

Dr. Bodai László

A nukleinsavak szerkezete. A pro- és eukarióta
sejtek genom állományának összehasonlítása
(méret és összetétel sajátosságai), a humán
genom jellemzése

Segédlet a BSc záróvizsgára való felkészüléshez

Jelen tananyag a Szegedi Tudományegyetemen
készült az Európai Unió támogatásával.

Projekt azonosító: EFOP-3.4.3-16-2016-00014



Nukleinsavak, genomok

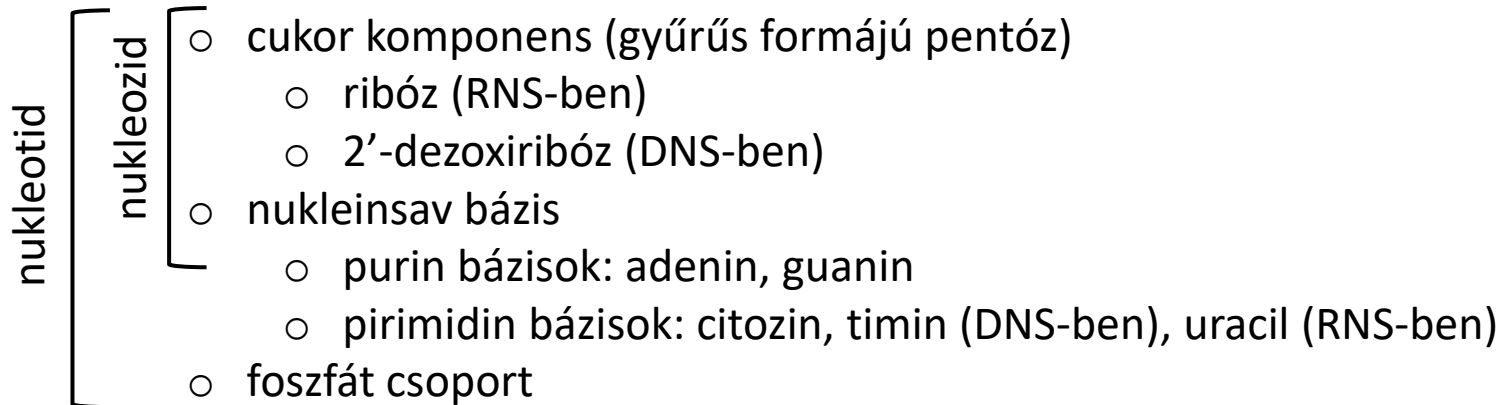
Segédlet a BSc záróvizsgára felkészüléshez

Készítette: Dr. Bodai László
SZTE, 2020.

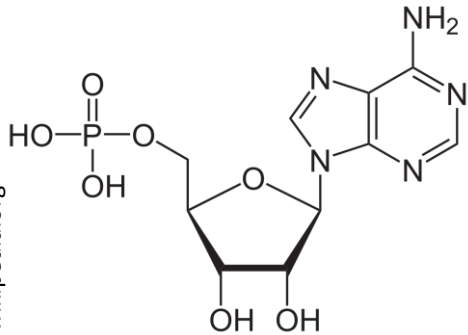
Záróvizsga tétel címe: A nukleinsavak szerkezete. A pro- és eukarióta sejtek genom állományának összehasonlítása (méret és összetétel sajátosságai), a humán genom jellemzése.

Nukleotidok, nukleinsavak

- A nukleinsavak alapvető szerepet játszanak a genetikai információ tárolásában, utódokba való átörökítésében, és a genetikai információ kifejeződésében.
- Az élő szervezetekben kémiai felépítését tekintve kétféle nukleinsav található, a dezoxiribonukleinsav (DNS) és a ribonukleinsav (RNS).
- A nukleinsavak lineáris, el nem ágazó polimer molekulák. E polimerek monomer építőegységei a nukleotidok, amelyekből a polinukleotid láncok épülnek fel.
- A nukleotidok kémiai szerkezetüket tekintve a következő alkotó vegyületekből állnak:



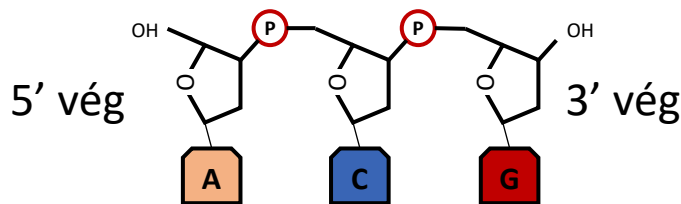
A nukleotidok szerkezete és polinukleotid láncká kapcsolódása



adenozin-monofoszfát

- A nukleotidokban a nukleinsav bázis a (dezoxi)ribóz 1' szénatomjához β -N-glikozidos kötéssel kapcsolódik
- A foszfát csoport a (dezoxi)ribóz 5' szénatomján lévő hidroxil csoporthoz kapcsolódik észter kötéssel. A foszfát csoportok száma 1, 2 vagy 3 lehet (pl. AMP, ADP, ATP).

- A polinukleotid láncokban a nukleotidok úgy kapcsolódnak egymáshoz, hogy egy foszfát csoport egy nukleotid 3' hidroxil, és egy következő nukleotid 5' hidroxil csoportjával is észtert képez, azokat így foszfodiészter kötés kapcsolja össze.
- A polinukleotid láncnak így irányultsága van, az egyik vége 5' vég, a másik vége 3' vég, az alapján, hogy a (dezoxi)ribóz melyik szénatomján lévő hidroxil csoport szabad.



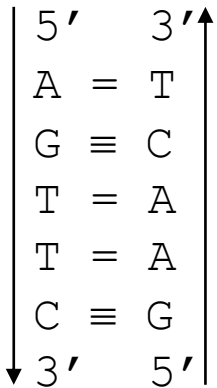
A polinukleotid lánc gerincét a váltakozó pentóz – foszfát lánc képezi (cukor-foszfát gerinc); ez monoton módon ismétlődik, a nukleinsav molekulák egyediségét, specifitását a nukleinsav bázisok sorrendje (bázissorrend, szekvencia) határozza meg.

	DNS szerkezete	RNS szerkezete
cukor komponens	2'-dezoxiribóz	ribóz
purin bázisok	adenin, guanin	adenin, guanin
pirimidin bázisok	timin, citozin	uracil, citozin
szálúsága	kétszálú	egyszálú
szálak lefutása	antiparalel	-

RNS és DNS szerkezet

- Az **RNS** molekulák jellemzően egyetlen polinukleotid láncból állnak (egyszálúak).
- Elsődleges szerkezetüket a bázissorrend adja.
- A másodlagos szerkezetükben önkomplementer, bázispárosodott szakaszok kialakulásával jön létre.

- A **DNS** molekulák kétszálú formában fordulnak elő, a két szál lefutása egymáshoz képest antiparalel.
- A két szálban egymással szemben mindig egy purin és egy pirimidin bázis, adeninnel szemben mindig timin, guaninnal szemben mindig citozin található. Ezeket komplementer bázisoknak nevezzük. (Chargaff mennyiségi megfigyelései: A=T, G=C)
- A két szál a komplementer bázisok közötti hidrogén hidak (A=T 2 db, G≡C 3 db) kapcsolják össze, az azonos láncban lévő bázisok között van der Waals kölcsönhatások érvényesülnek.
- A DNS térbeli szerkezetét a Watson-Crick modell írja le: (B-DNS esetén) a két polinukleotid lánc jobbméretes helikális szerkezetet vesz fel, a cukorfoszfát gerinc a kívül fut, a bázisokat a helix belsejében találjuk, síkjuk a helix tengelyére közel merőleges. Egy fordulatban 10 nukleotid van, magassága 3,4 nm, átmérője 2 nm.



DNS denaturálása: a hidrogén hidak felbomlanak, a két szál elválk egymástól. Olvadáspont (T_m): az a hőmérséklet, ahol a bázisok fele van egyesszálú formában.

A genomok általános jellemzői

- Az élőlények örökítőanyagának összességét **genom**nak nevezzük.
 - Minden sejtes szerveződésű élőlény (eukarióták, prokarióták) örökítőanyaga (duplaszálú) DNS, RNS genom csak egyes vírusoknál fordul elő.
 - A *genom komplexitását* az örökítőanyag sokfélesége, a genomban található DNS összessége adja.
 - C-érték paradoxon: a genom méret nem minden esetben arányos az élőlény komplexitásával.
-
- Prokarióta sejtekben egyszerűbb, általában cirkuláris genomot találunk, amely a sejt citoplazmájában membrán által nem elkülönítetten található (**nukleoid**). A genomból több kópia is jelen lehet.
 - Eukarióta sejtekben az örökítőanyag döntő része a citoplazmától elkülönítetten, a sejtmagban található több lineáris kromoszóma formájában. Emellett kisebb mennyiségű örökítőanyag található a magon kívül is (organellum genomok). Haploid vagy diploid genom.

Prokarióta és eukarióta genomok összehasonlítása

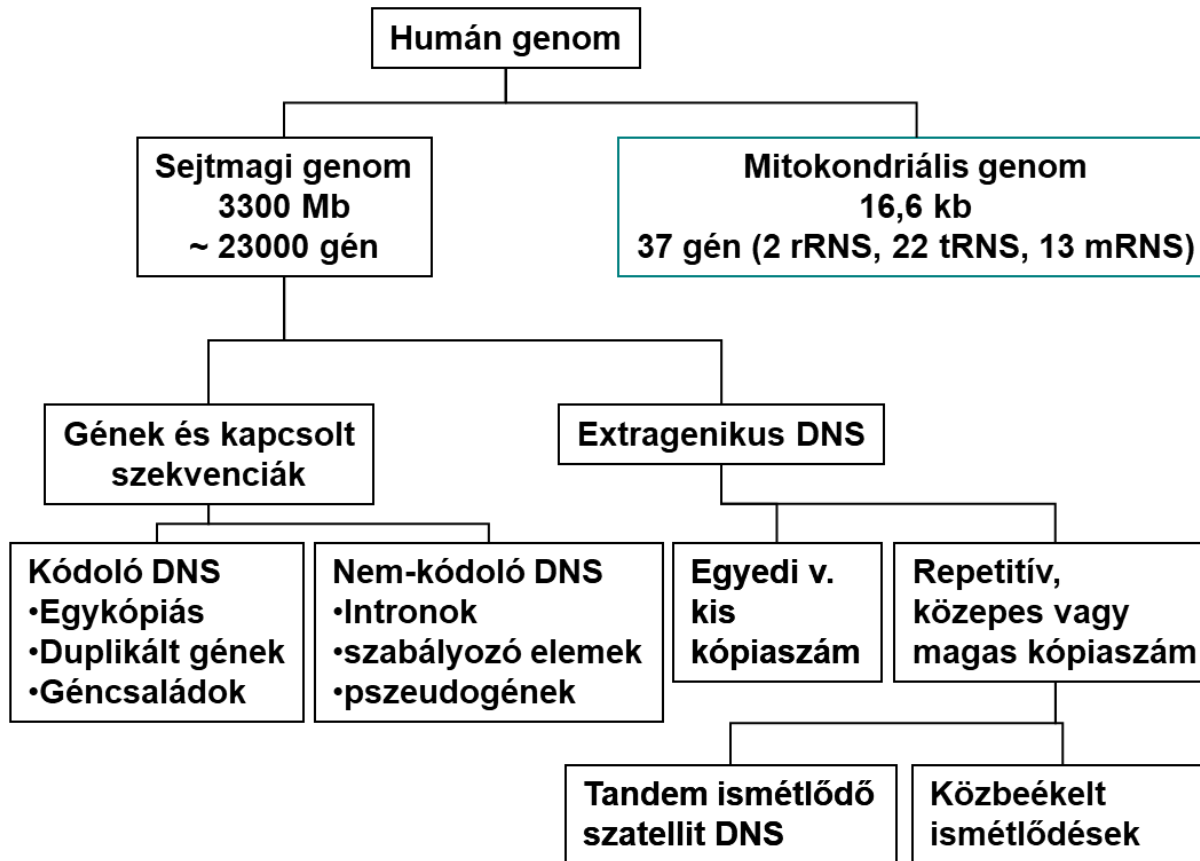
	Prokarióták	Eukarióták
Elhelyezkedése	citoplazmában	elsősorban a sejtmagban, valamint organellekben (mitokondrium, plazmizók).
Összetevői	Cirkuláris bakteriális kromoszóma, emellett extrakromoszómális elemek (pl. plazmidok) is lehetnek.	Lineáris kromoszómák a sejtmagban, az organellek genomok cirkuláris DNS-ek.
Genom méret:	Általában millió bp-os nagyságrendben (10^5 - 10^7)	10 millió – több milliárd bp nagyságrendben (10^7 - 10^{11})
Nem-kódoló szekvenciák aránya	Alacsony (~10%)	A kódoló többszöröse is lehet. (Humán: 98%) Intronok, ismétlődő szekvenciák nagy mennyiségben.
Gének száma	Néhány ezer (~4-5 ezer)	~15-20 ezer, diploid élőlényekben két kópiában vannak jelen.
Génszerveződés	Operonokba szerveződő gének; a gének nem szabdaltak.	Önálló, monocisztronos gének, szabdalt gének (exon-intron)
asszociációja makro-molekulákkal	Nukleoid-asszociált fehérjékkel komplexben.	Összetett kromatin szerkezetben.

A humán genom főbb jellemzői

A humán genom (haploid) főbb jellemzői	
Haploid DNS méret	3,2 milliárd bp
Fehérjét kódoló gének száma	~ 21.000
Fehérje kódoló gének átlagos hossza	27 kbp
Génenkénti exonok átlagos száma	10,4
Nemkódoló RNS gének száma	~ 9000
Pszudogének száma	>20000
Fehérje kódoló szekvenciák aránya	1,5%
Nagy kópiaszámú ismétlődő genetikai elemek aránya	~ 50%

- Az emberi sejtekben 23 pár kromoszóma található, 22 pár autoszóma és 1 pár nemi kromoszóma (XX vagy XY). Egy adott kromoszóma apai és anyai eredetű kópiáját **homológ kromoszómáknak** nevezik.
- Minden kromoszóma egyetlen lineáris DNS molekulát, valamint a kromatin szerkezet felépítéséhez hozzájáruló fehérje és RNS molekulákat tartalmaz.
- Az emberi kromoszómák DNS tartalma 45 – 244 Mbp mérettartományba esik.
- Egy kromoszómán átlagosan ~ 1000 fehérje kódoló gént találhatunk.

A humán genom összetétele



Mitokondriális genom:

- A petesejt citoplazmájával, csak anyai ágon öröklődik!
- Mérete 16 569 bp, több genom lehet mitokondriumonként, több mitokondrium sejtenként.
- 13 fehérje kódoló, 2 rRNS és 22 tRNS gén.

Gének:

- Lehetnek (fehérje) kódoló, vagy nem kódoló (rRNS, tRNS, lncRNS, miRNS gének)
- *duplikált gének, géncsaládok*: egymáshoz közel elhelyezkedő hasonló szekvenciájú gének (pl. globin gén család)
- *többkópiás gének*: általában tandem ismétlődnek, azonosak vagy csaknem azonos szekvenciájúak (pl. rRNS, hiszton gének)
- *pszeudogének*: funkcionális génekhez hasonló szekvencia de mutációk miatt nem funkcióképesek

A humán genom összetétele: ismétlődő szekvenciák

- **Egyszerű-szekvencia ismétlődések** (szatellita DNS): 1 – 500 bp tandem ismétlődések, a humán genom 6%-át adják. Egyszerű-szekvencia ismétlődések 20-100 kb szakaszokban gyakran előfordulnak a centromer és telomer régiókban is. Az ismétlések száma változókon → DNS ujjlenyomat.
- Mikroszatellita / STR (Short Tandem Repeats): 1-13 bp ismétlődések
- Miniszatelliták / VNTR (Variable Number Tandem Repeats): 14 – 100 bp ismétlődések
- **Közbeékelte ismétlődések** / mobilis DNS elemek: a humán genom ~42%-át adják
 - DNS transzpozonok: Mozgásuk DNS intermedieren keresztül „kivágás – beillesztés” mechanizmussal transzpozáz segítségével történik. (pl. kukorica *Ac*, muslica *P* elem)
 - Retrotranszpozonok: Mozgásuk RNS intermedieren keresztül történik, transzkripció → reverz transzkripció → DNS másolat beillesztése. „Másolás – beillesztés” mechanizmus.
 - LTR retrotranszpozonok: Hosszú, direkt végi ismétlődések, fehérje kódoló gének, retrovírusokhoz hasonló transzpozíció. Humán genom 8%-a, pl. *ERV* ~400e kópia.
 - Nem-LTR retrotranszpozonok: nincsenek hosszú végi ismétlődések
 - LINE: *hosszú közbeékelte szekvenciák*. Teljes méretük 6 kb, két ORF, önálló mozgásra képesek. A humán genomban ~900e kópia, genom 21%-a. (pl. L1, L2, L3 elemek.)
 - SINE: *rövid közbeékelte szekvenciák*. 100-400 bp, nincs ORF, önálló mozgásra nem képesek. A humán genomban ~1,6M kópia, a genom 13%-a. (pl. *Alu* elem)