

TBME3005_BT PROKARIÓTA ÉS EUKARIÓTA SEJTEK BIOLÓGIÁJA

Heti óraszám: 2+0+0

Kredit pont: 2

Előfeltétel: -

Tantárgyfelelős: Dr. Pócsi István, egyetemi tanár, az MTA doktora

A tantárgy oktatója: Dr. Máthéné Dr. Szigeti Zsuzsanna, Dr. Pócsi István

Számonkérés formája: kollokvium - írásbeli

A tantárgy oktatásának célja, elsajátítandó (rész)kézségek és (rész)kompetenciák: A tárgy alapozó szakmai ismereteket közvetít, melyek két blokkra bonthatók. A hallgatók először a genetikai információ megnyilvánulásának (transzkripció-transzláció-protein targeting) folyamatát és szabályozásának elméleti alapjait tekintik át, elsősorban a legújabb ismeretekre és vizsgálati módszerekre koncentrálnak. A második részben a heterológ protein termelés rendszereivel és problémáival foglalkoznak.

A tantárgy tematikája: A transzkripció és transzláció általános áttekintése, genomszintű vizsgálatok (transzkriptóm, proteóm). RNS interferencia. DNS-protein és protein-protein interakciók vizsgálati módszerei. Globuláris, fibrilláris és transzmembrán proteinek sajátosságai. Protein targeting és folding problémái. Poszttranszlációs módosítások. Protein domének. A lokalizáció vizsgálati módszerei. Sejtfractionálás, natív proteinek kivonása. Heterológ protein expresszió. A rekombináns proteinek tervezéséhez szükséges molekuláris biológiai ismeretek rövid áttekintése. *Escherichia coli* expressziós rendszerek. Oldható proteinek és inclusion bodies. Élesztő rendszerek: *Saccharomyces cerevisiae* és *Pichia pastoris*. Baculovírus rendszer. Emlős génexpresszió, transzgén kifejezése egerben. Proteintermelés növényekben. Rekombináns proteinek kivonása. Peptidázok.

Ajánlott irodalom:

Előadás anyaga.

1. Walker, J. M., Rapley, R. (2002) Molecular Biology and Biotechnology, Fourth Edition, Atheneum Press Ltd, Gateshead, Tyne and Wear
2. Coligan J. E., Dunn B. M., Ploegh, H. L., Speicher, D. W., Wingfield, P.T. (2003) Current Protocols in Protein Science: Chapters 1, 4-7, 12-17, John Wiley and Sons Inc.
3. Griffith, A. J. F., Wessler, S. R., Lewontin R. C., Carrol S.B. (2008) Introduction to Genetic Analysis, 9th Edition, W. H. Freeman and Company, New York

A tantárgy tematikája heti bontásban:

1. Előadás. A sejtek genomjának szerveződése és szekvenciája. Genomméret, exonok, intronok, ismétlődő DNS szekvenciák, nukleoszómák, kromoszómák, centromerek, telomerek. Teljes genom szekvenciák analízise, bioinformatika és rendszerbiológia.

2. Előadás. Összehasonlító mikrobiális genomika és élettan. Bakteriális genomméret, replikációs origó azonosítása, a DNS szerkezeti atlasza, lokálisan és globálisan ismétlődő szekvenciák, transzkriptom analízis, kodon használat, gének expressziója, promoterek felismerése, teljes genom annotációk, prokarióta pangenom és törzsgenom. Mikrobiális metagenomika – alapok és biotechnológiai jelentőség.

3. Előadás. Replikáció, a genomi DNS stabilizálása és újraszerveződése. DNS polimerázok, a replikáció mechanizmusa, telomerek szintézise, exciziós javító rendszerek, homológ DNS szekvenciák közötti rekombináció, transzpozonok és jelentőségük.

4. Előadás. RNS szintézis és processzing. RNS polimerázok, a transzkripció szabályozása, enhancerek működése, transzkripciós faktorok célszekvenciáinak az azonosítása, represszorok és aktivátorok, kromatin „remodelling”, rRNS-ek és tRNS-ek érési folyamata, mRNS splicing, alternatív splicing.

5. Előadás. A metabolizmus általános regulációja prokariótákban. σ -faktorok, indukálható enzimek, elágazó bioszintetikus útvonalak génszintű szabályozása, terminációs/antiterminációs szabályozások, RNS stabilitás és modulálása, „riboreguláció”, globális szabályozó mechanizmusok, karbon katabolikus represszió, nitrogén katabolikus represszió, foszfor limitáció, molekuláris O_2 általi szabályozás, hő sokk válasz, hidegstressz válasz, oxidatív stressz, a membránfluiditás kontrollja, quorum érzékelés, kemotaxis és flagellum mozgás, finom szabályozás az enzimaktivitások modulálásán keresztül.

6. Előadás. A szén- és nitrogénmetabolizmus szabályozása mikroorganizmusokban. A karbon szabályozás molekuláris háttere Gram pozitív és Gram negatív baktériumokban, glükóz represszió élesztőkben és fonalas gombákban, nitrogén katabolikus represszió élesztőkben és fonalas gombákban, másodlagos anyagcseretermékek termelésének a szabályozása.

7. Előadás. Fehérje szintézis, processzing és szabályozás. A riboszómák szerkezete és működése, a transláció szabályozása, a fehérjék érési folyamatai, chaperonok és chaperoninok, a fehérjék kovalens módosításai és ezek jelentősége.

8. Előadás. A sejtmag. A maghártya, a magpórusok, nukleáris lamina, RNS és fehérje import és export folyamatok, a sejtmag anyagának klaszteres szerveződése, nukleoluszok, a riboszómák összeszerelődése.

9. Előadás. Fehérje szortírozás és transzport, ER, Golgi, lizoszómák. Az ER és Golgi szerkezete és működése, szignál felismerő partikulumok, fehérje processzing az ER-ben, a sima felületű ER-ben zajló bioszintetikus folyamatok, fehérje transzport és targeting, a legfontosabb szignál szekvenciák, a vezikuláris transzport mechanizmusa, a célorganellumok felismerése, a vezikulum-organellum fúziók folyamata, az exocitózis, endoszómák és lizoszómák, fagocitózis és autofágia.

10. Előadás. Bioenergetika és metabolizmus; citoskeleton. A mitokondrium genomja, fehérjetranszport a mitokondriumba, a kloroplasztisz genomja, fehérjetranszport a kloroplasztiszba, a peroxiszómák, a citoskeleton elemei, a mikrofilamentumok jellemzése, felépülése, funkciói. Fimbrin, filamin, spektrin, fokális adhéziók, aktinkötő fehérjék, bél epitélium mikrobolyhok, az izomkontrakció, a miozinok típusai, aktin-miozin kölcsönhatások, citokinezis, sejtek vándorlása felszíneken, közbenső filamentumok típusai, összeszerelődése, funkciói, a mikrotubulusok felépítése, funkciói. A centroszómák és centriólumok, molekuláris motorok, ciliumok és flagellumok szerveződése, működése, a mitózis folyamata.

11-12. Előadások. Sejtmembrán, sejtfal. Fehérje felvétel és leadás mikrobákban. Spórázás. A biológiai membránok felépítése, integráns és perifériás membránfehérjék, endocitózis, lipid tutajok, caveolusok, a mikrobák sejtfala, fehérjék szekréciója baktériumokban, fehérjék felvétele és leadása gombákban. A kigombolyodott fehérje stresszválasz („unfolded protein response”). Gombák morfológiája, dimorf átalakulásai, stresszválasz rendszerei. Baktériumok spórázása, endospórázása, gombák konidiogenezise, ezek szabályozása és biotechnológiai jelentősége. Heterotrimer G-protein szignál transzdukciós útvonalak fonalas gombákban.

13. Előadás. Molekuláris farming kutatása, fejlesztése és alkalmazása növényeknél. A növényi genom szerveződése, genetikai módosítása. Fehérje expresszió növényekben, nukleáris és kloroplasztisz transzformációk. Növényi fehérje lokalizációs szignálok.

14. Előadás. Molekuláris biotechnológia – heterológ fehérjetermelés baktériumokban és gombákban. Prokarióták: szabályozható promóterek, fúziós fehérje rendszerek, inteinek, a transláció hatékonyságának a fokozása, a kodon használat módosítása, a kellő O₂-tenzió biztosítása, a biofilm képzés limitációja, a marker gének eltávolítása, a megtermelt idegen fehérjék hajtogatódása, szekréciója. A fehérjét expresszáló sejtek metabolikus terhelhetősége. Az élesztő, *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia pastoris*, *Hansenula polymorpha*, *Arxula adenivorans* és *Yarrowia lipolytica*, továbbá a fonalas gomba expressziós rendszerek sajátosságai, alkalmazása.

15. Előadás. Konzultáció.