

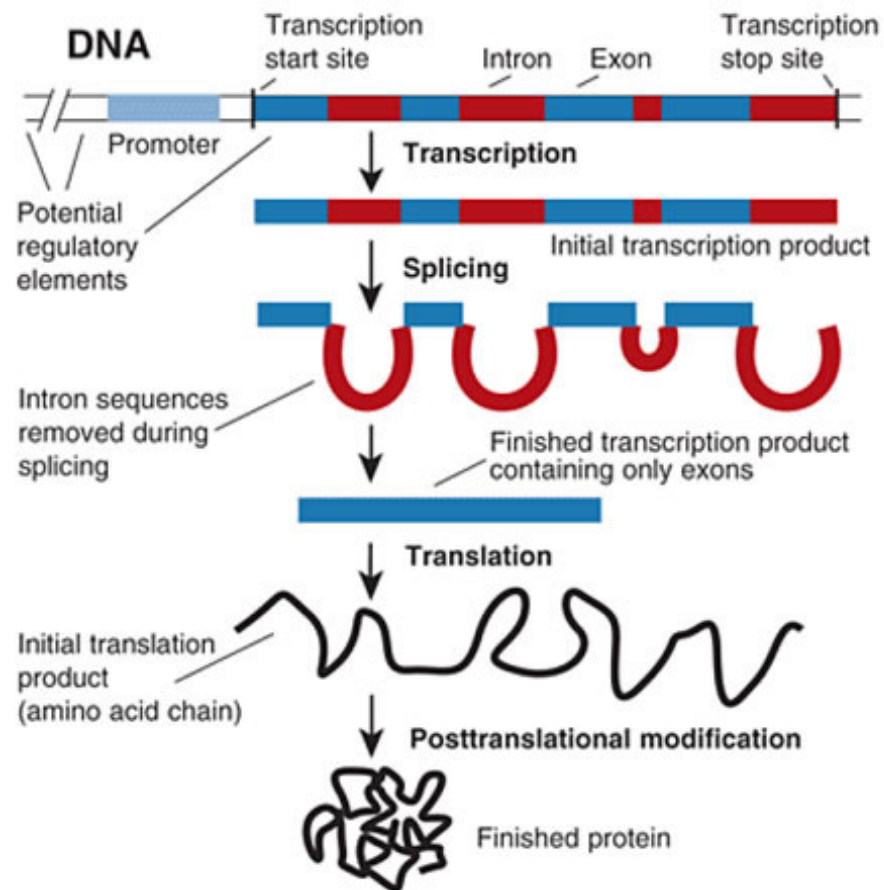
## A GÉNEXPRESSZIÓ VIZSGÁLATA

A DNS nemcsak tárolja az információt, hanem lehetővé teszi annak szabályozott érvényre jutását, kifejeződését.

A *génexpresszió* során a génekről RNS-molekulák keletkeznek (*transzkripció*), melyek mint speciális RNS-ek (tRNS, rRNS, snRNS ...) funkcionálnak, vagy mint mRNS-ek a gének által kódolt fehérjék elkészülését (*transzláció*) irányítják.

Az információ áramlás iránya: DNS → RNS → fehérje.  
Ez a *centrális dogma*, amely a reverz transzkriptázok felfedezésével részben módosult.

**A génkifejeződést a géntermék, a kódolt RNS illetve fehérje megjelenésének kimutatásával vizsgálhatjuk.**  
**A gén működését a promóter régió irányítja.**

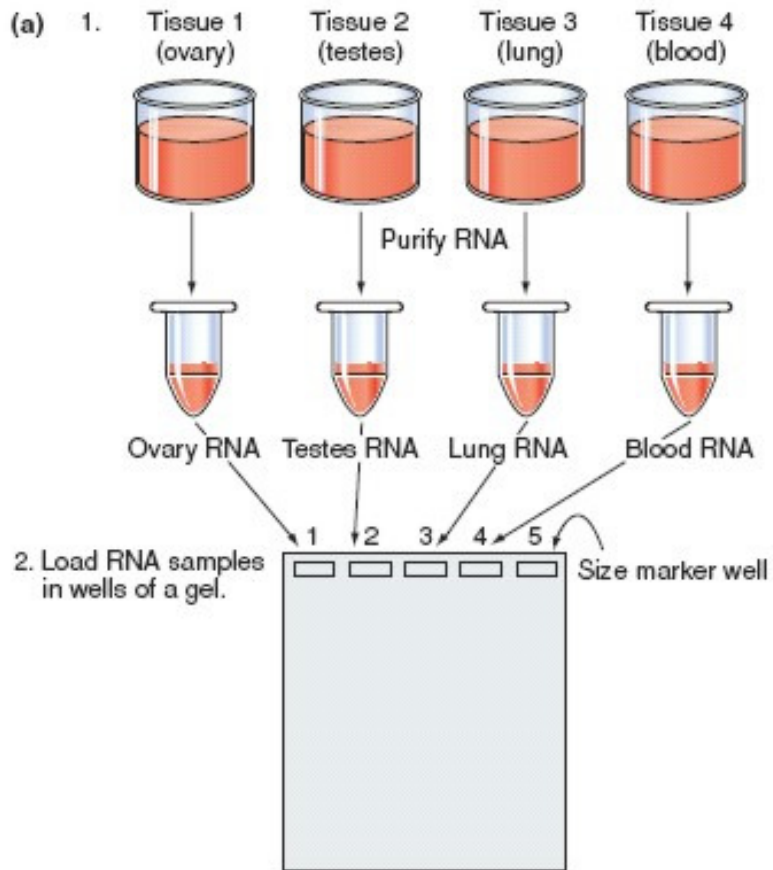


### RNS kimutatás hibridizációval

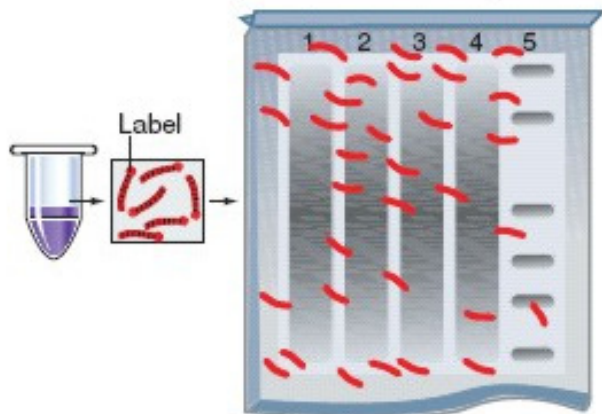
Northern-blott,  
differenciál hibridizáció,  
DNS-chip, microarray  
*in situ* hibridizáció

### Fehérjék kimutatása

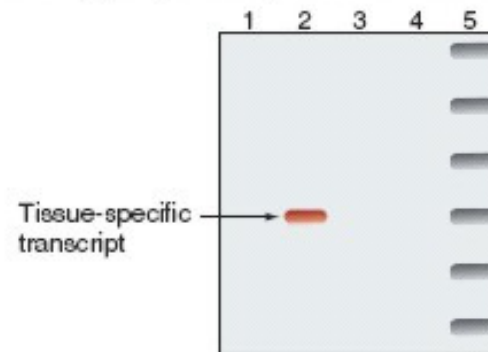
Western-blott ellenanyagokkal  
*in situ* detektálás ellenanyagokkal  
fehérje chip  
foszforiláltság vizsgálata  
enzimaktivitás detektálása  
riporter gének, transzgenikus élőlények



3. Separate RNA samples by gel electrophoresis. Blot onto filter. Expose filter to labeled hybridization probe.



4. Wash away unhybridized probe. Make autoradiograph.



(a)

(1) Különböző szövetekből vagy kezelésekből vett mintákból RNS tisztítás

(2) elválasztás: denaturáló agaróz vagy poliakrilamid gélelektroforézis

(3) Northern-blottolás (RNS-filter) és a jelölt génszakasz (DNS-próba) Hibridizáció

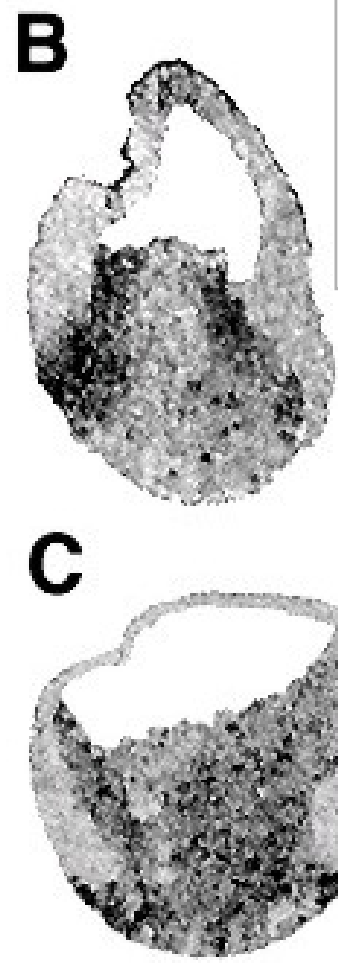
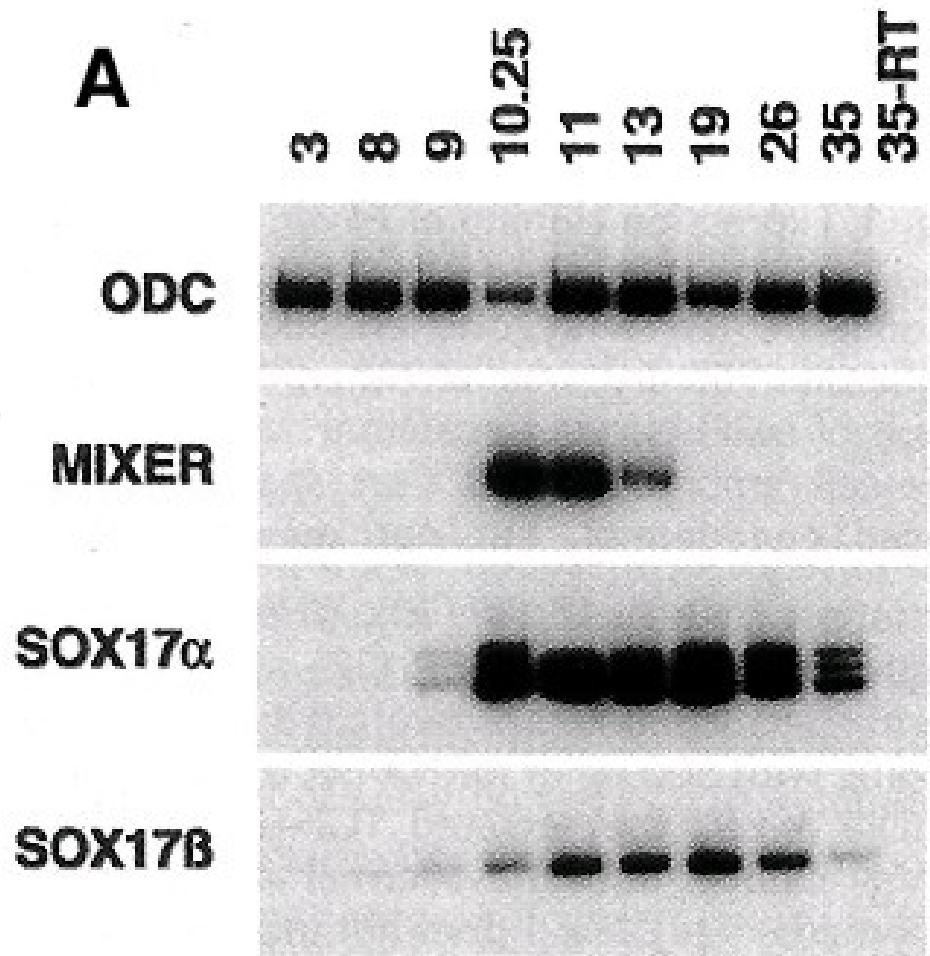
(4) Előhívás, szövet specifikus expresszió kimutatása

(b)

Egy valószínű hibridizáció autoradiogramja

Az alsó részen látható egy kontroll gén (actin) nem szövet specifikus expressziója. Minden RNS mintában megtalálható az actin mRNS.

**Figure 1** (A) Time course of Mixer, Xsox17 $\alpha$  and Xsox17 $\beta$ . The ODC serves as a loading control to be certain that each lane had nearly the same amount of material. (B) In situ hybridization of Stage 10.25 (early) *Xenopus* gastrula with antisense probe for *Mixer*. Expression is at the borders between endoderm and the mesoderm and ectoderm. (C) In situ hybridization of midgastrula *Xenopus* embryo with antisense probe to *Xsox17 $\beta$*  showing expression across the entire endoderm. *Mixer* has a similar expression pattern at this stage. (After Henry and Melton, 1998).



(A)  
Gének működésének nyomon követése az időben  
ODC = kontroll

(B és C)  
*Xenopus* embrió  
*in situ* hibridizáció

## cDNS géntár, differenciál hibridizáció

csirke oviduktusz példányszám / sejt	mRNS-féle
100.000	1 mRNS - ovalbumin
4.000	7 féle mRNS
5	12.500 féle mRNS

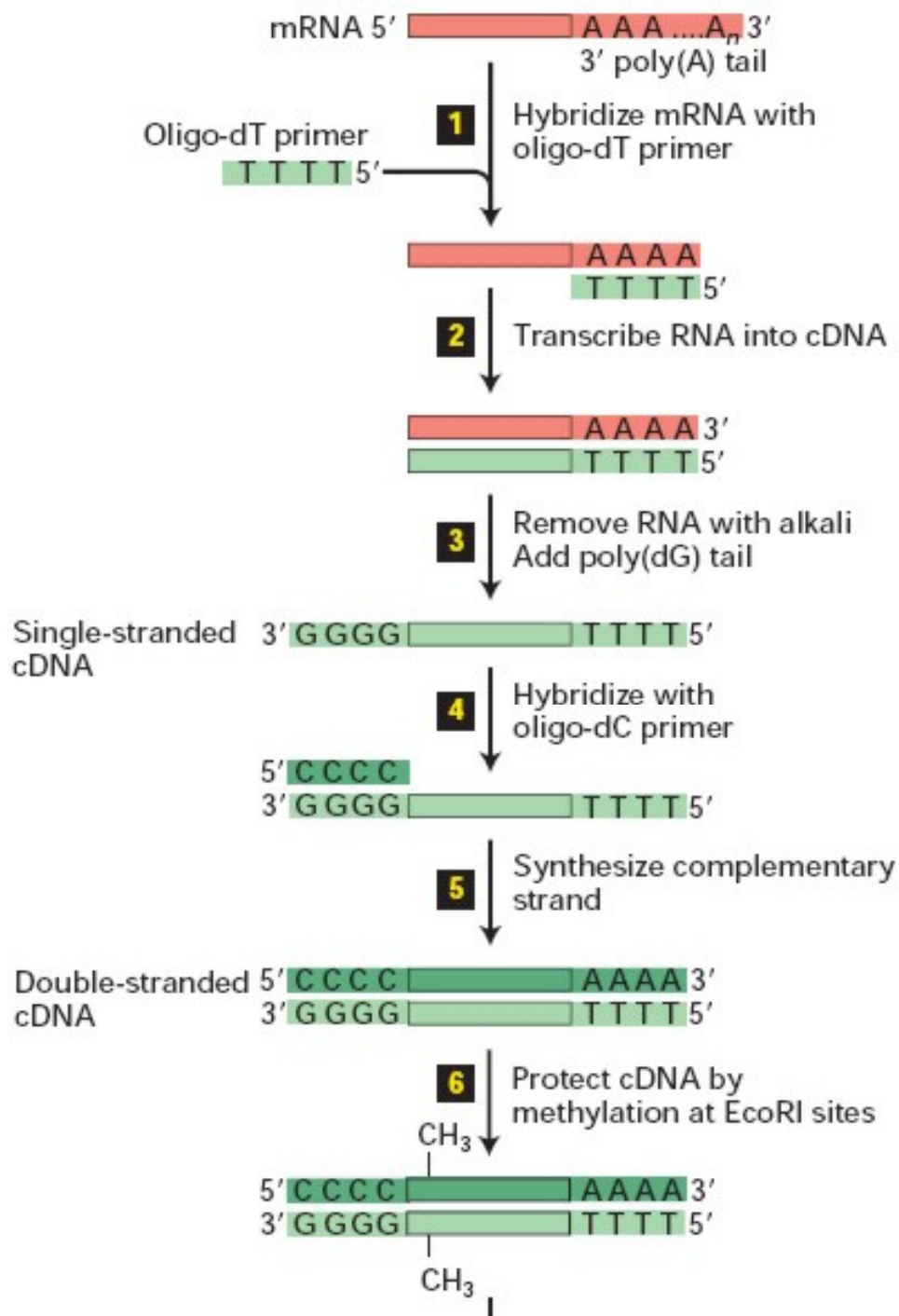
Egy RNS mintában  
soha nincs jelen az összes mRNS  
eltérő arányokban képződnek

**genomikus géntár:** a teljes genomból,

- milliós klónszám,
- minden szekvencia közel azonos arányban van jelen

**cDNS klóntár:** a *működő* gének lenyomata, érett *mRNS* szekvenciákról

- tíz-százvezres klónszám,
- **erősen eltérő arányban képviseltek az egyes szekvenciák** (0-100.000)
- többféle mRNS minta / többféle géntár
- alkalmas a különböző expressziós mintázatú gének azonosítására
- nincs intron, viszonylag rövid szekvenciák (1-5 kb) DE pl. a *disztrofin gén* 2.000 kb (közel fél *E. coli* genom!) hosszúságú és a róla keletkező érett mRNS is 14 kb - 3685 AS hosszú fehérje).
- **nincs promóter és más szabályozó elemek, ezek azonosításához *genomikus géntár* kell !**
- nincsenek repetitív elemek, intergenikus részek sem a cDNS géntárakban



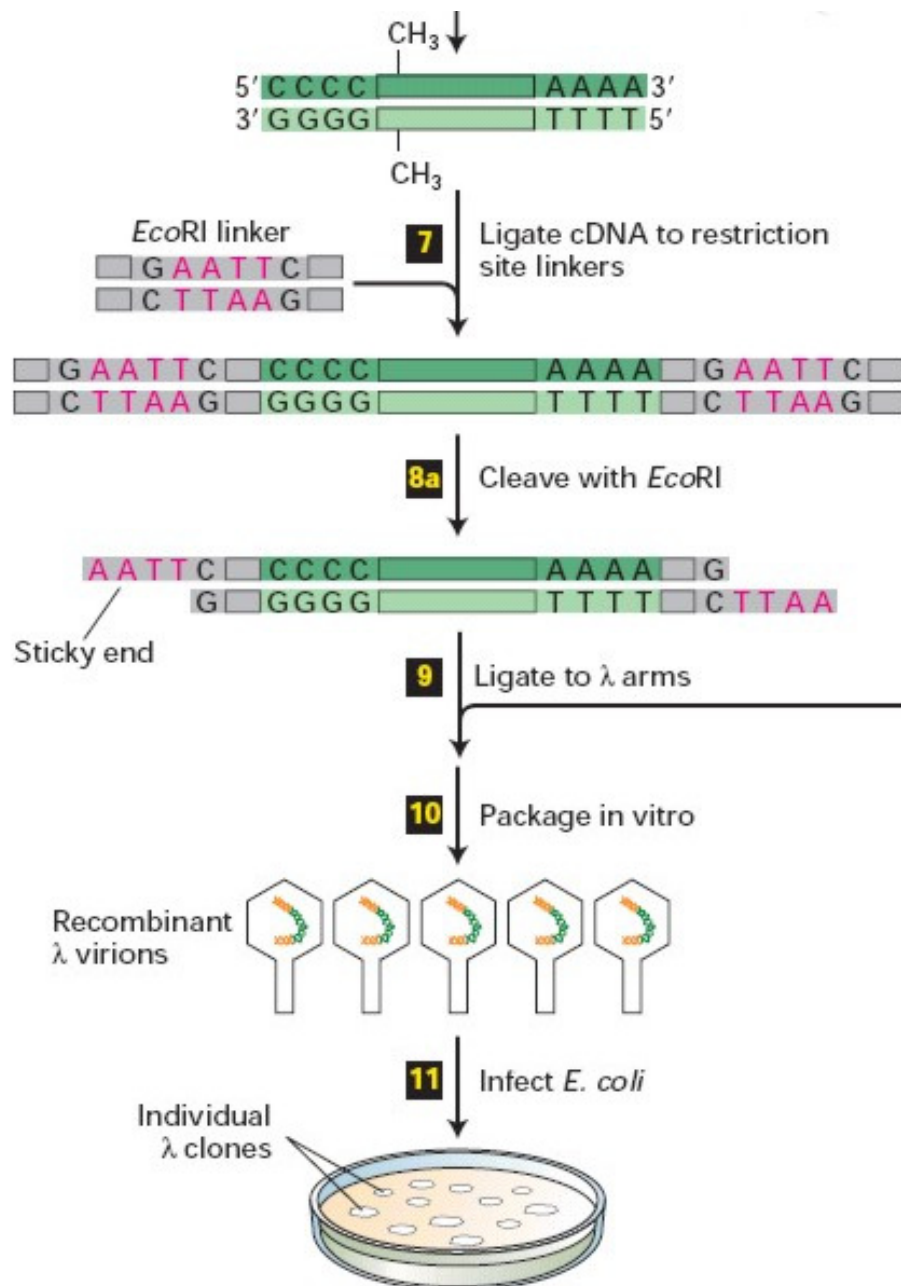
eukarióta mRNS tisztítás  
oligo-dT oszlop

reverz transzkriptáz  
cDNS-szintézis

terminális transzferáz

védelem: metilálás

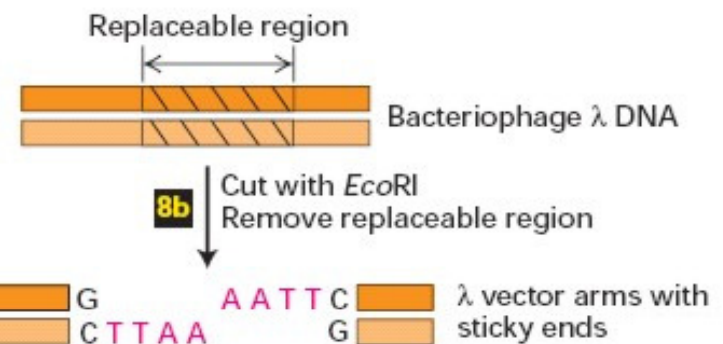




védelem: metilálás

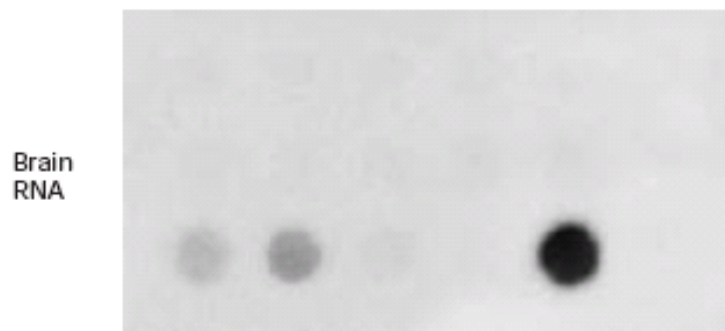
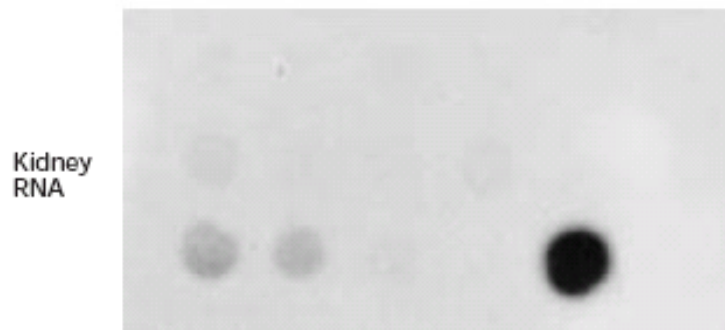
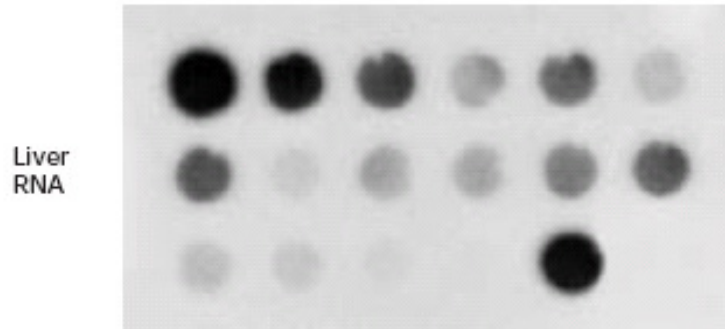
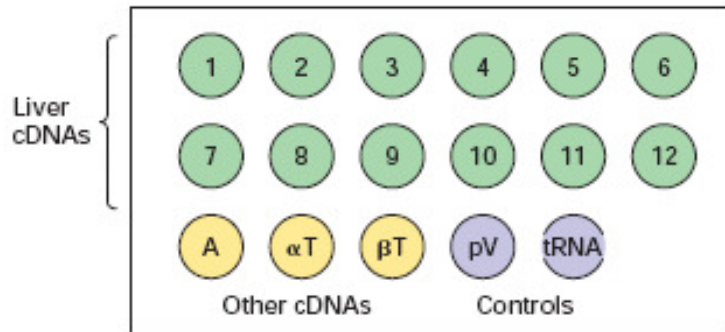
*EcoRI* linker ligálás

*EcoRI* hasítás és vektorba klónozás  
(*in vitro* pakolás, lambda fág vektor)

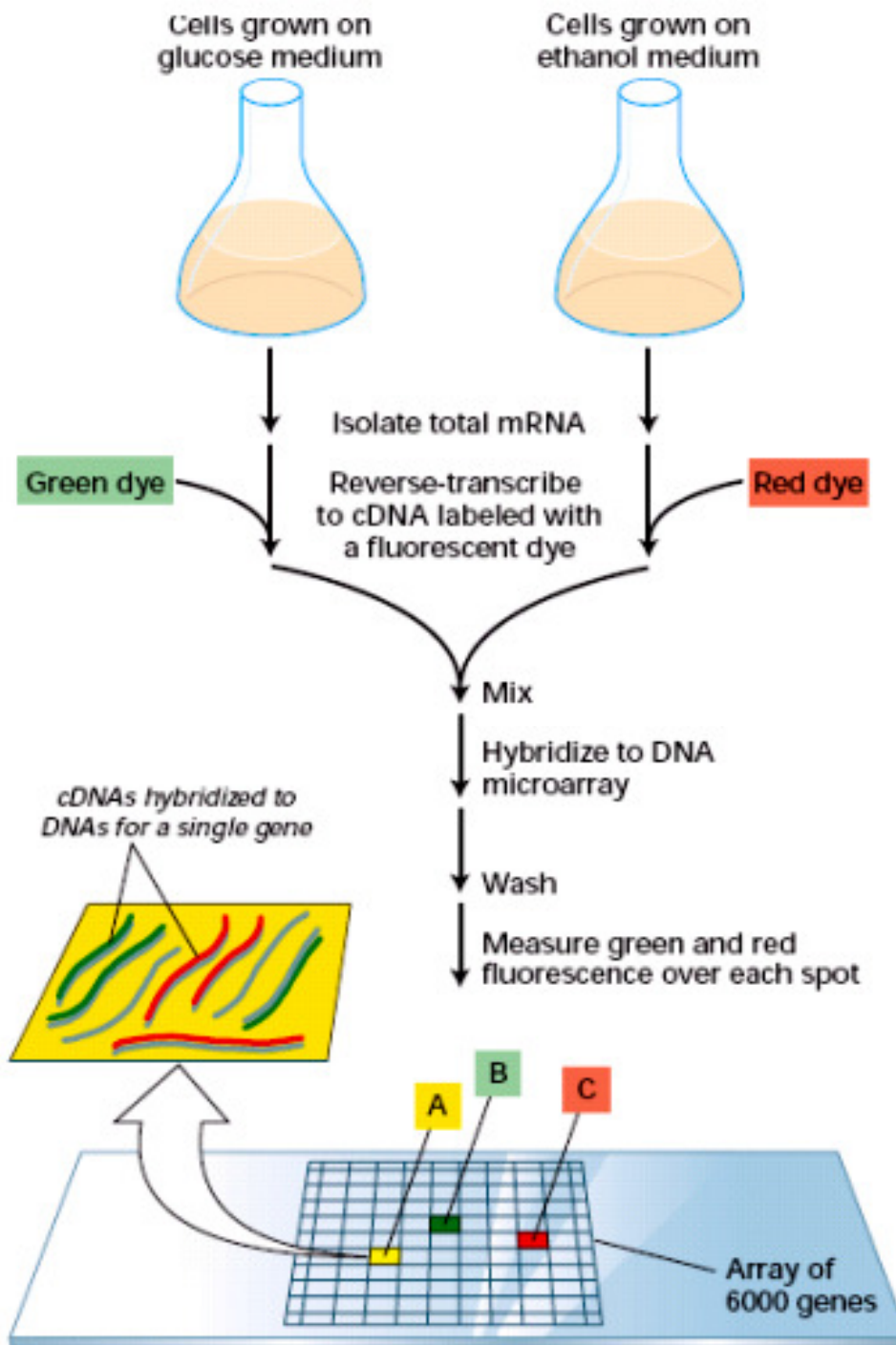


**▲ EXPERIMENTAL FIGURE 9-15** A cDNA library can be constructed using a bacteriophage  $\lambda$  vector. A mixture of mRNAs is the starting point for preparing recombinant  $\lambda$  virions each containing a cDNA. To maximize the size of the exogenous DNA that can be inserted into the  $\lambda$  genome, the nonessential regions of the  $\lambda$  genome (diagonal lines in Figure 9-14) usually are deleted. Plating of the recombinant phage on a lawn of *E. coli* generates a set of cDNA clones representing all the cellular mRNAs. See the text for a step-by-step discussion.

**Dot-blott és differenciál hibridizáció**  
 cDNS a filteren ! mRNS populáció jelölve!



**EXPERIMENTAL FIGURE 11-2** Measurement of RNA production in various tissues demonstrates that transcription of a given gene generally occurs only in the cell types in which it is expressed. Nuclei from mouse liver, kidney, and brain cells were exposed to <sup>32</sup>P-UTP. The three resulting labeled RNA samples were hybridized to separate nitrocellulose membranes; on each membrane was fixed an identical pattern of various cDNAs (top). The cDNAs labeled 1–12 (green) encode proteins synthesized actively in liver (e.g., albumin, transferrin) but not in most other tissues. The other cDNAs tested were actin (A) and α- and β-tubulin (αT, βT) (yellow), which are proteins found in almost all cell types. A gene encoding methionine tRNA and the plasmid vector DNA (pV) in which the cDNAs were cloned were included as controls (purple). After removal of unhybridized RNAs, the labeled RNAs complementary to the cDNAs were revealed by autoradiography. RNA from the liver sample hybridized extensively with the cDNAs. Little hybridization is seen for the kidney and brain samples, indicating that genes encoding proteins found in hepatocytes are transcribed in liver cells but not in the cells of the other tissues. [See E. Derman et al., 1981, *Cell* **23**:731, and D. J. Powell et al., 1984, *J. Mol. Biol.* **197**:21.]



## DNS-chip, microarray

- A** If a spot is yellow, expression of that gene is the same in cells grown either on glucose or ethanol
- B** If a spot is green, expression of that gene is greater in cells grown in glucose
- C** If a spot is red, expression of that gene is greater in cells grown in ethanol

**▲ EXPERIMENTAL FIGURE 9-35 DNA microarray analysis can reveal differences in gene expression in yeast cells under different experimental conditions.** In this example, cDNA prepared from mRNA isolated from wild-type *Saccharomyces* cells grown on glucose or ethanol is labeled with different fluorescent dyes. A microarray composed of DNA spots representing each yeast gene is exposed to an equal mixture of the two cDNA preparations under hybridization conditions. The ratio of the intensities of red and green fluorescence over each spot, detected with a scanning confocal laser microscope, indicates the relative expression of each gene in cells grown on each of the carbon sources. Microarray analysis also is useful for detecting differences in gene expression between wild-type and mutant strains.



## DNS-chip. microarray

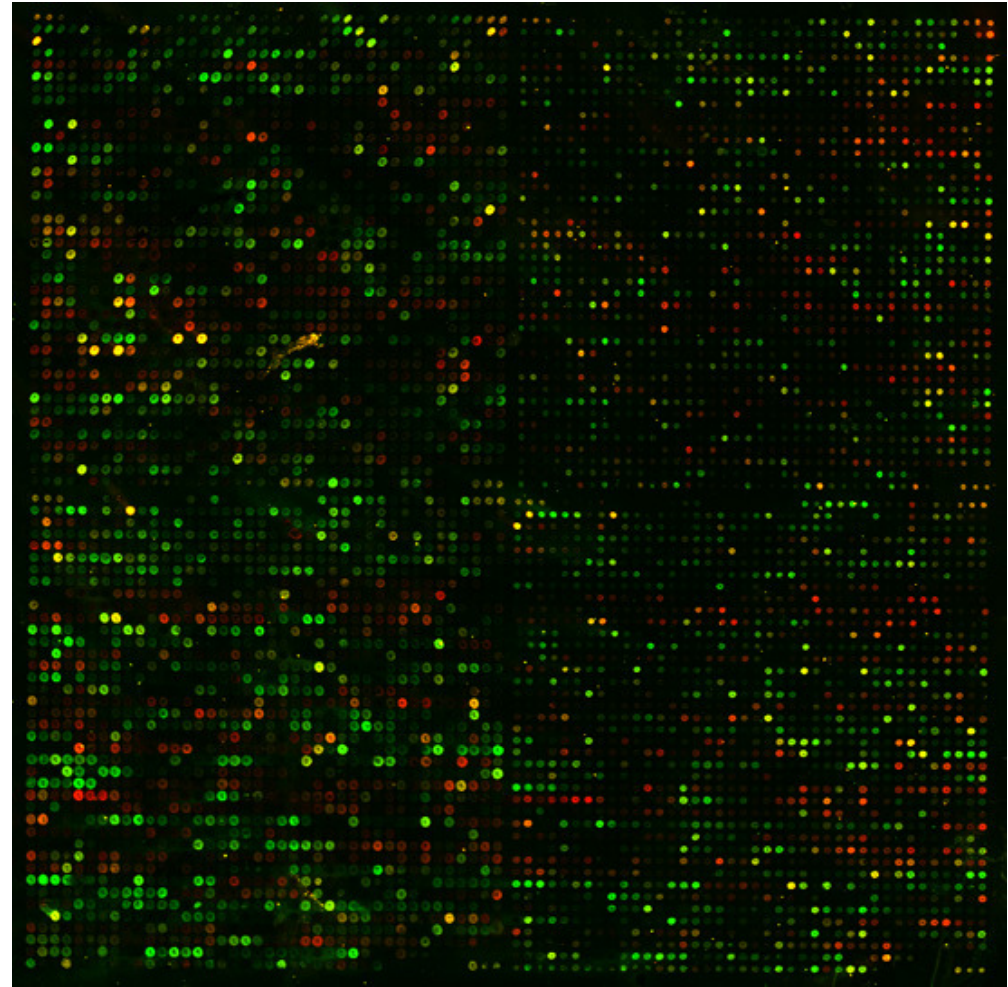
### DNS-chip

**Génexpresszió vizsgálata:** akár egy teljes génkészleten. A tárgylemez-szerű chipre sok tízezer szekvencia minta is felvihető (az összes gén kódoló szekvenciájának egy részlete elég).

**Génkészlet vizsgálata:** genetikai rendellenességet okozó, vagy betegségre hajlamosító allélek meglétének ellenőrzése. A chip *vad típusú és a mutáns szekvenciákat* tartalmazza és azt vizsgálják, hogy kiben milyen allél van jelen. Egy bázis eltérés is kimutatható! *Egyénre szabott terápia* a páciens génkészlete alapján (ha pl. egy gyógyszer hatását egy allél jelenléte – egy enzim megléte, hiánya, fokozott vagy csökkent működése - befolyásolja)

**Szekvencia meghatározás:** DNS-szekvencia meghatározás is lehetséges ezzel a hibridizációs technikával. Ebben az esetben is fontos, hogy egy bázis különbség kimutatható legyen. Pl. 8 tagú, ismert oligonukleotid szekvenciákat tartalmaz a chip, minden lehetséges szekvencia-variációban.  
( $4^8$  lehetséges variáció = 65.536)

Az ismeretlen szekvenciájú DNS szakaszt jelölik és hibridizálják. A hibridizáló pozíciók leolvasásából megállapítható a szekvencia.



## Riporter gének, génfúziók

Egy ismeretlen gén expressziós mintázatát, szabályozását szeretnénk megismerni

- mikor működik a gén ?
- milyen kiterjedésű a promoter régió ?
- milyen elemek vannak rajta ?

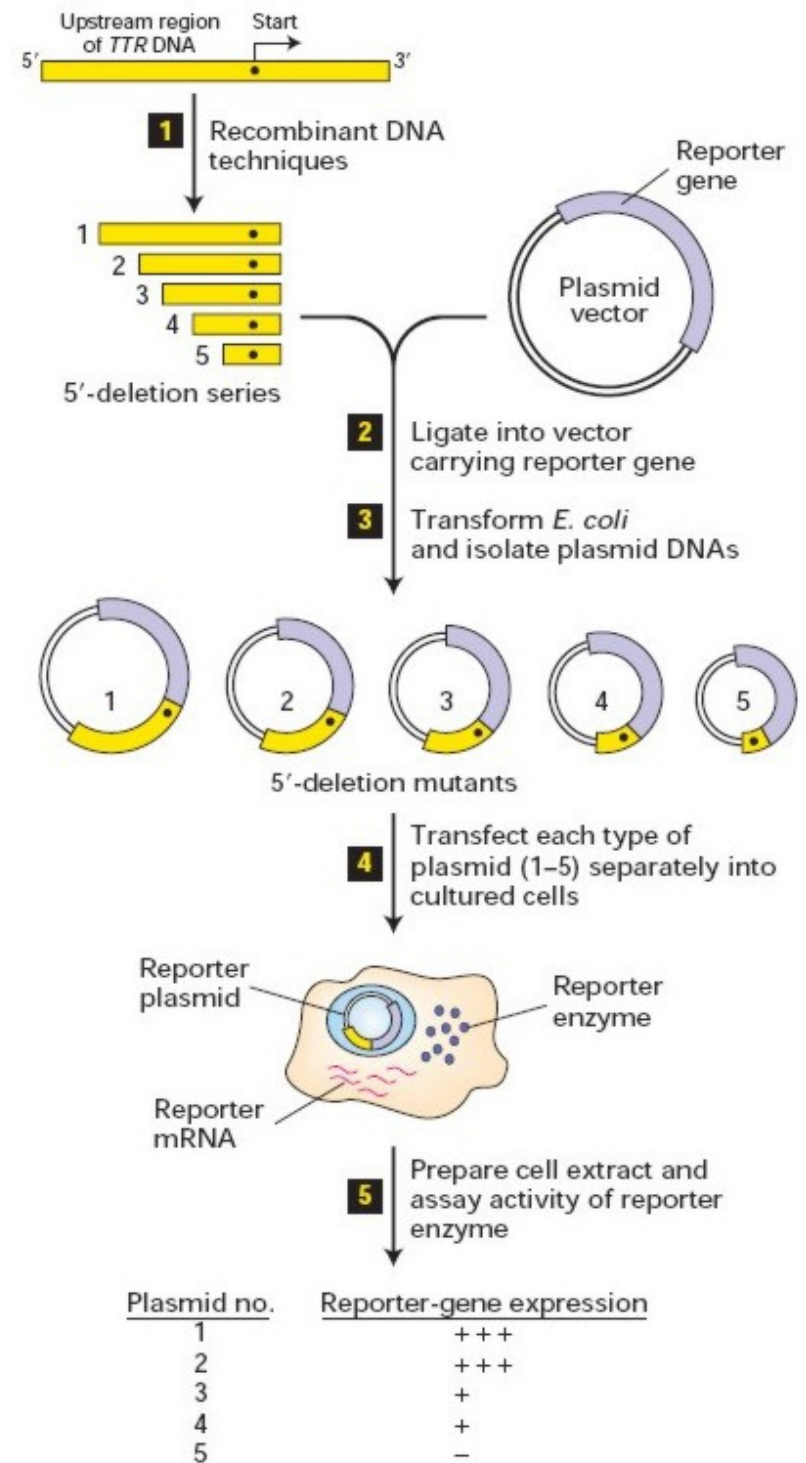
Az eredeti géntermék kis mennyiségben, ismeretlen funkció, nincs enzimaktivitás vagy drága detektálni.

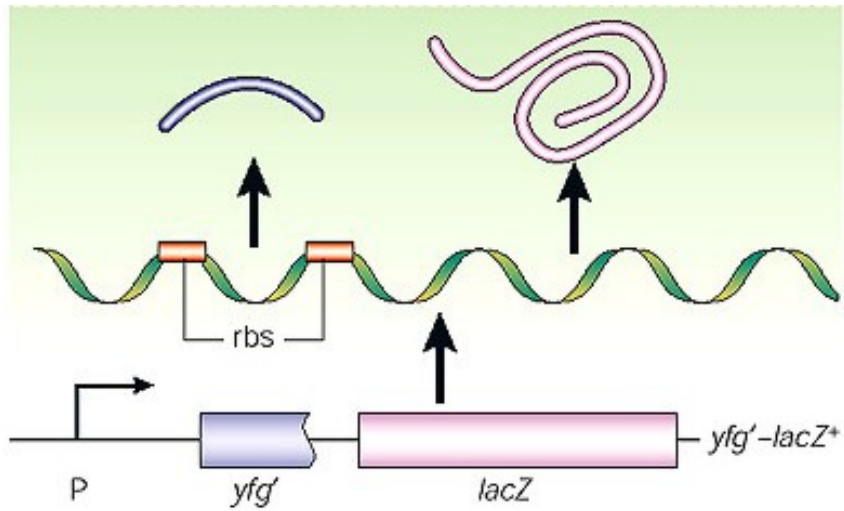
Riporter konstrukció: a promoter után ismert gént építünk, jól mérhető termék, nincs háttér

*transzkripciós fúzió*  
*transzlációs fúzió*

*promoter mikor működik?*

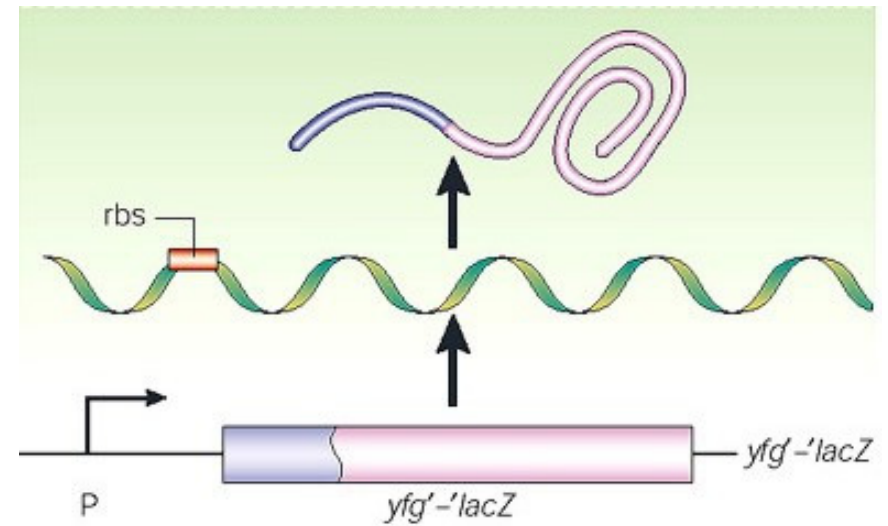
*promoter behatárolás* „darabolással”, mikor sérül az eredeti szabályozás?





**transzkripciós fúzió:** az ismeretlen (csonka) fehérjét és a riporter fehérjét kódoló ORF azonos mRNS-en, de KÜLÖN fehérje keletkezik

P: promoter; rbs: riboszóma kötőhely; yfg': vizsgált gén („your favourite gene”); lacZ: promoter nélküli lacZ gén (ORF)

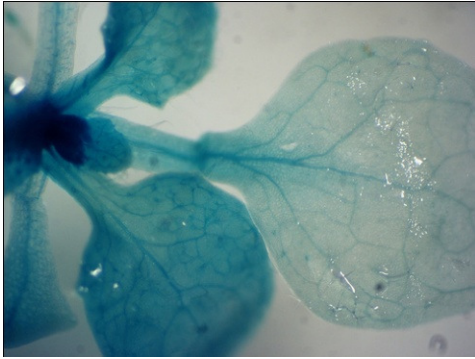


**transzlációs fúzió:** az ismeretlen (csonka) fehérjét és a riporter fehérjét kódoló *egyetlen leolvasási keret* jön létre, azonos mRNS és FÚZIÓS fehérje keletkezik – az ismeretlen fehérje útja is nyomon követhető

## Riporter gének: fontosabb rendszerek és felhasználásuk

kódolt fehérje	eredet	detektálás	főbb alkalmazások
<b>β-galactosidase</b>	<i>E. coli lacZ</i> , <i>lac</i> operon	Xgal kék szín	<i>In vivo</i> génexpresszió követés baktériumokban <i>In situ</i> génexpresszió elemzés, transzgenikus állatokban, növényekben (ONPG)
<b>GUS</b> β-glükuronidáz	<i>E. coli gus</i> operon <i>uidA</i> gén	X-glu kék	<i>In vivo</i> génexpresszió követés élesztőben és transzgenikus növényekben <i>in situ</i> protein targeting és transzport
<b>CAT</b> chloramphenicol acetyl transferase	<i>E. coli</i> , transzpozon Tn9	[ <sup>3</sup> H]- vagy [ <sup>14</sup> C] chloramphenicol Ac-CoA vagy ellenanyaggal	<i>In vitro</i> génexpresszió elemzés vékonyréteg kromatográfia, autoradiográfia immuncitokémia, <i>in situ</i> enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs)
<b>Luciferase</b>	szentjánosbogár <i>lux</i> gén <i>Photinus pyralis</i>	Luciferin + ATP + O <sub>2</sub> → fény oxyluciferin érzékeny CCD kamera	biolumineszcencia (hatékonyság több mint 90%) <i>In vivo</i> génexpresszió követés transzgenikus élőlényekben
<b>GFP</b> Green fluorescent protein	medúza <i>Aequorea victoria</i>	395 nm gerjesztés 509 nm, zöld fluoreszkálás	<i>In vivo</i> génexpresszió követés transzgenikus élőlényekben, sejten belüli lokalizáció, több folyamat egyidejű követése (különböző színek)

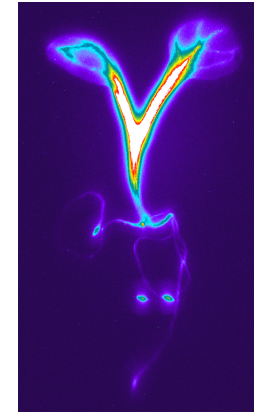




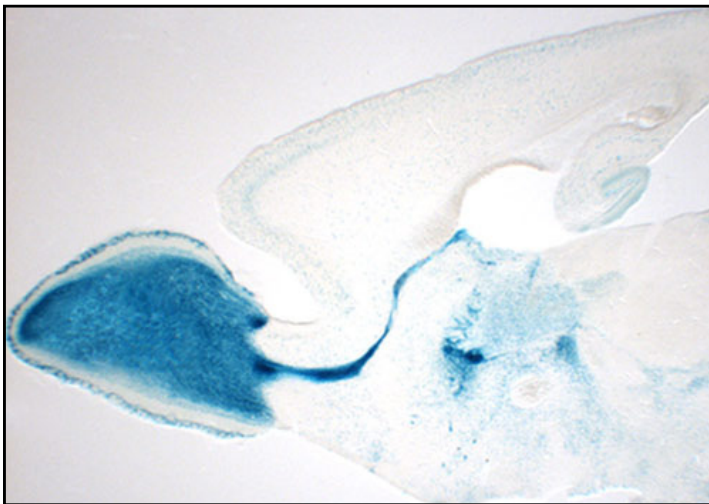
GUS riporter gén működése  
*Arabidopsis* növényben



GFP riporter gén és  
*Drosophila*



liciferáz és *Arabidopsis*



*Mash1* expresszió felnőtt egér agyában.  
 $\beta$ -galaktozidáz (*lacZ*) riporter géne,  
*Mash1::lacZ* transzgenikus egér



$\beta$ -galaktozidáz aktivitás jelzi a  
*noggin* géne működését

## Transzgenikus élőlények

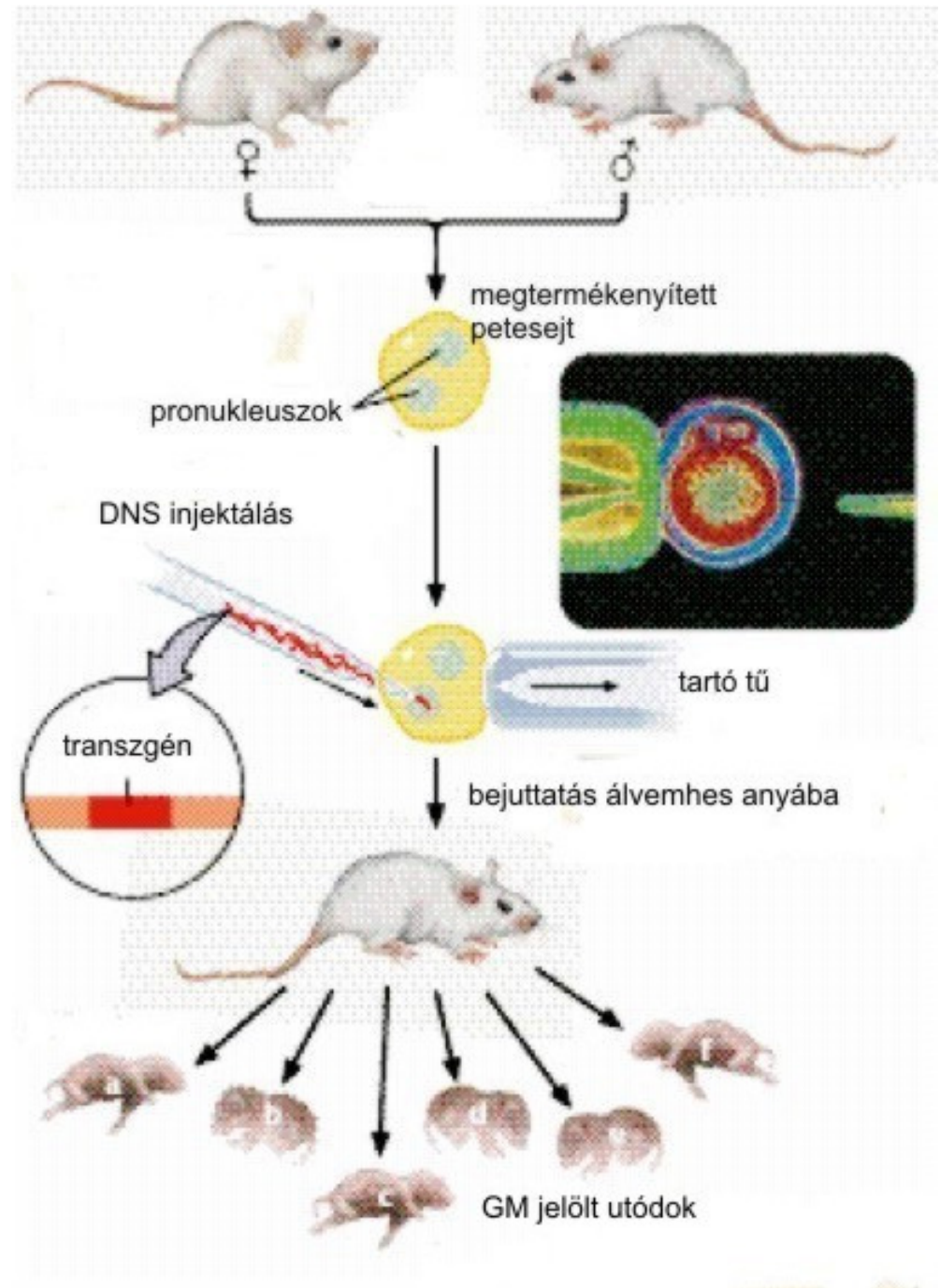
A molekuláris biológiai kutatásokban alapvető módszer, követelmény a transzgenikus élőlények előállítása a gének szerepének, szabályozásának tisztázására.

A transzgenikus emlősök előállításának két lehetséges kiindulópontja

- A) megtermékenyített petesejt
- B) embrionális sztemsejt (ES)

**A) PETESEJT** alkalmazása esetén

- 1) rossz hatásfok a transzgén beépülésnél
- 2) rossz az injektált sejtek túlélése
- 3) „vakon” dolgozunk: a transzgént tartalmazó utódokat csak utólag tudjuk kikeresni (PCR, hibridizáció). Nem tudunk szelektálni az idegen DNS beépülésére.

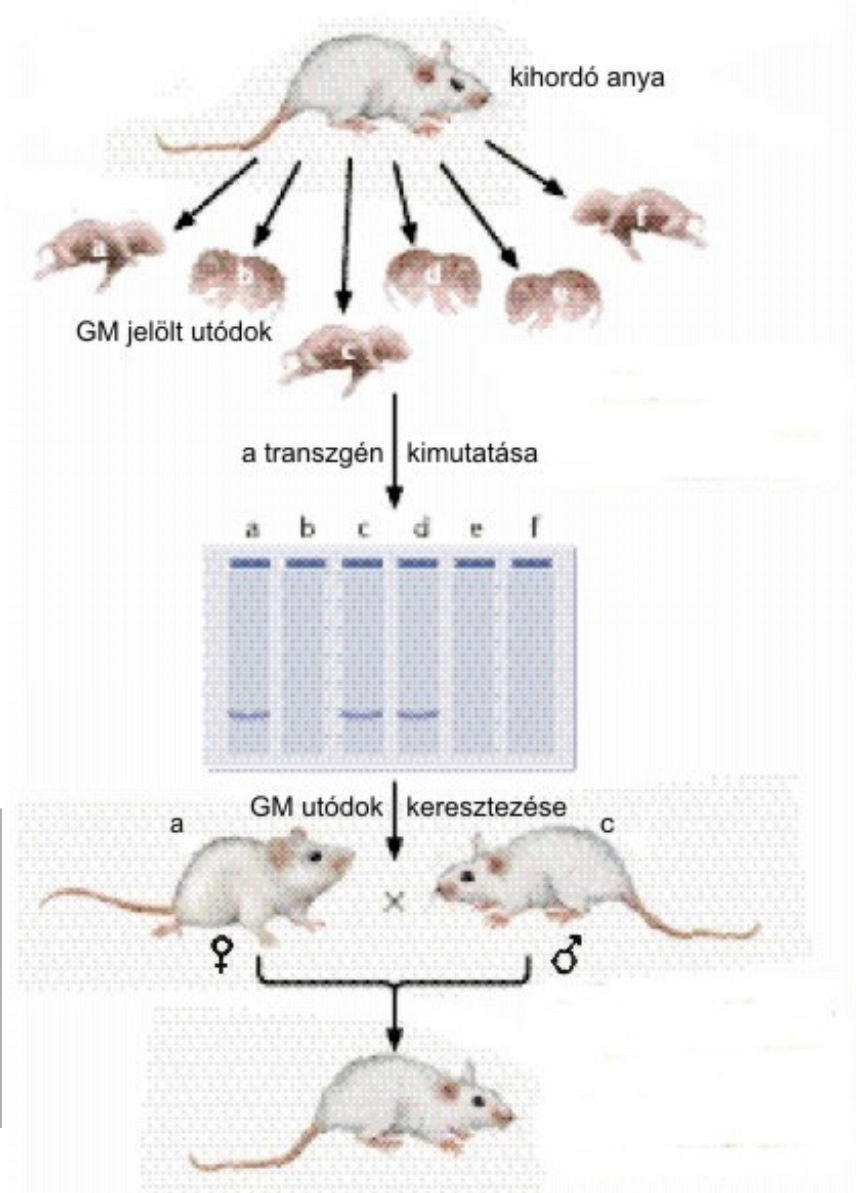


4) Előny viszont, hogy teljesen transzgenikus élőlény keletkezik.

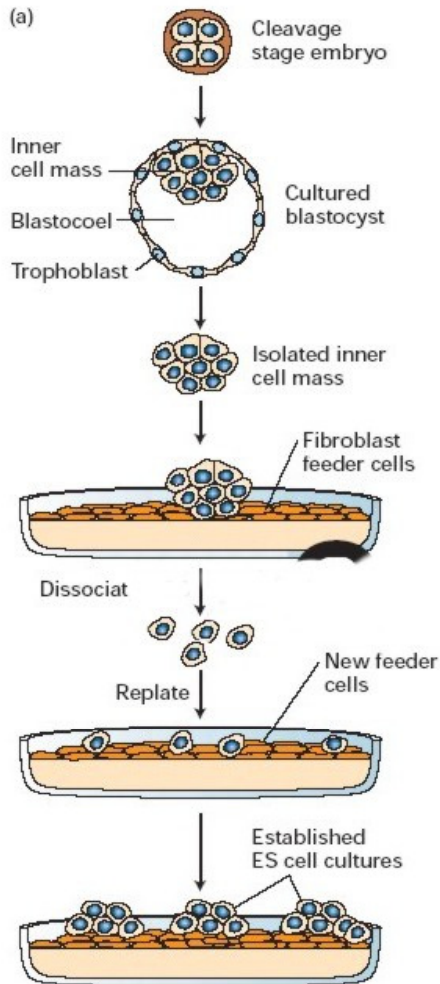
VÉLETLEN BEÉPÜLÉS!  
TÖBB KÓPIA is lehet!

A bizonyítottan transzgenikus utódokat tovább tenyésztjük, keresztezzük a kísérletek céljának megfelelően.

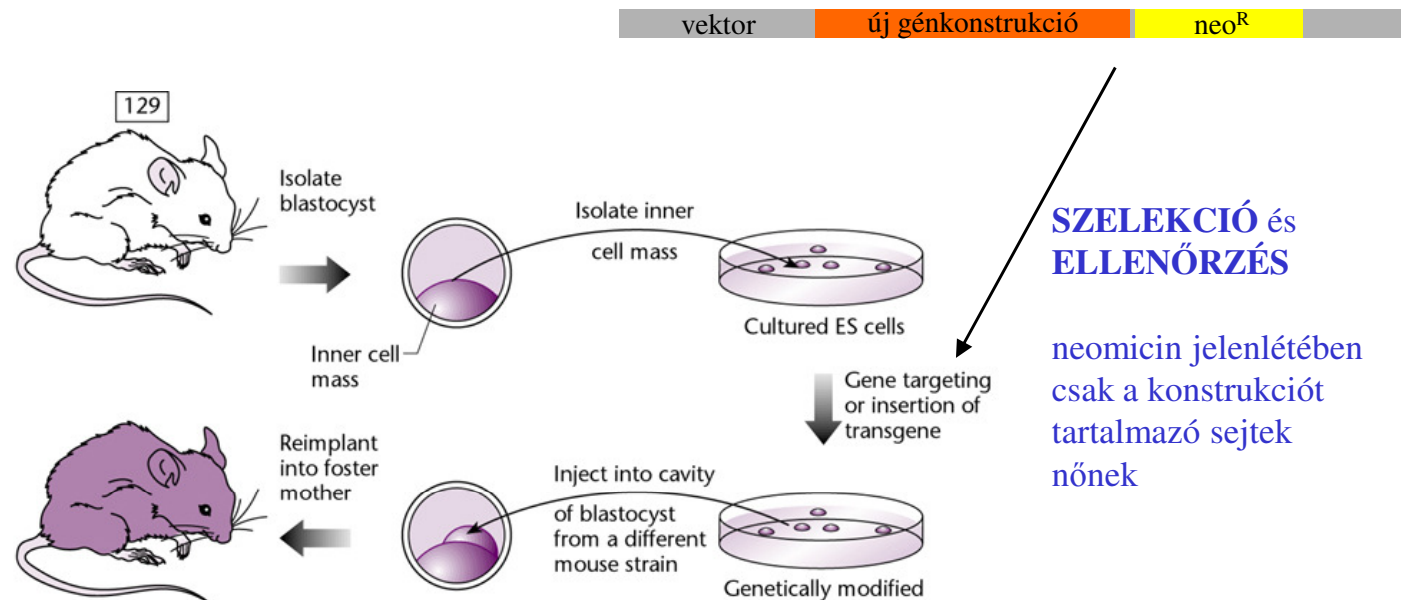
A transzgén jelenlétének bizonyítása: PCR vagy hibridizáció segítségével. Ha egérben jelen lévő szekvenciát (is) tartalmaz a konstrukció, akkor több fragmentet is kaphatunk. A lacZ vagy GFP szekvencia kimutatása specifikus próbákkal vagy primerekkel egyértelmű eredményt ad (lásd a jobb oldalon).







## B) embrionális sztemsejtek transzfekciója



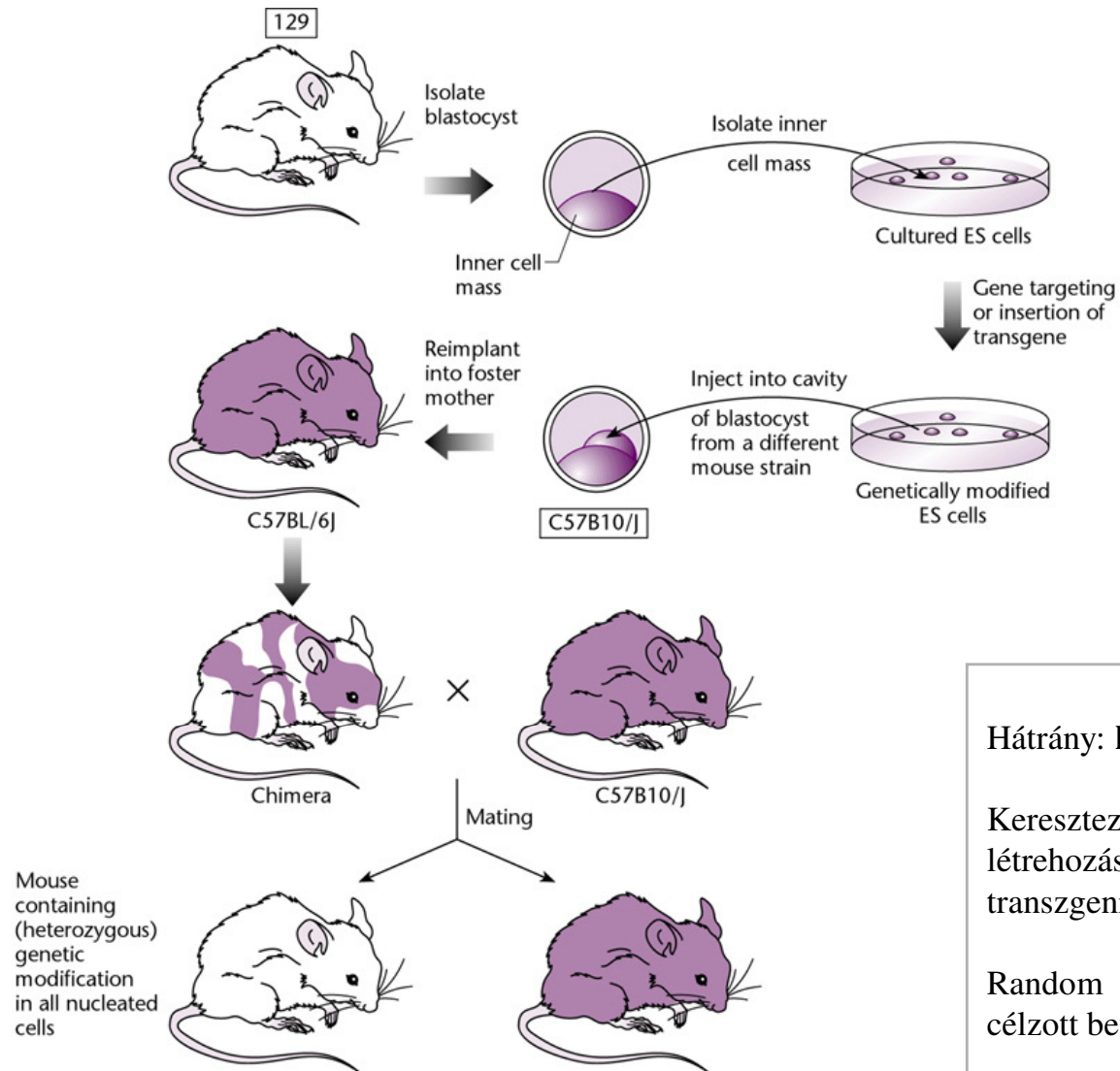
A blasztoosztából embrionális őssejteket (embrionális sztemsejt, ES) izolálnak, amelyek petricsészében tenyészthetők.

A génkonstrukció bejuttatása után ki lehet válogatni (neo) a transzgenikus (transzfektált) sejteket.

Ellenőrizni lehet (PCR, hibridizáció) a DNS-beépülést (példányszám, pozíció).

A transzgenikus ES sejteket bejuttatják blasztoosztába (eltérő szőrszín) → álvemhes anya



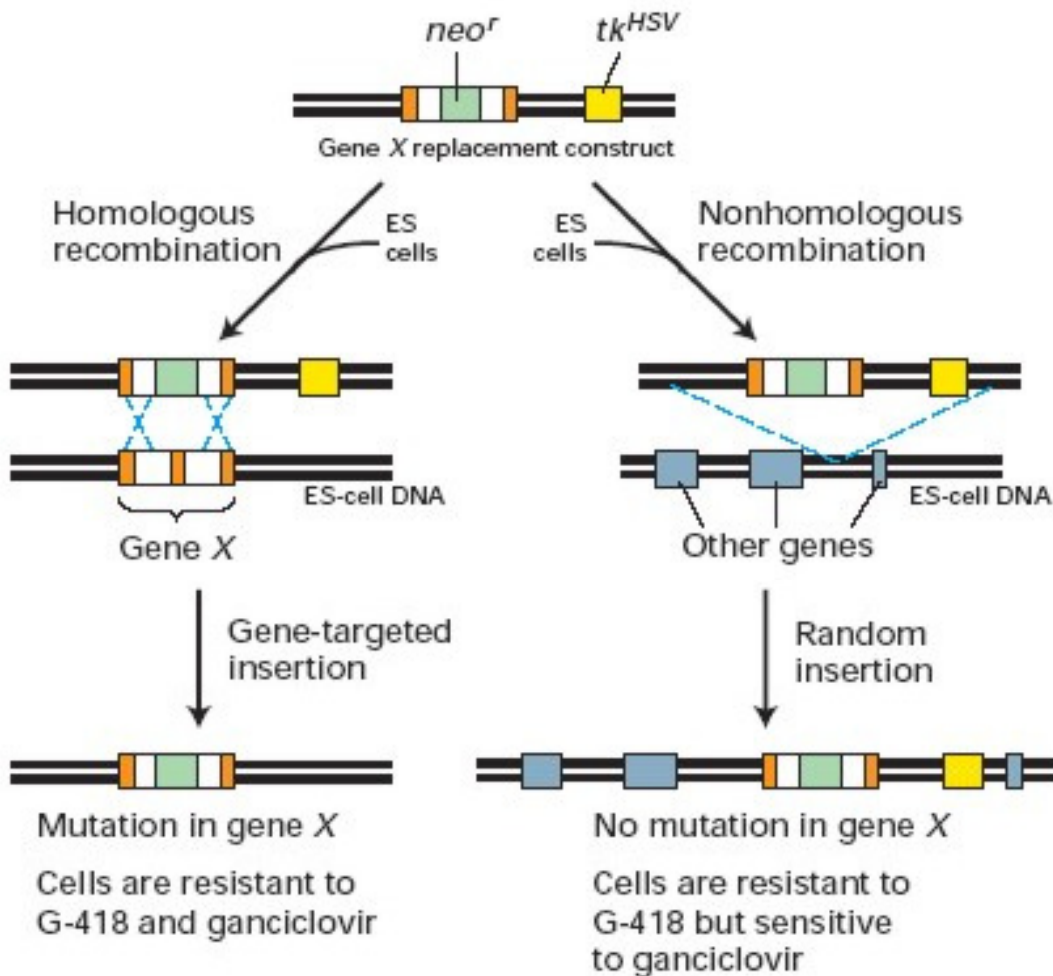


Hátrány: **kiméra** keletkezik

Keresztezés szükséges a teljesen transzgenikus egyed létrehozásához. (lásd később). Ha az ősvarsejtek nem transzgenikusak, nem öröklődik a transzgén!

Random beépülés, több kópia lehet, de van mód a célzott bevitelre is (lásd később)!

(a) Formation of ES cells carrying a knockout mutation



**Génkiütés: a *knock out* technika**

Szelekció a konstrukció beépülésére  
(kanamicin, neo)

Ellenszelekció a véletlenszerűen beépült DNS-t tartalmazó sejtek elpusztítására. A *tk* (timidin kináz) gén érzékenyít a ganciklovir vegyületre (bázisanalóg).

A **homológ rekombinációval** a célgénbe beépült DNS-szakasz nem tartalmazza a *tk* gént. Ritka esemény, de kiválogatható.

1) nincs DNS beépülés:

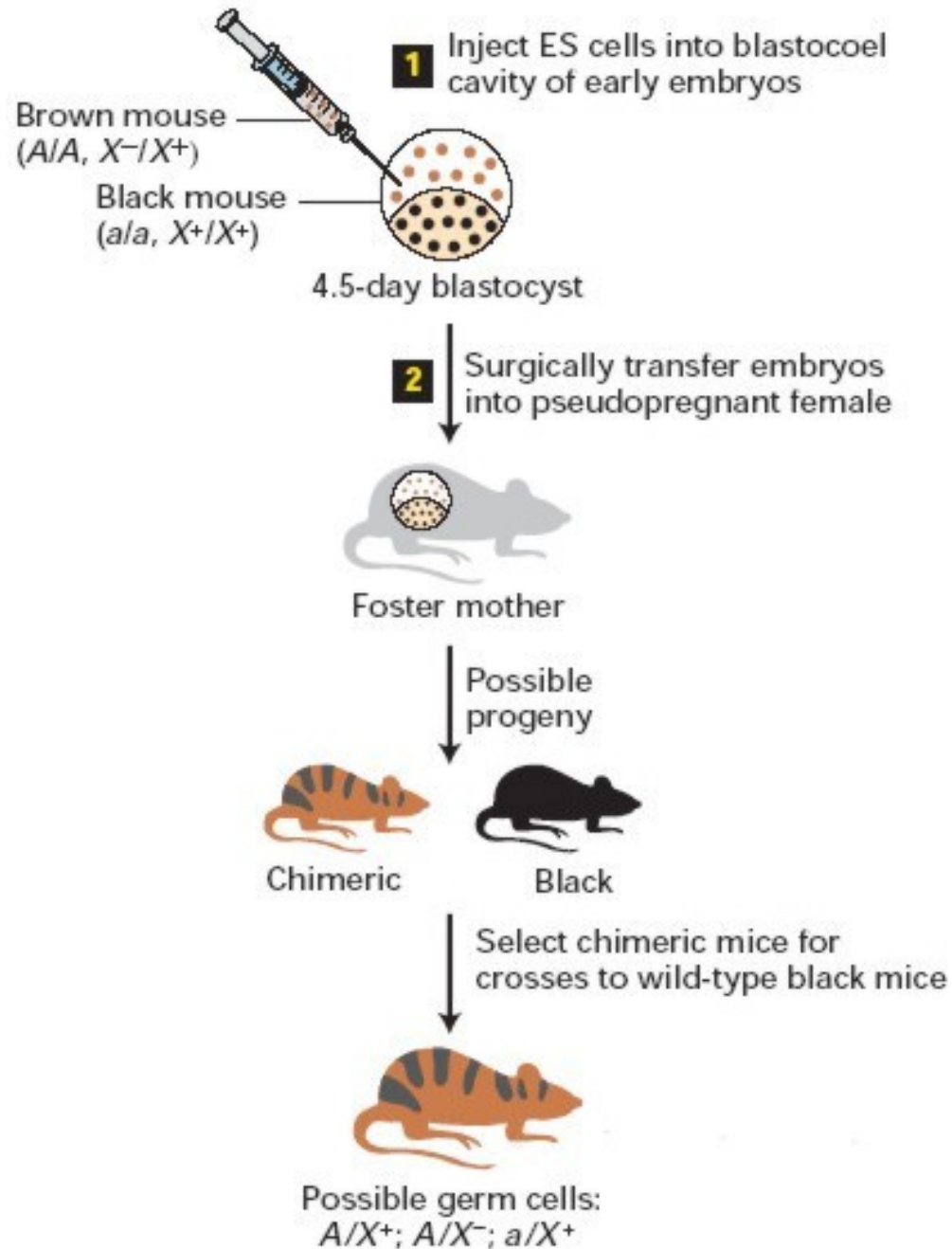
Kan<sup>S</sup>, Gan<sup>R</sup> sejtek

2) random beépül a teljes konstrukció:

Kan<sup>R</sup>, Gan<sup>S</sup> sejtek

3) homológ rekombinációval csak a mutáció (*neo<sup>R</sup>*) épül be az egyik (2n) vad típusú szekvenciába:

Kan<sup>R</sup>, Gan<sup>R</sup> sejtek



Keresztezések a teljes transzgenikus knock out állat előállítására:

Ha a transzfektált KanRGanR ES-sejtek barna szőrű egerből ( $A/A$ ) származnak és ezeket egy fekete szőrű ( $a/a$ ) egerből származó blasztocisztába injektáljuk, akkor látható lesz, hogy melyik utód kiméra.

A kiméra egy példányban hordozza az elrontott gént is ( $X-/X^+$ ). Ha a csírasejtvonal transzgenikus, akkor a következő genotípusú gaméták keletkezhetnek:

$A X^-$  vagy  $A X^+$

HA a csírasejtvonal nem transzgenikus, akkor  $a/X^+$  minden ivarsejt

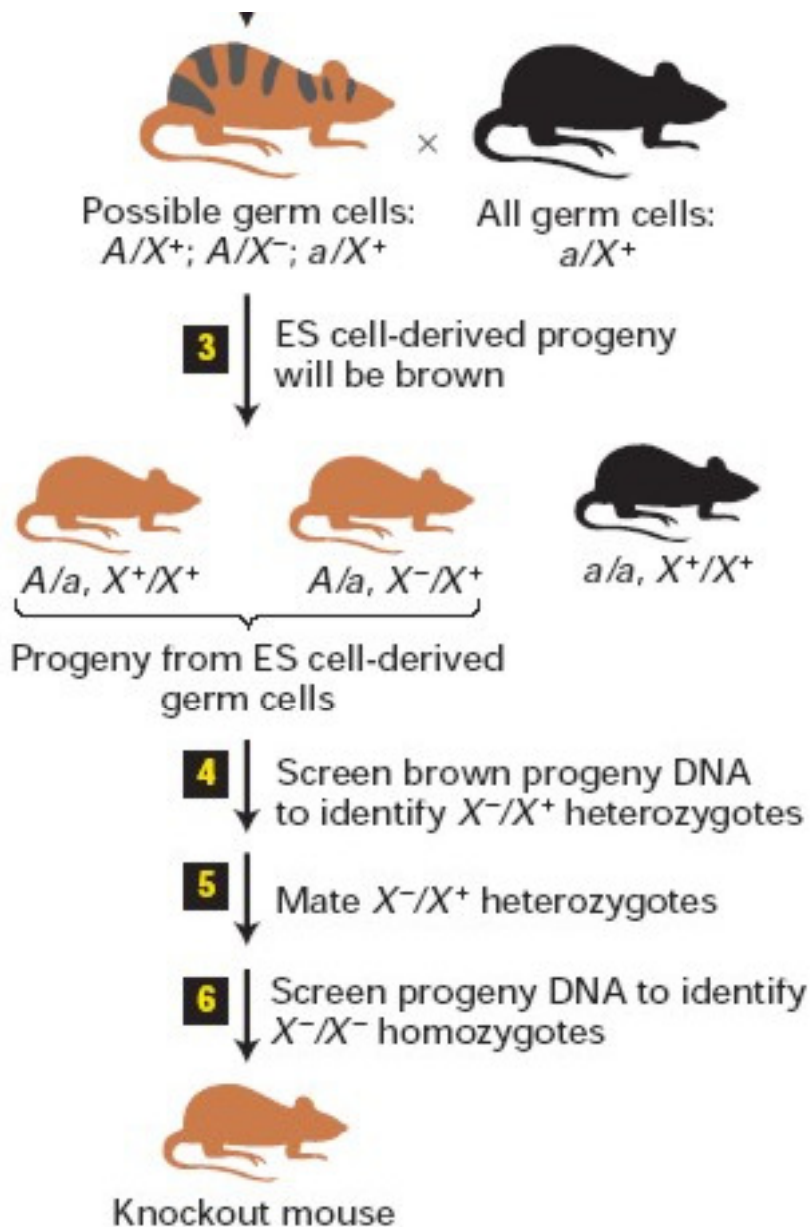
(A fentiek akkor igazak, ha az  $A$  és  $X$  gének nem kapcsoltak, tehát különböző kromoszómán vannak.)

$a/X^+$ ,  $A/X^-$ ,  $A/X^+$  ivarsejtek csak akkor keletkeznek egyszerre, ha a transzfektált sejteket befogadó blasztocisztából származó sejtek is részt vesznek az ősi ivarsejtek kialakításában. Valószínűbb, hogy

1) vagy csak  $A X^-$  és  $A X^+$  ivarsejtek keletkeznek 1:1 arányban

vagy

2)  $a/X^+$  lesz minden ivarsejt



Fekete szőrű ( $a/a$ ) vad típusú  $X^+/X^+$  génekkel rendelkező egerrel keresztezve a kiméra egeret:

$Aa X^+X^-$  és

$Aa X^+X^+$  barna utódok jönnek létre 1:1 arányban (vagy csak feketék, ha nem transzgenikus a csírasejtvonal)

A barna utódok közül PCR segítségével kiválaszthatók a heterozigóta formában mutációt hordozó egyedek ( $Aa X^-X^+$ ).

Az ilyen hímeket és nőstényeket egymás között keresztezve előállíthatjuk a homozigóta *knock out* mutáns egeret.

Apa:  $Aa X^-X^+$  Anya:  $Aa X^-X^+$

(ha az  $A/a$  és az  $X^-/X^+$  gének nem ugyanazon kromoszómán helyezkednek el, akkor ez egy dihibrid keresztezés.)

Várható utódok:

$A\_ / X^+\_$	9
$A\_ / X^-X^-$	3 (homozigóta knock out állatok)
$Aa / X^+\_$	3
$aa / X^-X^-$	1 (homozigóta knock out állatok)

Csak az  $X^+$  és  $X^-$  fenotípus hasadását nézve 3:1 az arány:

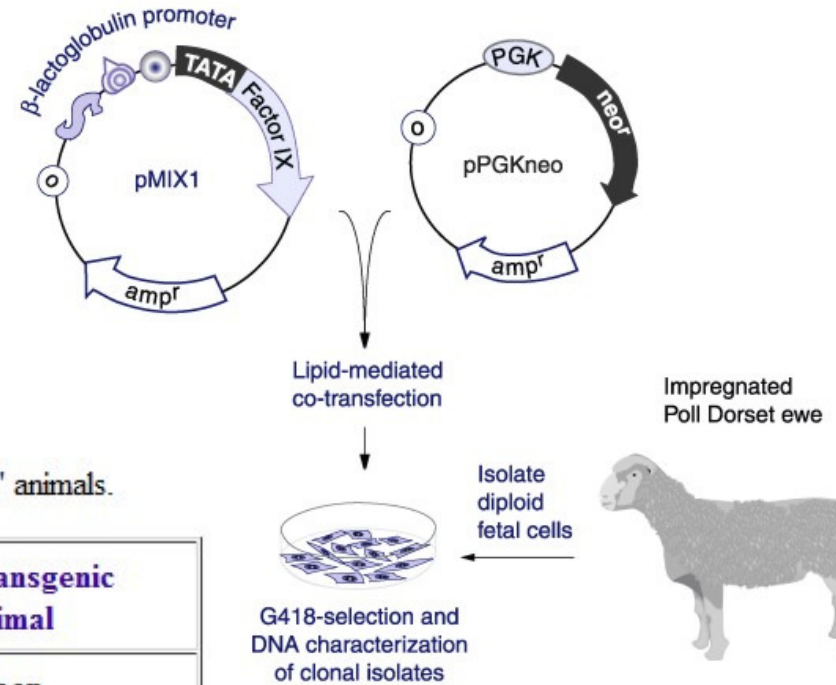
1  $X^+/X^+$  utód : 2  $X^+/X^-$  utód : 1  $X^-/X^-$  (homozigóta mutáns) utód.

Ha ez utóbbi megszületik, akkor a mutáció nem letális. Az utódok genotípusát PCR vagy hibridizáció segítségével ellenőrizhetjük.



## Transzgenikus élőlények és biotechnológia

Példa különböző fehérjék gyógyászati célú termeltetésére. A táblázatban jelzett specifikus promóter (pl. laktoglobulin promóter) után beépített cDNS szekvenciák bejuttatása birka/kecske/marha ES sejtekbe kotranszfekcióval egy NeoR plazmiddal együtt. A KmR sejtek nagy valószínűséggel a másik DNS-szakaszt is tartalmazzák. A létrehozott transzgenikus állat a tejbe kiválasztva „termeli” az adott fehérjét.



Examples of human proteins that have been expressed in the milk of transgenic "pharm" animals.

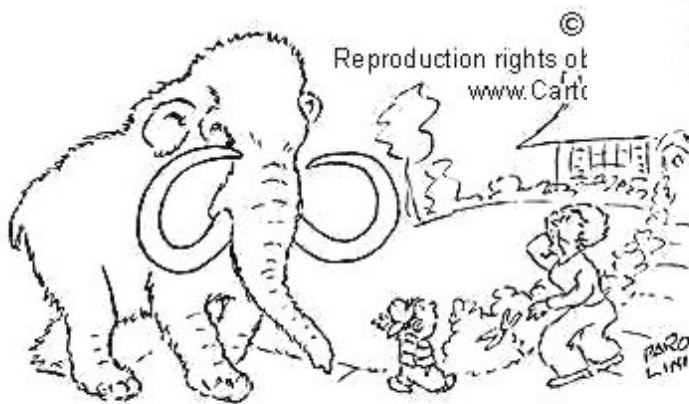
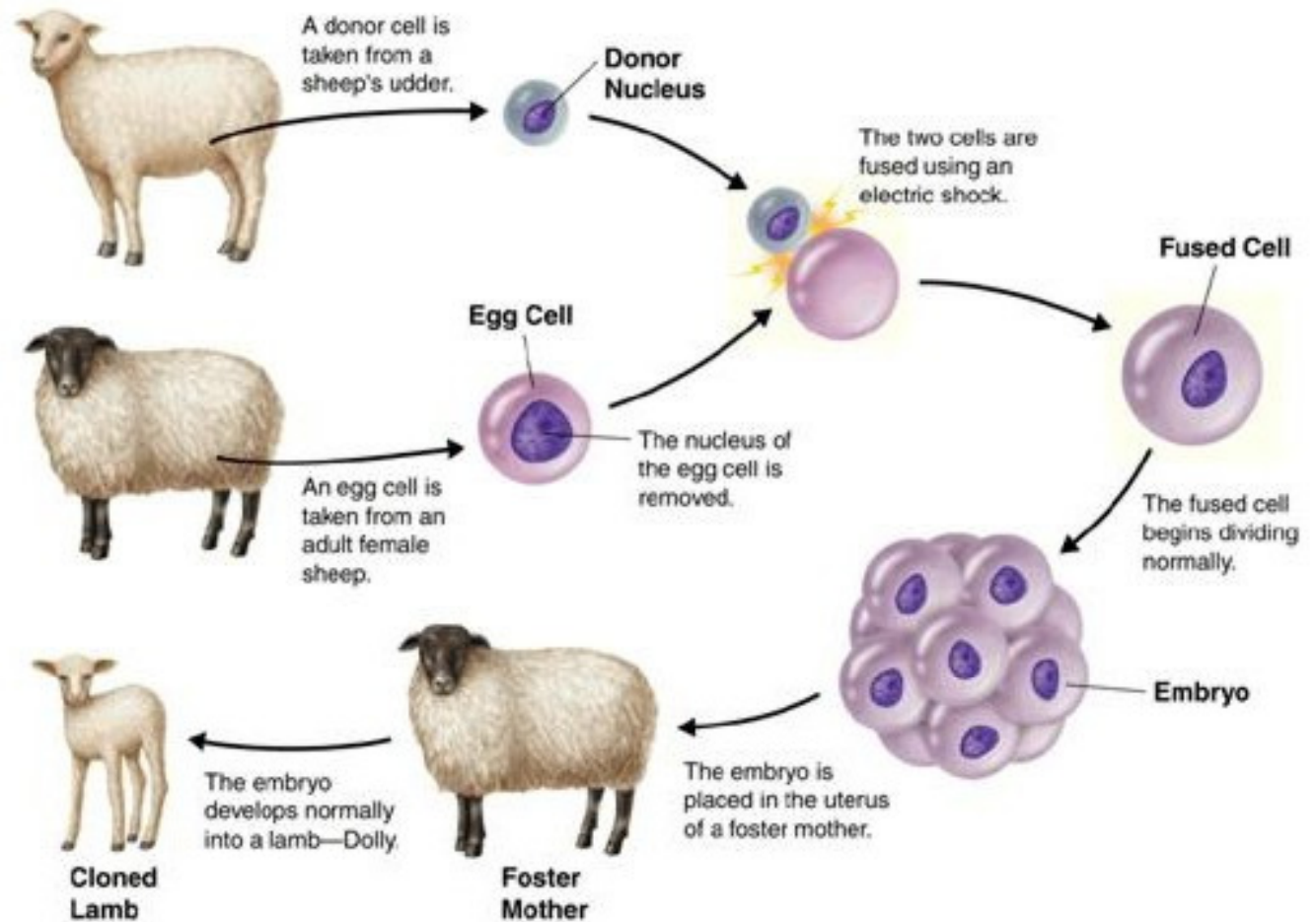
Human gene product	Pharmaceutical use	Mammary gland-specific promoter	Transgenic animal
<b>Factor IX</b>	blood clotting protein, treatment of hemophilia B	sheep b-lactoglobulin	<b>sheep</b>
<b><math>\alpha</math>-1-antitrypsin</b>	protease inhibitor, treatment of emphysema and cystic fibrosis	sheep b-lactoglobulin	<b>sheep</b>
<b>antithrombin III</b>	blood clotting protein, treatment of ATIII deficiency disease and use in open heart surgery	cow casein	<b>goat</b>
<b>tissue plasminogen activator</b>	dissolves blood clots, used as an acute treatment of heart attacks	mouse whey acidic protein	<b>goat</b>
<b>lactoferrin</b>	iron transport protein, infant formula additive	cow $\alpha$ -S-casein	<b>cow</b>
<b>protein C</b>	anticoagulant, treatment of hemophilia and used for surgery	mouse whey acid protein	<b>pig</b>

## Reproduktív klónozás

Egy testi sejtől származó sejtmagot egy magjától megfosztott petesejtbe helyezünk. Az átprogramozott petesejt (2n) osztódni kezd és végbemegey az embriogenezis.

Sokszor genetikailag hibás, beteges utódok keletkeznek (lásd Dolly esetét)

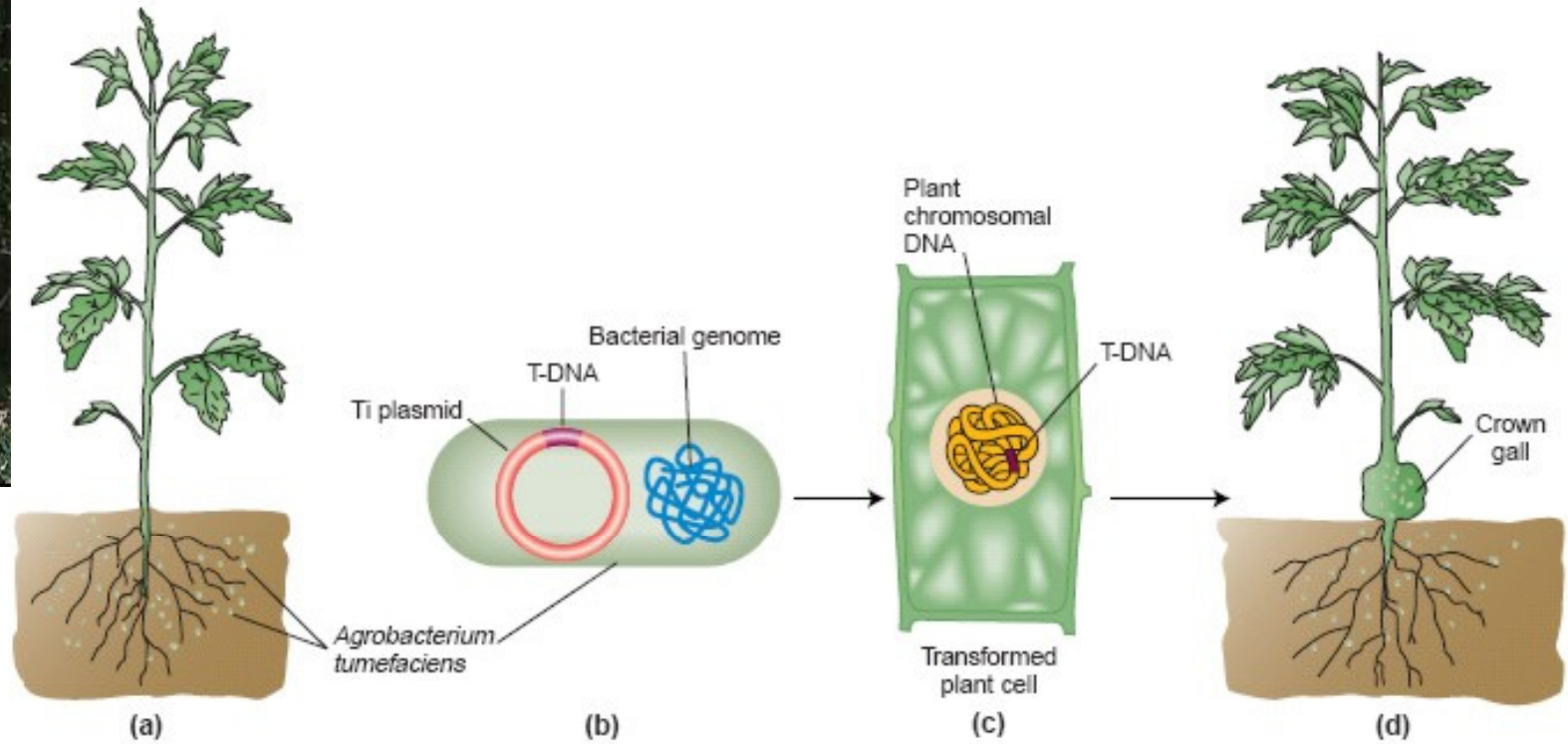
Elvben ugyanaz a genotípusú állat sok példányban előállítható. (Genetikailag nem módosított „csak” klónozott – sok példányban létrehozott. (Mitokondriumok petesejt eredetűek!)



“ HE FOLLOWED ME HOME FROM THE CLONING LAB. CAN I KEEP HIM? ”



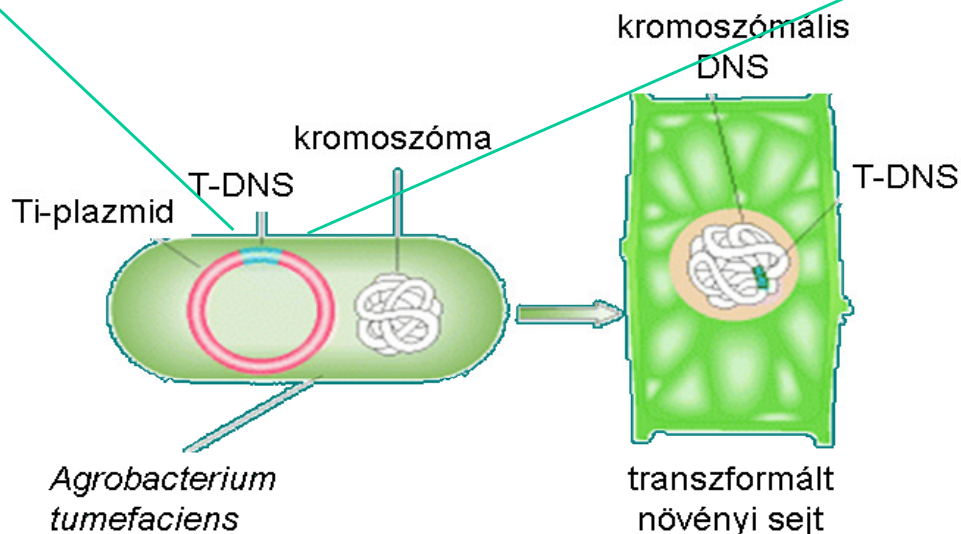
## Transzgenikus növények



*Agrobacterium* fertőzés  
paradicsom növényen

**Figure 11-28 Infection by Ti plasmid.** In the process of causing crown gall disease, the bacterium *Agrobacterium tumefaciens* inserts a part of its Ti plasmid—a region called T-DNA—into a chromosome of the host plant.





**Ti plazmid** 200 kb nagyságú  
*vir* gének, opín metabolizmus gének, T-DNS

**T-DNS** 21-23 kb hosszú  
 LB, RB 25 bp direkt ismétlődések (left border, right border)  
 hormon bioszintézis (*auxin*, *citokinin*),  
*opín bioszintézis* gének

*Rhizobiaceae* család,  
 Gram negatív talajbaktériumok

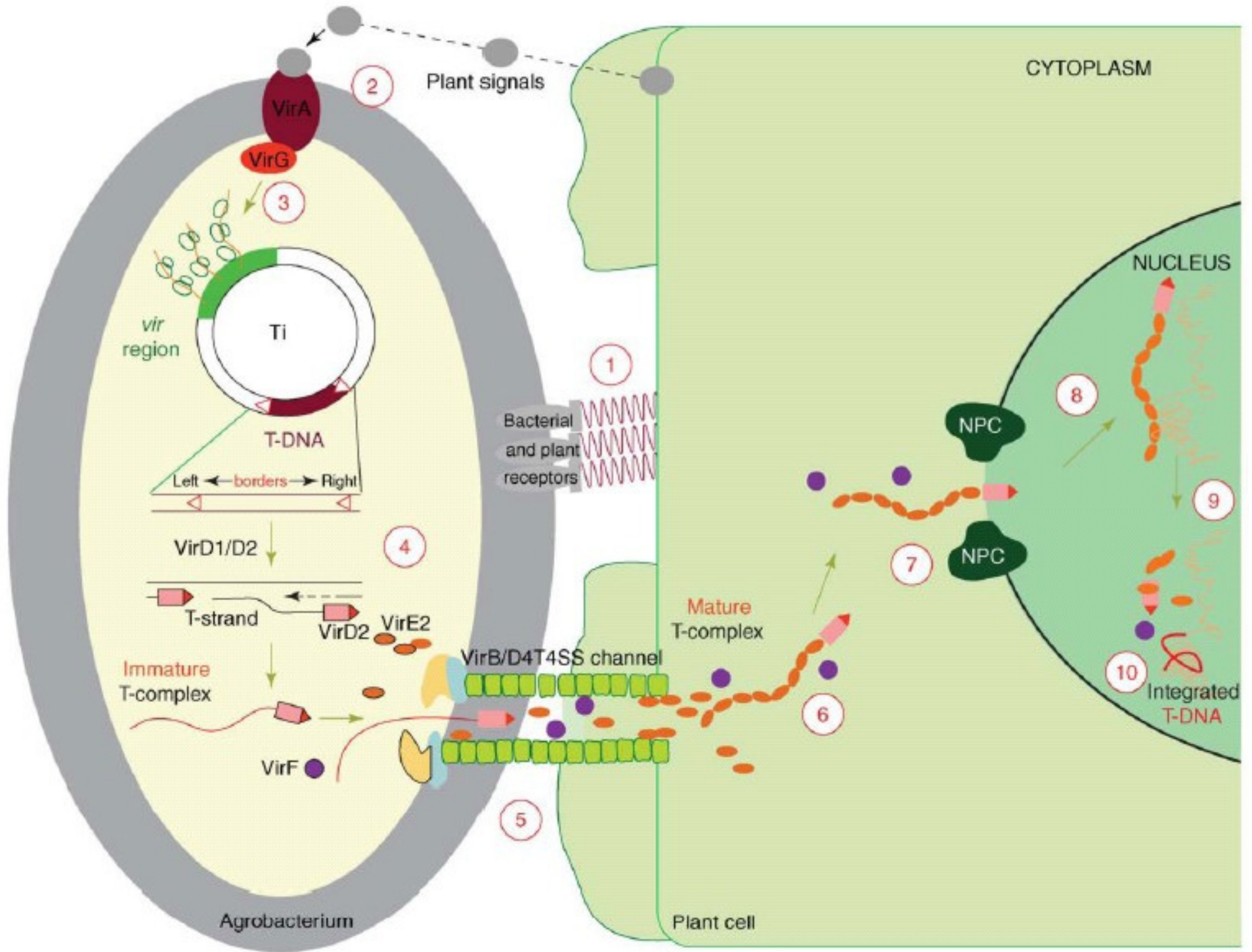
*Agrobacterium tumefaciens* -  
*A. rhizogenes*, *A. vitis* törzsek

kétszikű növényeken - **gyökérgolyva**  
 vagy crown gall tumor

hormonmentes táptalajon lehet a  
 tumorszövetet fenntartani  
 - **auxin és citokinin termelés**

bakteriális DNS a tumorszövet  
 sejtmagjában!  
 -természetes transzformáció  
 (genetikai gyarmatosítás)





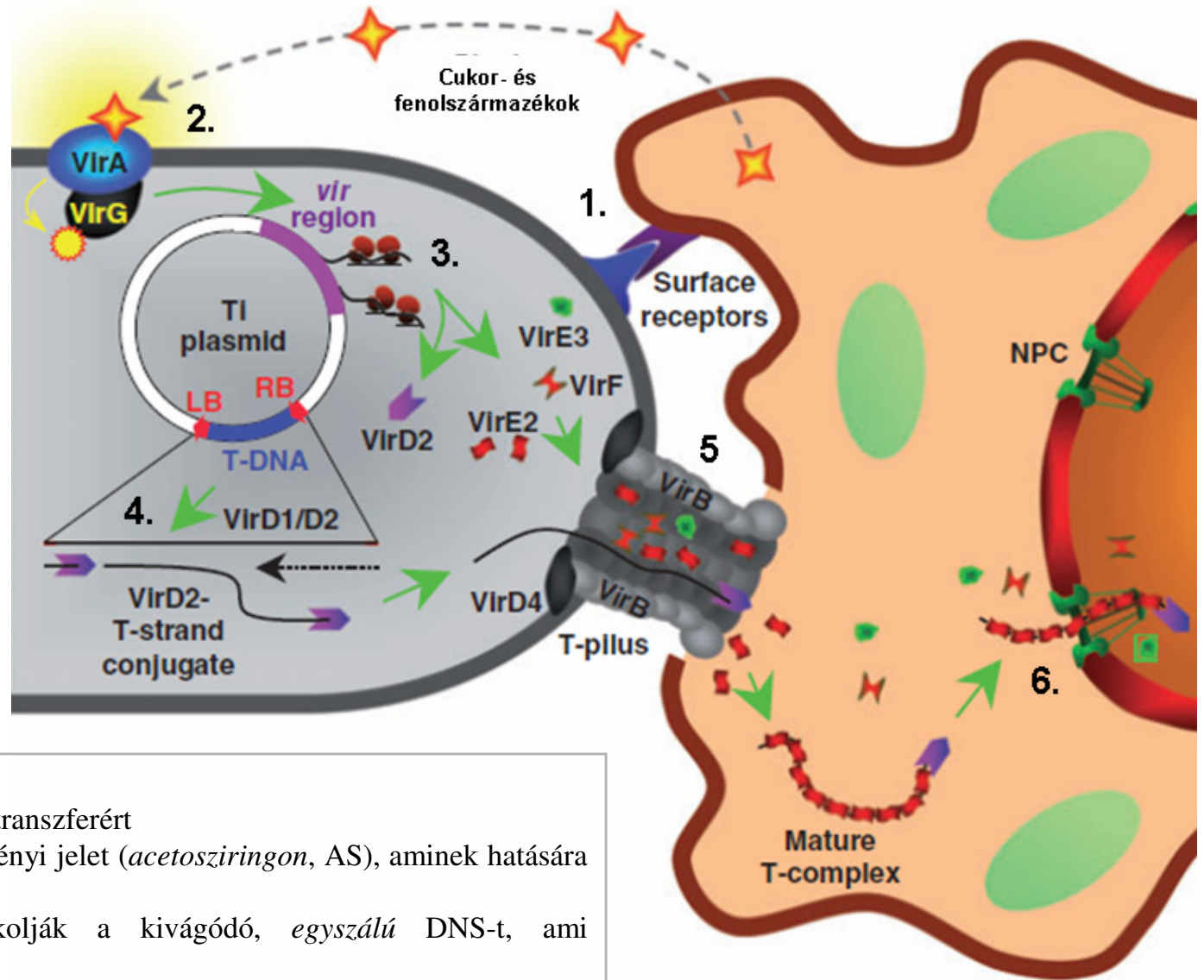
**Opinok:** egy aminosav és egy szerves sav vagy cukor oktopin: Arg+piruvát  
 nopalin: Arg+ketoglutarát

Különleges „tápanyag” a fertőző agrobaktériumnak. Egyedi szén- és N-forrás, más baktérium nem képes hasznosítani!

Genetikai gyarmatosítás.

Termeltetés, az opin bioszintézis gének a T-DNS-en.

Hasznosítás: a lebontási (hasznosítási) gének a Ti plazmidon, de a T-DNS-en kívül helyezkednek el.



### A *vir* gének

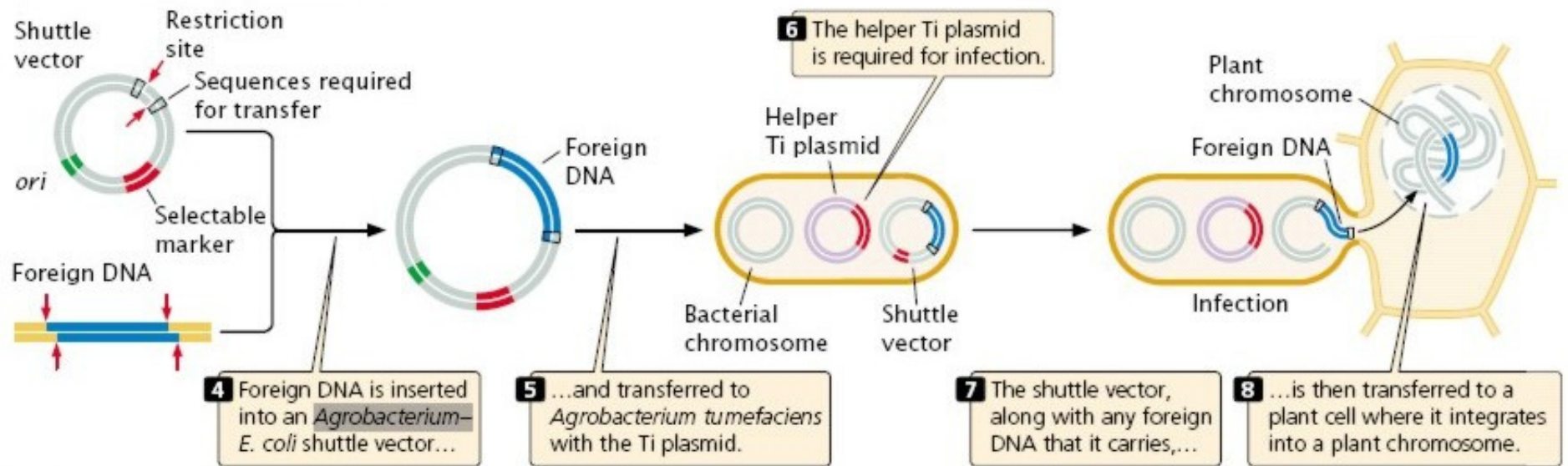
Felelősek a T-DNS kivágásért és transzferért

VirA-VirG fehérjék érzékelik a növényi jelet (*acetosziringon*, AS), aminek hatására átíródnak a *vir* gének

VirD2 és VirE2 fehérjék burkolják a kivágódó, *egyszálú* DNS-t, ami transzportálódik a növényi sejtbe

T4SS (*type 4 secretion system*) konjugációs csatorna

A **VirD2** része egy **NLS** (*nukleáris lokalizációs szignál*) → sejtmagba jut a T-komplex → integráció



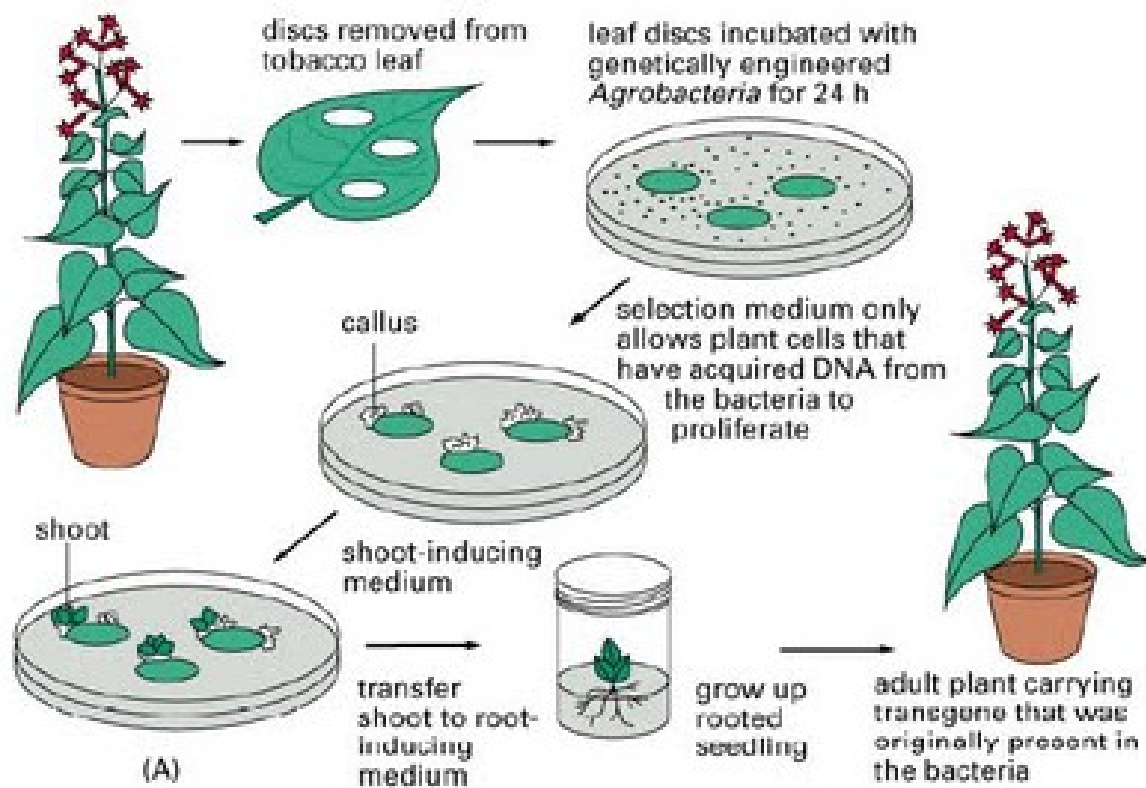
## 18.12 The Ti plasmid can be used to transfer genes into plants.

### Transzformációs vektorok:

a T-DNS „belsejét” eltávolítják, csak a határoló régiók maradnak meg. Az új génkonstrukció beépítése (pl promóter-riporter gén + növényi szelektálható marker, ami lehet KmR gén is). Ekkor a transzformáns növényeket Km segítségével lehet kiválogatni. A T-DNS transzferhez szükséges *vir* gének egy másik plazmidon vannak (helper Ti plazmid).

Transzgenikus növények létrehozásának bevett módja.  
Alaputatási és biotechnológiai célokra egyaránt alkalmazzuk.





Alberts et al. (2002) *Molecular Biology of the Cell* 4/e

**Tenyészett, szomatikus sejtekből regenerálható a növény!**

Dedifferenciálódott szomatikus sejtek, totipotensek.

Megfelelő differenciáltató táptalajon (gyökér, szár, hormonok) regenerálható a teljes növény.

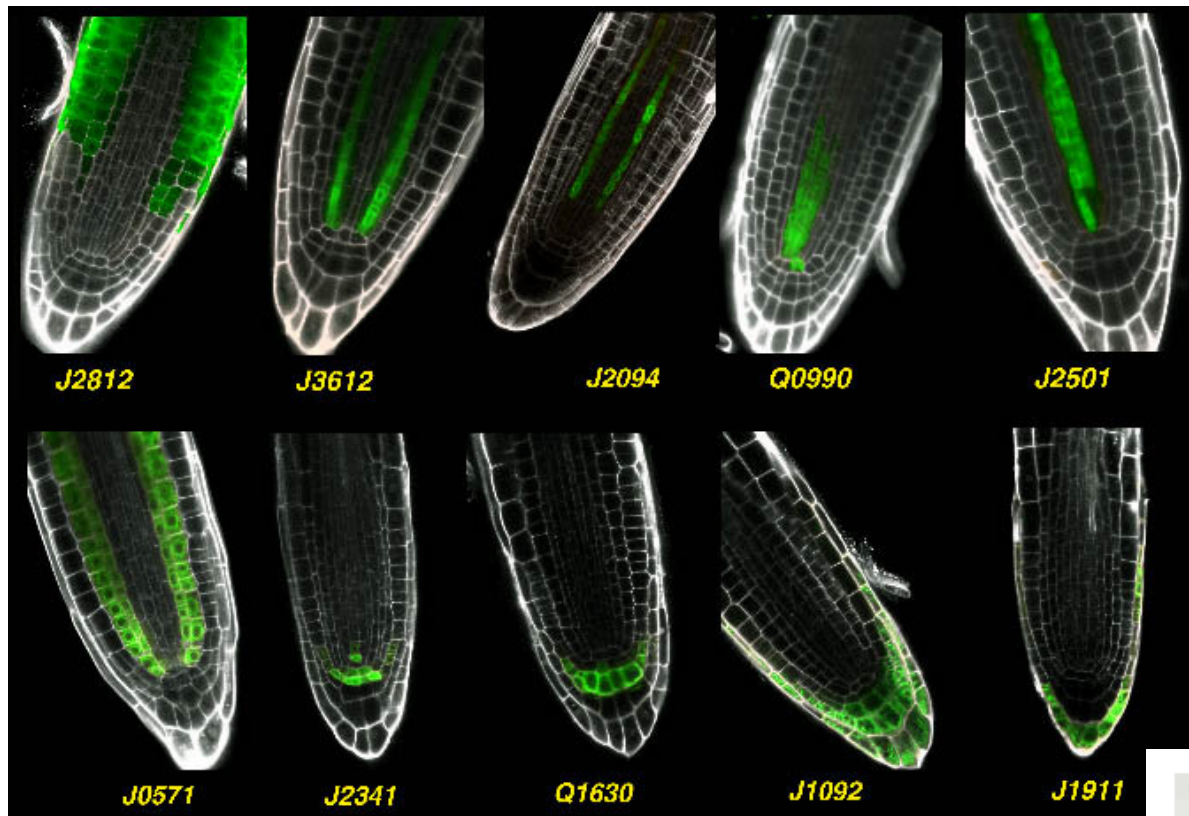
Legegyszerűbb módja a transzformációnak, hogy a virágos növényt a génkonstrukciót tartalmazó *Agrobacterium* szuszpenzióba tesszük (virág bemártása). A kifejlődő magok egy része transzgenikus lesz (pl. Km<sup>R</sup> is). Ezekből a transzgenikus növény felnevelhető.

Dudits-Heszky: [Növényi biotechnológia és géntechnológia Agroinform 2003.](#)

### Levélszövet transzformáció:

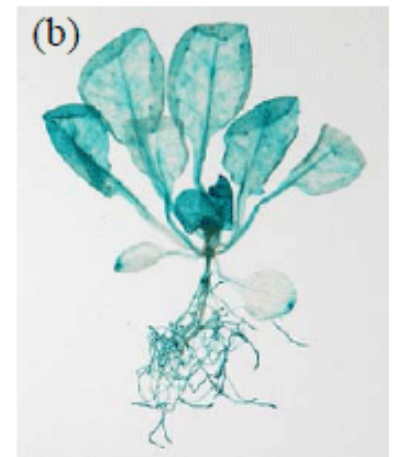
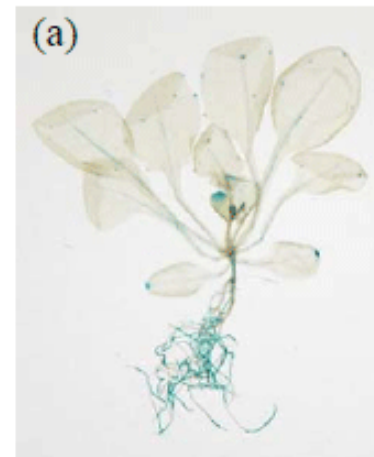
a kivágott korongokat inkubáljuk a megfelelő *Agrobacterium* törzsszel (24h), majd szelekciós (pl Km tartalmú) táptalajon a transzgenikus kallusz növekedését segítjük elő. A szelektált kalluszt hajtás indukáló, majd gyökér indukáló táptalajra helyezük. A regenerált növényt, megerősödése után, kiültetjük, szaporítjuk, keresztezésekben felhasználjuk. (Az egyes lépések több hetet, hónapot vesznek igénybe.)





Példák riportergén fúziókra és a transzgenikus növényben a szövetspecifikus génexpresszió kimutatására.

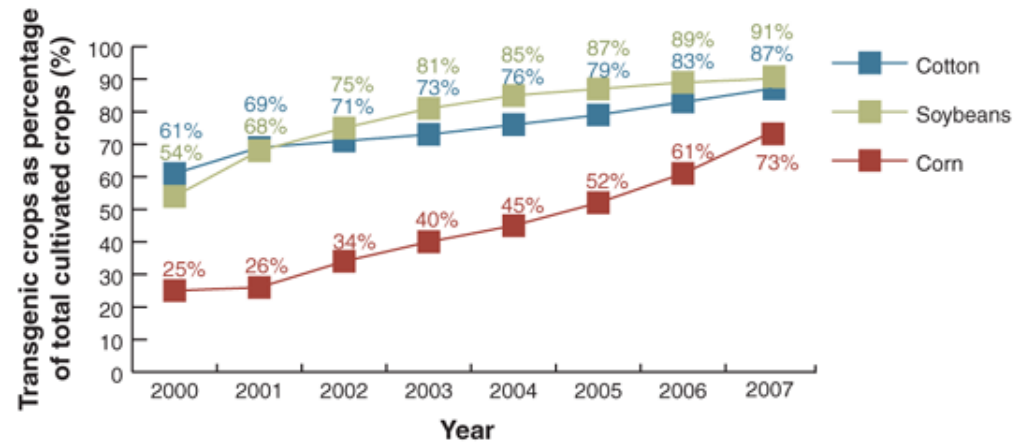
balra GFP , lent GUS riporter gén





**Figure 1.** Detached-leaf feeding assay. Defoliation of nontransgenic controls 'IAS 5' (a) and *gusA* isolate (b), and *cryIAc* transgenic 162 isolate (c) and 438 isolate (d) leaves, 24 hours after infestation with *Anticarsia gemmatilis* larvae.

The vast majority of corn, soybeans and cotton planted in the United States are transgenic varieties.



Transzgenikus mezőgazdasági növények aránya az USA-ban.

### GMO NÖVÉNYEK a mezőgazdaságban

*Bacillus thuringiensis* toxin (BT toxin) génjét vagy más transzgén tartalmazó szója, gyapot, kukorica .... stb növények.

Segíthetik a kártevők elleni védekezést, a termés érését, tartalmának értékesebbé válását. Megfelelő körültekintéssel alkalmazva hasznos módszer új tulajdonságokkal rendelkező GMO növények és állatok előállítására.

Venetianer Pál: A DNS szép új világa. Kulturtrade Kiadó 1998., Budapest  
 Venetianer Pál: Génmódosított növények. Mire jók? Typotex 2010., Budapest

### Új alkotmány: XX. cikk

- (1) Mindenkinek joga van a testi és lelki egészséghez.
- (2) Az (1) bekezdés szerinti jog [érvényesülését Magyarország genetikailag módosított élőlényektől mentes mezőgazdasággal](#), az egészséges élelmiszerekhez és az ivóvízhez való hozzáférés biztosításával, a munkavédelem és az egészségügyi ellátás megszervezésével, a sportolás és a rendszeres testedzés támogatásával, valamint a környezet védelmének biztosításával segíti elő.  
 ????



GMO mezőgazdaság a világban:

<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/43/executivesummary/default.asp>

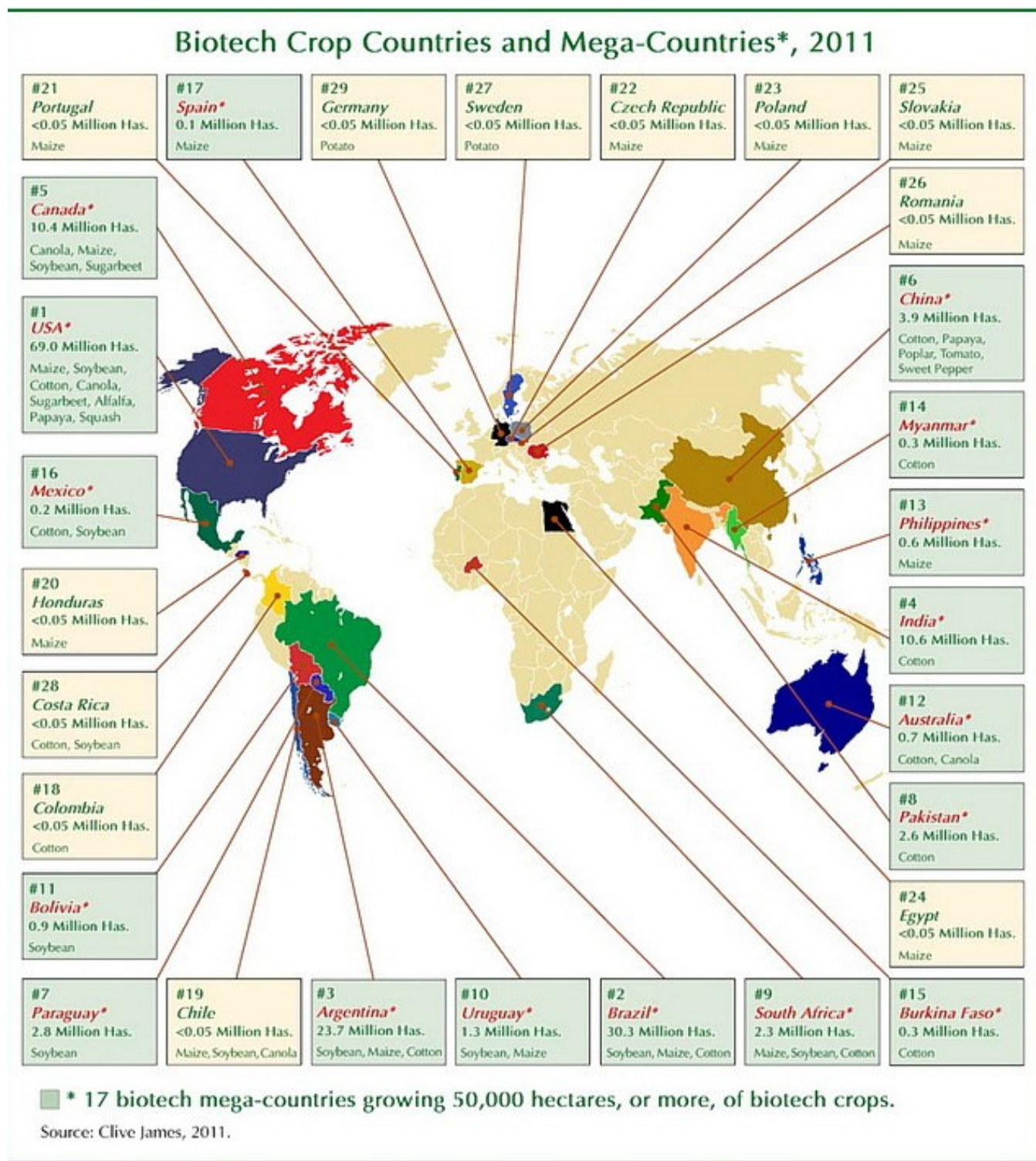


Figure 1. Global Map of Biotech Crop Countries and Mega-Countries in 2011



# TRANSGENIC FARMING



## GMO humor



GMO banán és alma

