerob körülményben is 2 ATP-t termel a glikolízis

tipikus eredmény: piruvát $\xrightarrow{NADH}$ laktát



- **glikoneogenesis**:

glükóz szintézise nem csak méregtelenítés
aggnál, vut-nél csak ez jó (???)



glikolízis elvártan szabályozott

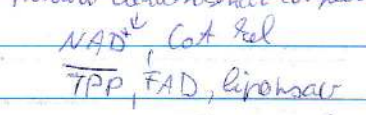
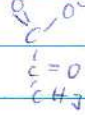
Citrat kör:

a mitokondrium mátrixjában

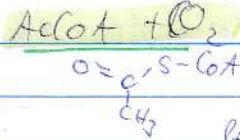
oxidatív foszforilációval a szerves f^oE forrás + intermediátok szára

száls aerob körülmények között (NAD⁺, FAD-ale oxidatív foszforilációból)

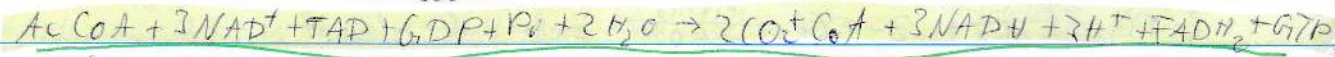
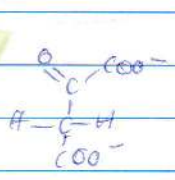
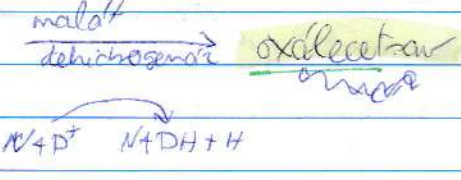
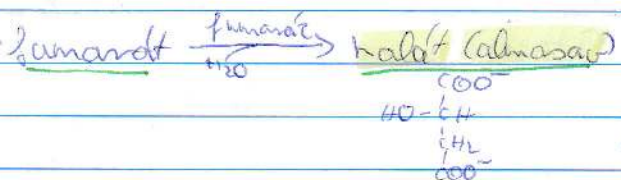
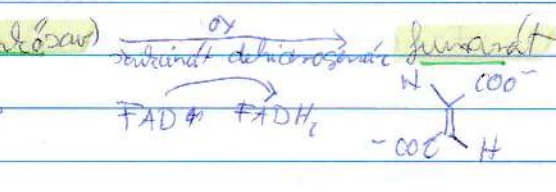
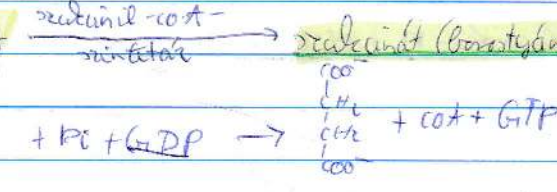
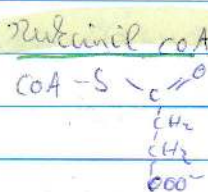
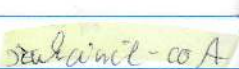
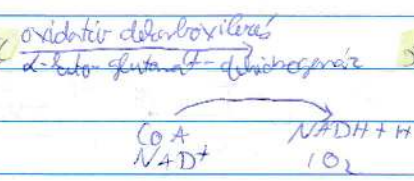
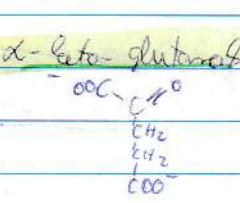
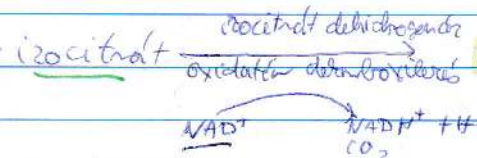
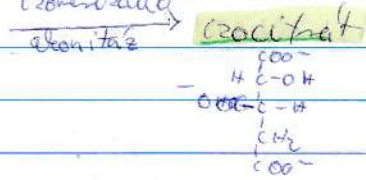
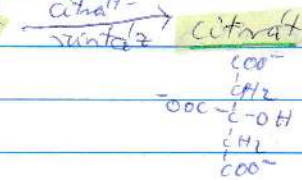
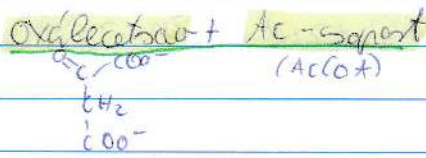
O. lépés: piruvát $\xrightarrow{\text{dekarboxiláció}}$ AcCoA + CO₂ committed step



TPP, FAD, liponsav
α-keto-glutarát dehidrogenáz



beni: B1 vitamén hidrogén
glükóz nem tud bejutni a
C.C-ba ketonsav ciklusba



szabályozása

piruvát-dehidrogenáz: ATP, AcCoA, NADH

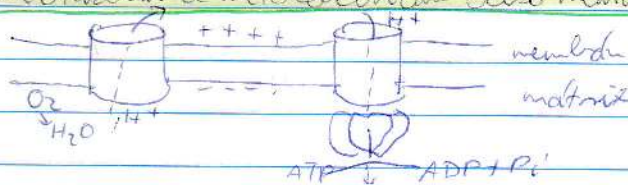
citrat-szintézis: $\text{NADH, citrat, ATP, szukcinil-CoA}$

izocitrat-dehidrogenáz: ATP, ADP, Ca^{2+}

α-keto-glutarát-dehidrogenáz: $\text{szukcinil-CoA, NADH}$

④ H_2 oxidatív foszforiláció és a kemiozmotikus elmélet

- általában a mitokondrium belső membránjában

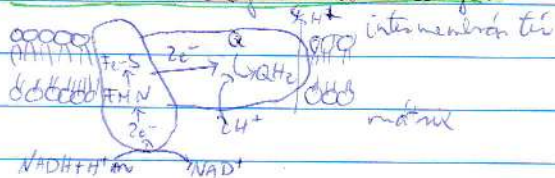


- NADH, $FADH_2$ oxidációjaért 4 komplex felelős:

- I. NADH-Q oxidoreduktáz
- II. succinát-Q reduktáz
- III. Q-citokrom-c oxidoreduktáz
- IV. citokrom-c-oxidáz

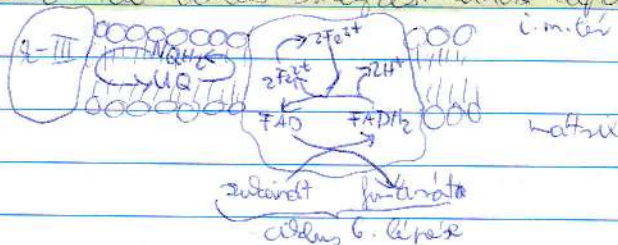
I. - NADH és ubiquinon között

- NADH oxidációját katalizálja



- N-2: vas-szén kétféle (???)
- Q: ubiquinon: a koenzim Q oxidált formája
- az e- transfer E-számbal $6H^+$ átjut
- $NADH + 5H^+_{matrix} + Q \rightarrow NAD^+ + QH_2 + 4H^+_{interm.}$

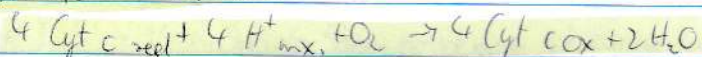
II. citromsav ciklus és légzési lánc kapcsolódása



III. AQ ciklus:



IV. citokrom C oxidáz



- a gradiensből kémiai E-t kapunk:

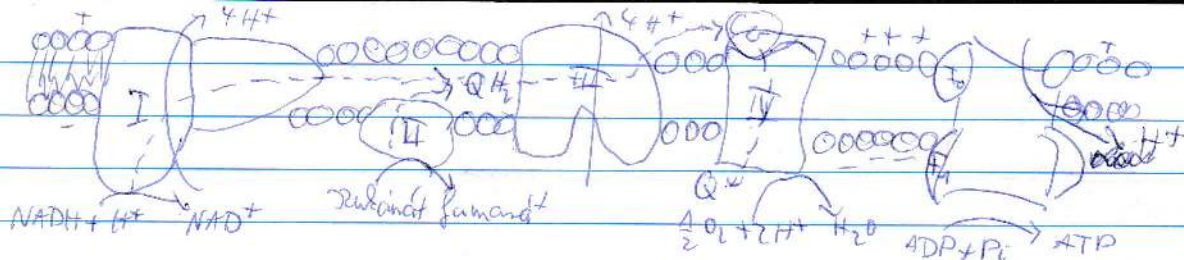
$$\Delta G = RT \ln \frac{[H^+_{term}]}{[H^+_{kezd}]} + 2 \cdot F \cdot \Delta V$$

↑
töltés (H+)
↑
feszültség
↑
0,14 V nemhöz pot

Peter Mitchell: chemiozmotikus modell

- a fehérje által működés során p^+ -t pumpálódva a mx-ból az intermembrán térbe
→ kémiai és elektromos potenciál alakul ki

a p^+ -t a membránban áthaladó → víz-átvitel az F_0F_1 ATP szintáz komplexen

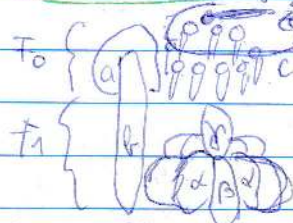


hipotézis igazolása:

rekonstruált membrán vesikulumban bakteriorodopszint + mit ATP-ét elpumpál
 hogy hatására a bakteriorodopszin protonát elpumpál a vesikulum belső felére
p⁺ gradiens működési or ATP szintetizáló komplexet

F₀F₁ ATP szintáz

működés közben forog



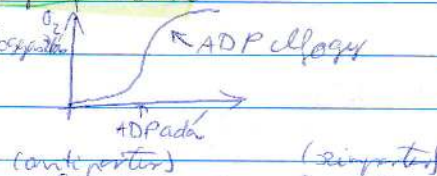
aktinfilamentum

- az L β hexamer társaságukra rögzítve
- a gyűrűre jelölt aktin filamentumot rögzítve
- ATP hozzáférési csatorna forgás

A légzési lánc szabályozása: (acceptor kontroll)

• ADP jelenlétében nagy intenzitású oxidatív foszforiláció

• ADP gördülése → az e-transport láncszul foszfát



• a mitokondrium belső membránjában az adenin nukleotid és a foszfát átjuthatnak
biztosító transzportálóknak vannak

a) NADH közvetlenül nem jut be a mátrixba → a szennyeződés reverzibilis redox
 reakcióval történik

b) a malát-aspartát ligázát segítségével a citoxollam belső NADH
 redukáló kapacitása a mitokondriumban lévő NAD NADH-ra redukálható
jelenik meg a membrán 2 oldalán lévő enzimek működése miatt

A légzési lánc működésénél két tényező

oxidatív foszfórláció szabályozásával
 pld: barba zsír-égetés

⑤ Prokarióta replikáció

- DNS szerkezet: húthos hélix
- négyen húthos DNS superhelikális formát alkot:
 - topoizomerase I: csökkenti a superhelikális számot $\rightarrow$ relaxáció
 - topoizomerase II: növeli a superhelikális számot $\rightarrow$ ATP-t igényel
- prokarióta sejt: több milliószor
 - gyorsan: 1000 nukleotid/s
 - pontosan: $1/10^7$ replikációs hiba $\rightarrow$ 99%-a járható (mutációs ráta 10^{-10})
- Modell organizmus: E. coli (40%-ig átfedhet)
 - replikálódo E. coli + ^3H timidines talaj $\rightarrow$ autoradiogram:
 - replikációs villa: a DNS polimeráz 5' $\rightarrow$ 3' irányban haladnak

- replikációs enzim:
 - topoizomerase: a húthos DNS-ben lévő feszültség oldása
 - helikáz: a húthos szál kitérítésére
 - SSBP: az egysele DNS stabilizálása
 - primáz: RNS primer készítése
 - ligáz: szálak összekapcsolása

2 villás frontja a DNS

	pol I	pol III
5' $\rightarrow$ 3' polimeráz	+	+
3' $\rightarrow$ 5' exonukleáz	+	+
5' $\rightarrow$ 3' exonukleáz	+	
molekula/sejt	300	10

DNS polimeráz: szintézis

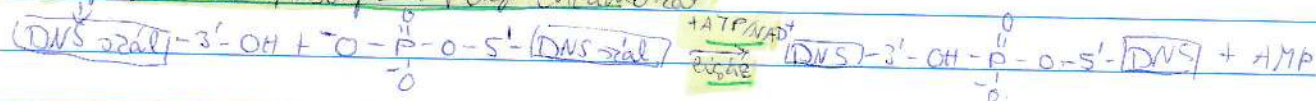
pol III: replikációs szintézis

pol I: eltávolítja az RNS primert + bef. a lemaradó szálakat
 $\rightarrow$ Klenow fragmente készíti a szálakat

- az egyes szálak DNS templátja az ékezőítő szál szintézisének a rendelkezésre álló nukleotid trifoszfátokból
- a levegőshor rövid primer szálak szál
- hibajavító (proofreading) mechanizmus: ha hibás bázis épül be az naszolt val-gel válik le

a polimerázról és vágódik le

- az Okazaki fragmentumok elkészülte után a pol I kitölti a rést
- a pol I 5' $\rightarrow$ 3' nukleáz komponense eltávolítja az RNS primert
- a ligáz összekapcsolja a fragmentumokat



E. coli-ban NAD⁺ biztosítja az E-t

eukarióták, vírusok, archeák: ATP szál

- Eukarióták: lineáris DNS: a végeken telomerek

• emberi DNS-ben kb 20 000 replikációs origó

• replikon: replikációs egység (2 origó közt)

• pol α , pol δ , pol ϵ ~ *E. coli* DNS pol alapszerkezet

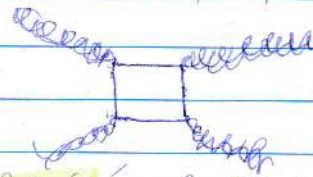
telomerek: kromoszómák végén ismétlődő szekvenciák

• a 2. előhatalmattal rövidülnek

• telomeráz: reverz transzkriptáz, templátját magában hordozza

rekombináció:

homológ kromoszómák közt



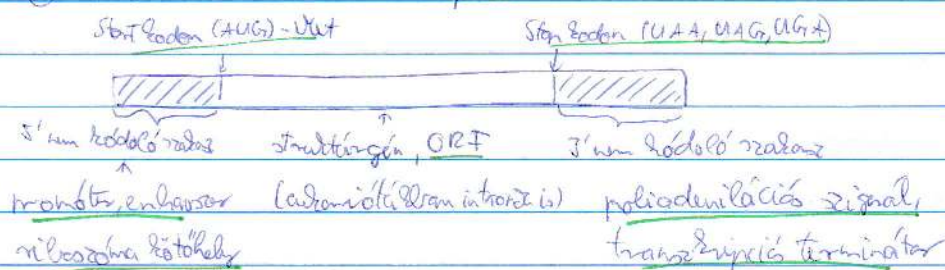
Holliday keresztelágzás

hibajavító mechanizmusok: hiányos pl: timin dimerekkel

• bázis hiányos: uracil DNS glikozidáz hiányos az A-t, majd egy nukleáz elvágja a DNS szálát

(deamináció)

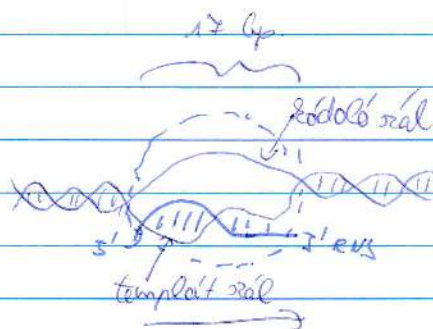
⑥ Prokarióta transzkripció



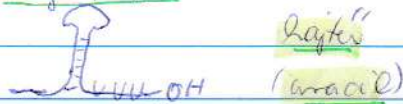
- gényexpresszió szabályozása a transzkripció szabályozása révén
- prokariótaiban az RNS szintézis + transzláció egy térben
- fázisai: kezdés (iniciáció) → láncnövekedés (elongáció) → befejezés (termináció)
- RNS polimeráz feladatai:
 - promótor (a transzkripció kezdetét meghatározó DNS szakasz) felismerése
 - a DNS egy szakaszának szétválasztása
 - katalízis (az NTP-k összekapcsolása a templátnak megfelelően)
 - termináció
 - transzkripció lezárás (a riboszómához való kötődés) (főleg eukariótaiban)
- prokarióta konszenzus promótor: 5' - TTGACA - TATAAT - Start
 (Pribnow box) (TATA box)
 - erősebb mértékben a szekvencia mennyisége
- RNS polimeráz: hőenzim + core enzim
 Pribnow-bochot szít
 szintézis

- Az RNS szintézis:

- 5' → 3' irányú
- nem kell hozzá primer
- transzkripció buborék



- termináció I - fehérje független:

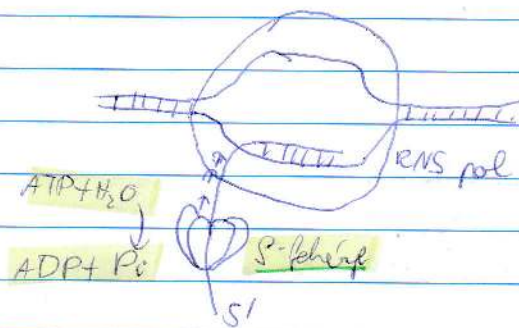


- a szekvencia RNS molekulán alául is

- termináció II - fehérjétől függő:

- a ST fehérje az ATP szétválásának
- az RNS szétválásához ATP hidrolízis ad energiát
- ATP hidrolízis csak a megfelelő szignál elérésekor történik
- terminációs jel a szekvencia RNS-en van
- prokariótaiban az mRNS nem módosul a transzkripció után, de a rRNS és tRNS-ek primer transzkripcionai is
- még transzkripció közben megindul a transzláció

a tRNS-ek módosított ribóz és karboxolat is tartalmaznak



① Prokarióta transzláció

- fordítás: 4 betűből álló triplet $\rightarrow$ 20 fele aminosav
- phérjezintézis riboszómán (ribosim)
- lépések: aminoacil-tRNS-el szintézis

iniciáció

elongáció

termináció

- enzim, faktorok: aminoacil-tRNS szintetázok

iniciációs faktorok (IF)

riboszóma

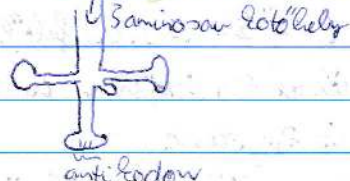
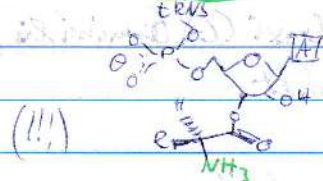
elongációs faktorok (EF)

terminációs faktorok (RF: release factors)

- pontosság: hiba $\sim 10^{-4}$

rekeség $\rightarrow$ pontosság

- építőkövek: aminoacil-tRNS-el $\leftarrow$ „aktivált aminosavak”



L alak

antikodon 3. párosa többféle kodonnal képezhet párt („pályázás”)

nem kell annyiféle tRNS típus ahány kodon van

de min: amnyi, ahány aminosav van

E.oli: 24 tRNS gen (> típus)

aminoacil tRNS szintetázok $\rightarrow$ genetikai kód valódi felismerői:

min: amnyi féle, ahány aminosav

ATP kell a szintézishez

(az aminosav, amit hoznak?)

egy részük az antikodont ismeri fel

más részük az antikodont + a tRNS egészét

van hibajavító mechanizmusuk $\sim$ DNS pol proofreading

- szintézis helye a riboszóma

	<u>his</u> <u>alagap</u>	<u>nagy</u> <u>alagap</u>	<u>riboszóma</u>
<u>prokarióta</u>	70S 16S 23S 21 fele	50S 5S, 23S 23S 26 fele	70S
<u>eukarióta</u>	80S 18S 28S 20 fele	60S 5S, 5.8S, 23S 28S 50 fele	80S

- E célból a sejt szaporodási idő 25%-a

- Shine-Dalgarno szekvencia a 16S RNS-sel párosul

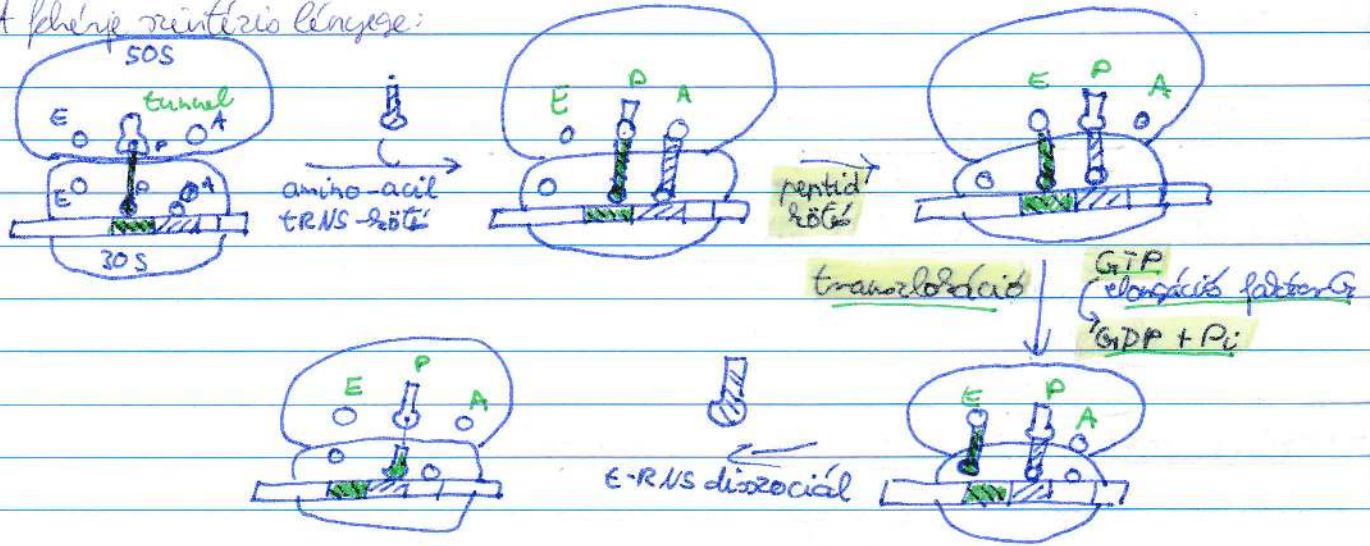
$\rightarrow$ „elher híro akébb léo” AUG a start

- indító tRNS: formil - metionin tRNS

- riboszóma 3 szó hely: E (exit), P (Peptidil-tRNS), A (amino-acil tRNS)

- a polipeptid egy szó hely lén 20

- A fehérje szintézis lényege:



- a peptidkötés képződése „aktívált” aminosavakból energetikailag kedvező spontán folyamat
- a katalízis lényege az építőkövek térbeli orientálása az átmeneti áll. stabilizálása és a víz kizárása
- irány: az mRNS-en 5' → 3' irányba
 - a peptidlánc az amino (N-) terminális felől a karboxi (C-) terminális felé
- prokariótálban a transzláció egy időben is végbemehet
- 1 mRNS-ről több riboszómán is egyidőben
- a riboszómán matricán a kodon-antikodon kölcsönhatás számít in vitro metessége aminosavak is beépíthető
- iniciációs faktorok: IF1, IF2, IF3
- elongációs faktorok: EF-Tu*, EF-Ts, EF-G* *: GTP-dől
- terminációs faktorok: RF1, RF2, RF3*
- iniciáció a prokariótálban:
 - 30S alegység → 30S iniciációs komplex → 40S iniciációs komplex
 - EF-Tu: aminoacyl t-RNS-et a riboszómához viszí mimikni
 - EF-G: transzlációt lefelé EF-G + EF-Tu + a.a. társ
- Termináció:
 - RF1, RF2 a stop kodonokat ismerik fel
 - új aminosav helyett vízmolekulát visznek a szintézis helyére szabadadól vadi a polipeptidlánc

