

NÖVÉNYNEMESÍTÉS

Az Agrármérnöki MSc szak tananyagfejlesztése
TÁMOP-4.1.2-08/1/A-2009-0010



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Előadás áttekintése

GM növények

Promóterek

Transzgén

Rekombináns DNS technológia

Marker gének

Transzformációs módszerek

Transzformáció céljai

A termés 30-40 %-a elvész a termesztés, szállítás és tárolás során.

Herbicideket, peszticideket és fungicideket használnak védekezésre.

Ezek a vegyszerek nem specifikusak, szennyezik a környezetet (talajt, vizet), és károsak az egészségre.

Egy szervezet génállományát fel tudjuk térképezni.

Génszekvenciákat tudunk egyik élőlényből átvinni egy másikba, vagy mesterséges szekvenciákat juttatni bármely genomba. Ezt a technikát REKOMBINÁNS DNS-TECHNOLÓGIÁNAK nevezik.

Géntechnológia

- 1. Meghatározott tulajdonságokért felelős gének izolálása, jellemzése, felszaporítása (klónozása).**
- 2. Gazdasági szempontból fontos tulajdonságokat hordozó gén vektorba építése, a vektor segítségével a gén átvitele a recipiens sejtbe (géntranszformáció).**
- 3. A genetikailag módosított sejtekből az intakt növények (transzgenikus növény) előállítása, regenerációja.**
- 4. A transzgén beépülésének, kifejeződésének (génexpresszió) és örökölhetőségének vizsgálata.**

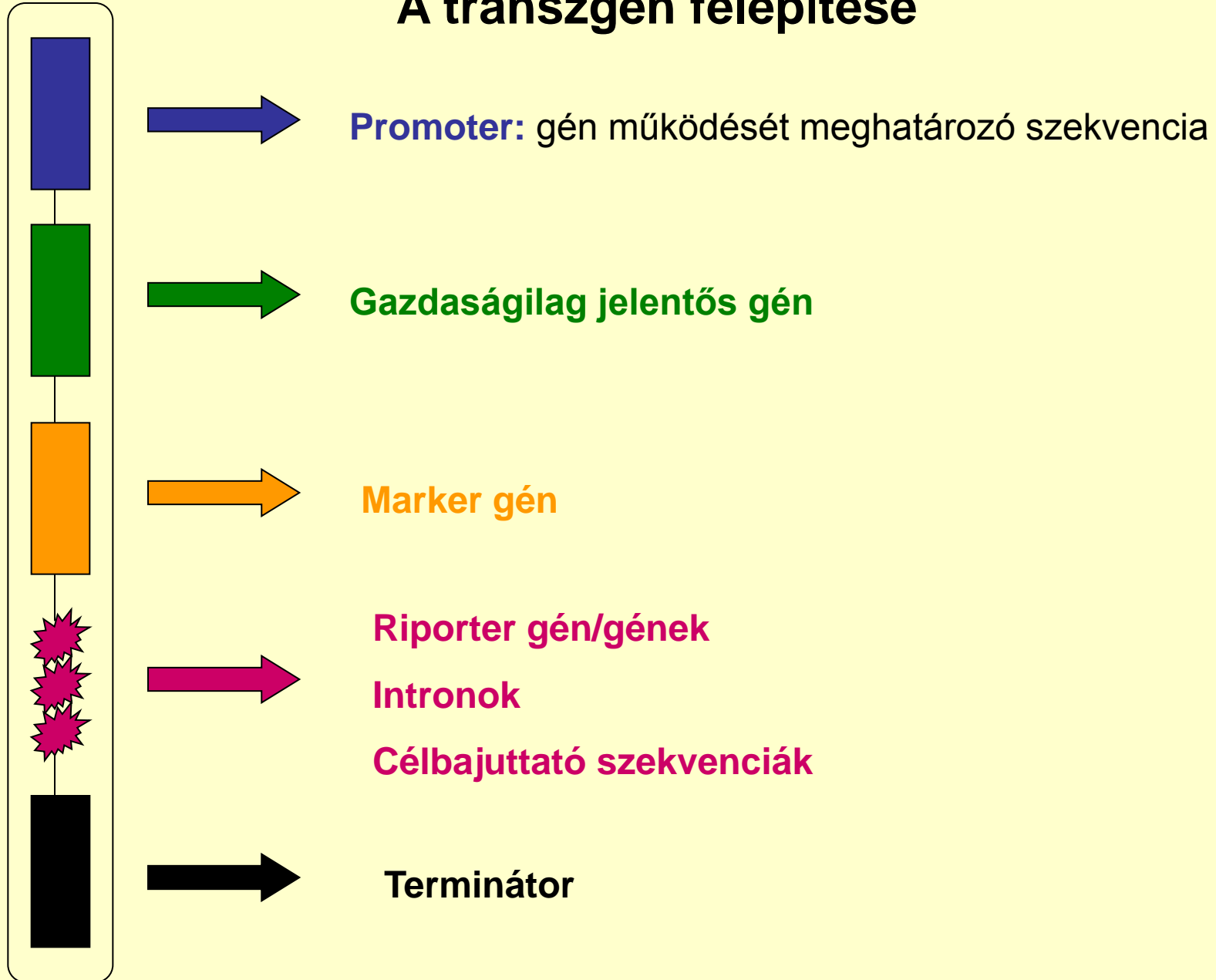
Genetikai transzformáció részletei

- ✿ **jó regenerálódó fajta alapanyag kiválasztása**
- ✿ **el kell dönteni a génbejuttatás módszerét**
- ✿ **sikeres beépülés bizonyítása**
(riporter, marker génekkel)

GM-növényfajta előállítás

- 1. Gén izolálás**
- 2. Transzformációs vektorba építés**
- 3. Géntranszfer**
- 4. Transzformáns sejtek szelekciója**
- 5. Transzgénikus növényregenerálás**
- 6. Transzgénikus növények laboratóriumi vizsgálata**
- 7. Transzgénikus növények szántóföldi tesztelése**
- 8. Transzgénikus növények minősítése**
- 9. Élelmiszerek forgalmazása**

A transzsgén felépítése



Génmódosított növények előállítása

A transzgén új gazdaszervezetbe juttatásához szükség van a több DNS-t tartalmazó vektorra/konstruktra és a génátvitelhez szükséges plazmidra.

Ez ún. parazita elemeket tartalmaz (olyanokat, amelyek képesek a sejt védőrendszerét áttörni):

- promótert**
- transzgént**
- transzkripciót lezáró terminátor szekvenciát**
- szelekciós és riporter gén(eke)t**

A PROMÓTER FELADATA

az utána következő géneket átírható állapotban, azaz „bekapcsolva” tartsa a sejtben

A promóterek fajtái

- ❖ **Általános promóter**
- ❖ **Specifikus promóter**

Általános promóter

A növény minden sejtjében ugyanaz a genetikai információ található.

Az általános promóterek azok, amelyek a géneket minden sejtben és folyamatosan bekapcsolva tartják.

Specifikus promóter

A különféle sejtek feladata különböző.

Az egyes sejtek működéséhez szükséges géneket sejt-specifikus promóterek működtetik.

A sejt élete során nem mindig ugyanazon géneket használja. Bizonyos fejlődési szakaszokra jellemző géneket is a specifikus promóterek működtetik

LEGGYAKRABBAN HASZNÁLT PROMÓTEREK

karfiolmozaik vírus 35S *promóterét*

kukorica ubiquiton promóterét

Ezek 7/24 promóterek, azaz a géneket napi 24 órán át, heti 7 nap bekapcsolva tartják, azaz a génterméket minden egyes sejtben folyamatosan termelik.

A TRANSZGÉN

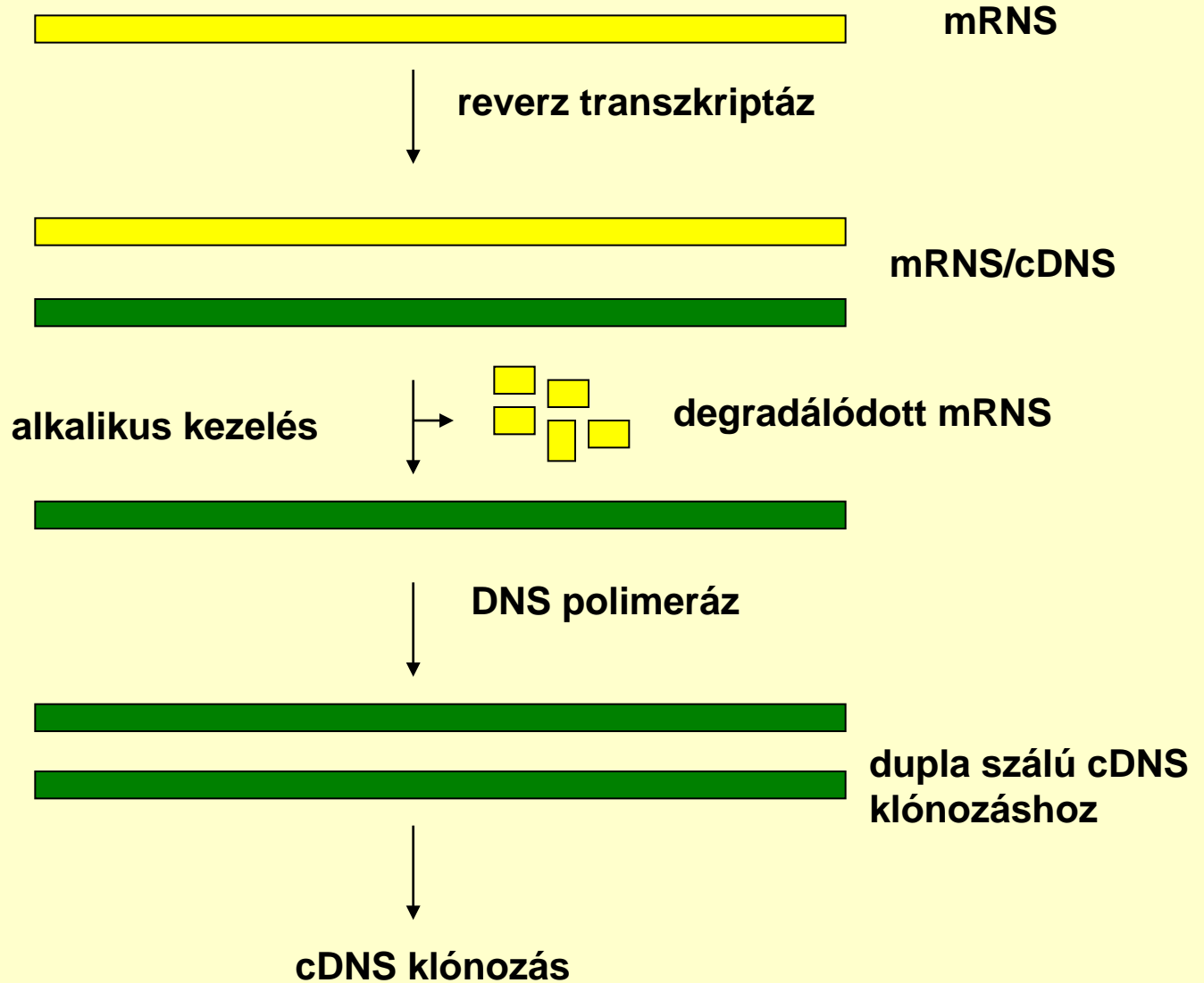
Az eukarióták génjei nem folyamatosak, exonokból és intronokból állnak.

A transzkripció során az RNS polimerázok (I és II) a teljes gén átírásra kerül a prekursor RNS-be, de onnan a mRNS-be általában csak az exonok kerülnek át.

A TRANZGÉNSZINTÉZIS LÉPÉSEI

- **A transzgén „mRNS” szintézise**
- **mRNS kettősszálú cDNS-sé alakítása
(reverz transzkripció)**

Rekombináns DNS technológia



A MARKER GÉNEK

A MARKER/RIPORTER GÉN

Az átalakított sejtek megkülönböztetése az át nem alakítottaktól.

Leggyakrabban használt gének:

- **Antibiotikum-rezisztenciát kódolók**
- **Herbucid-rezisztenciát kódolók**
- **Fluoreszkáló anyagot kódolnak**
 - **luciferáz**
 - **béta-glükuronidáz**
 - **béta-galaktozidáz**

A MARKER/RIPORTER GÉN

- **Antibiotikum-rezisztenciát kódoló gének:**
 - NPT – kanamicin és neomicin
 - Bla – ampicillin, penicillin
 - Dhfr – metotrexát
 - Aph IV – higromicin
 - CAT - kloramfenikol

Transzgénikus növényről és genetikai transzformációról csak abban az esetben beszélhetünk, ha a bevitt idegen gén stabilan integrálódott a növények genomjába.

Géntranszfer alatt azt a folyamatot értjük, aminek során egy meghatározott DNS molekuladarab (egy vagy több gén) bejutatásra kerül a protoplasztba vagy növényi sejtbe.

Transzformációs módszerek

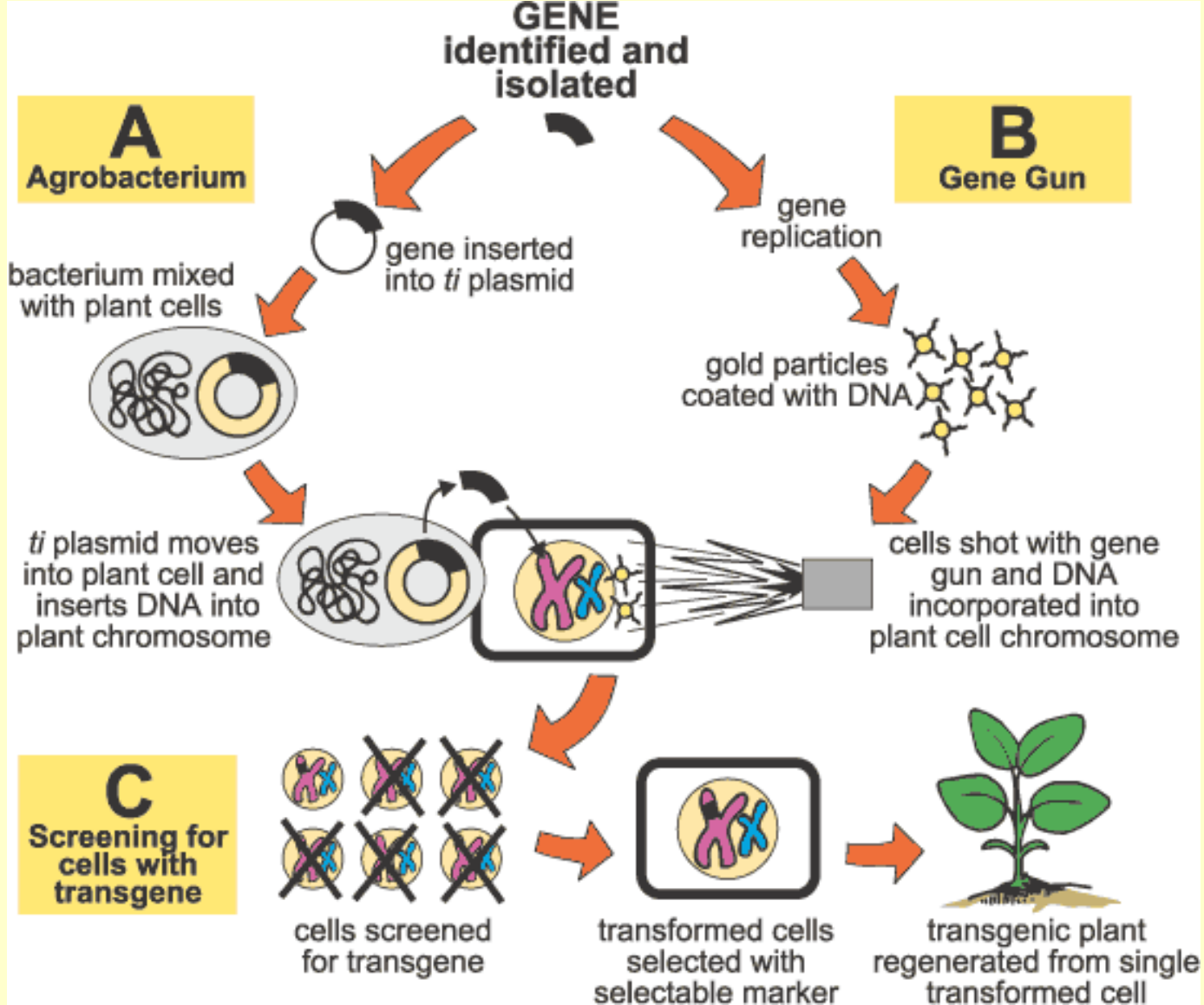
Közvetett (indirekt) transzformáció

közvetítő vagy közbülső organizmus segítségével történik a DNS bejuttatása

Közvetlen (direkt) transzformáció

közvetlenül juttatjuk be a DNS-t a recipiens szervezetbe fizikai kémiai hatás segítségével

Indirekt transzformáció	Direkt transzformáció		
	<i>Protoplaszt transzformáció</i>		<i>Intakt sejt, szövet transzformáció</i>
	kémiai	fizikai	
	PEG	Elektroporáció	Génpuska
Agrobaktérium ssp.	CaCl ₂	Elektrofúzió	Makroinjektálás
Vektorok		Ultrahangos kezelés, szonikáció	Szilikonkarbid kristályos
Virális vektorok		Mikroinjektálás	



Forrás: Michael D. Peel, 2001

NDSU Extension Service

<http://www.ag.ndsu.edu/pubs/plantsci/crops/a1219w.htm>

Agrobacterium tumefaciens

- **Talajlakó baktérium**
- **Növényi kórokozó, kétszikű növény gyökértumor**
- **Tumorképződést Ti plazmid okozza (tumor indukáló)**
- **Ti plazmid része a transzfer-DNS, amely átkerül a növényi sejtbe és integrálódik a magi DNS-be**
- **Egyszerű, kevés anyag és eszköz igény**

GM-növények

- Későn puhuló paradicsom
- Későn érő paradicsom
- Round-Up Ready rendszerek: szója, kukorica: herbicidrezisztencia
- Keményítőben gazdag burgonya
- Vakcinát termelő Gm-banán
- Rizs, amely nem termel allergén faktort
- Színes szálakat termelő gyapot, dohány

Genetikailag módosított növények

Nápoly környékén termesztett San Marzano paradicsomfajta súlyos víruskárosodást (CMV, uborka mozaik vírus) szenvedett. A termőterület 90% megsemmisült. A fertőzést levéltetvek terjesztik.

Genetikai módosítással a paradicsomfajta „immunissá” tették a CMV burokfehérje ellen.

Penszilvániában az őszibarack és nektarin ültetvényeket a szilva himlő vírus (sharka) fertőzés miatt ki kellett irtani. Levéltetű a vektor.

A szilva himlő vírus védetség vírus burok fehérje elleni immunitást eredményező genetikai módosítással kivédhető (Bluebird C-5). A védetség a fertőzött fákon oltvánnyal is megoldható.

A módosításokat nem sikerült bevezetni a termesztésbe!

A GM növények globális vetésterülete, 1996 to 2008: összterület (millió hold / ha)



M hold / ha

346 140

296 120

247 100

198 80

148 60

99 40

49 20

0 0

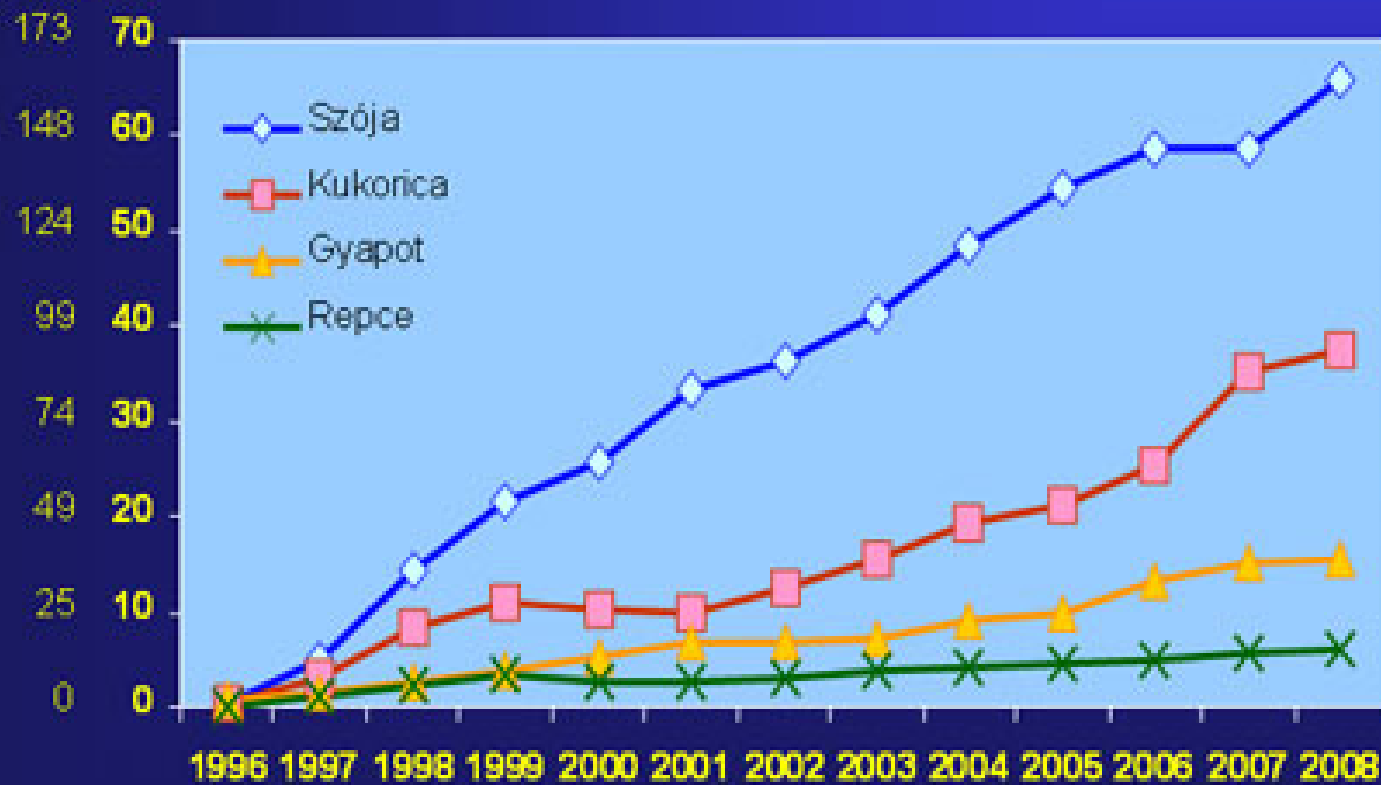


Forrás: Clive James, 2009

A GM növények globális vetésterülete, 1996 to 2008: fő növények



M hold/ha

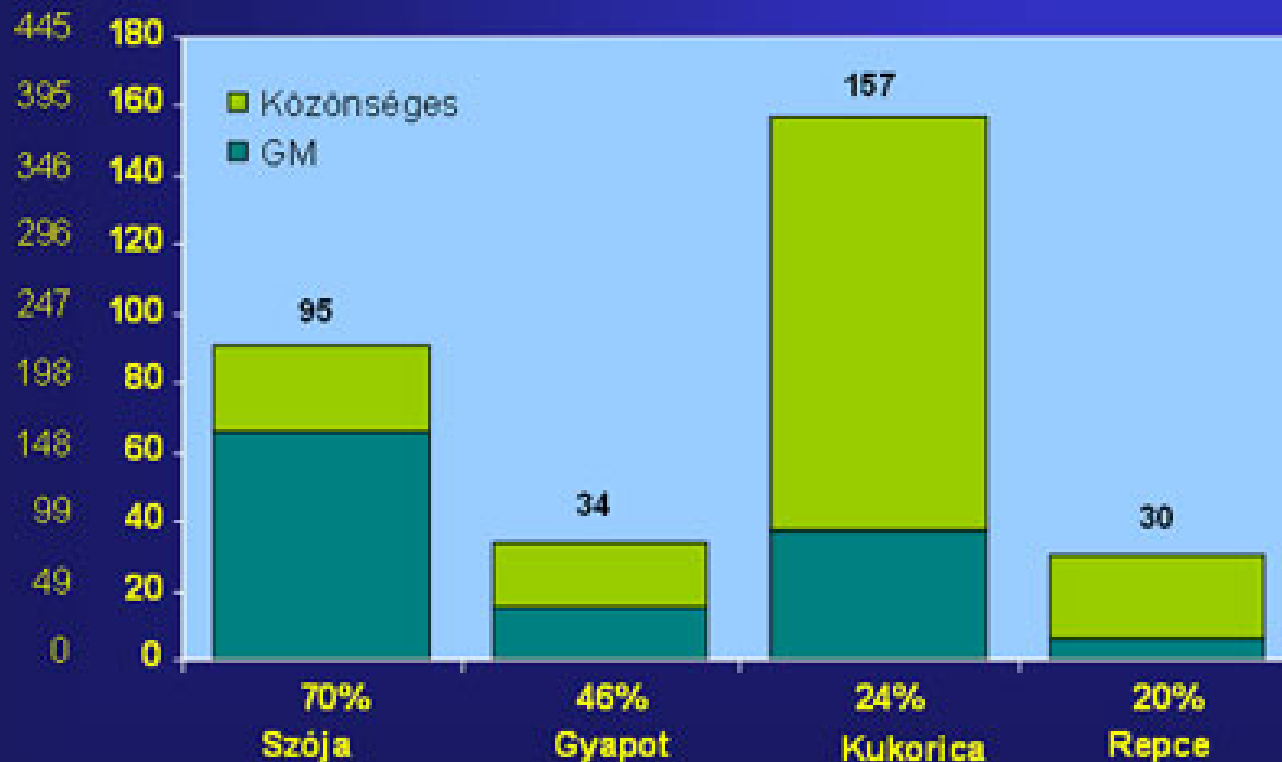


Forrás: Clive James, 2009

A GM fajták részaránya a főbb termesztett növényben 2008-ban

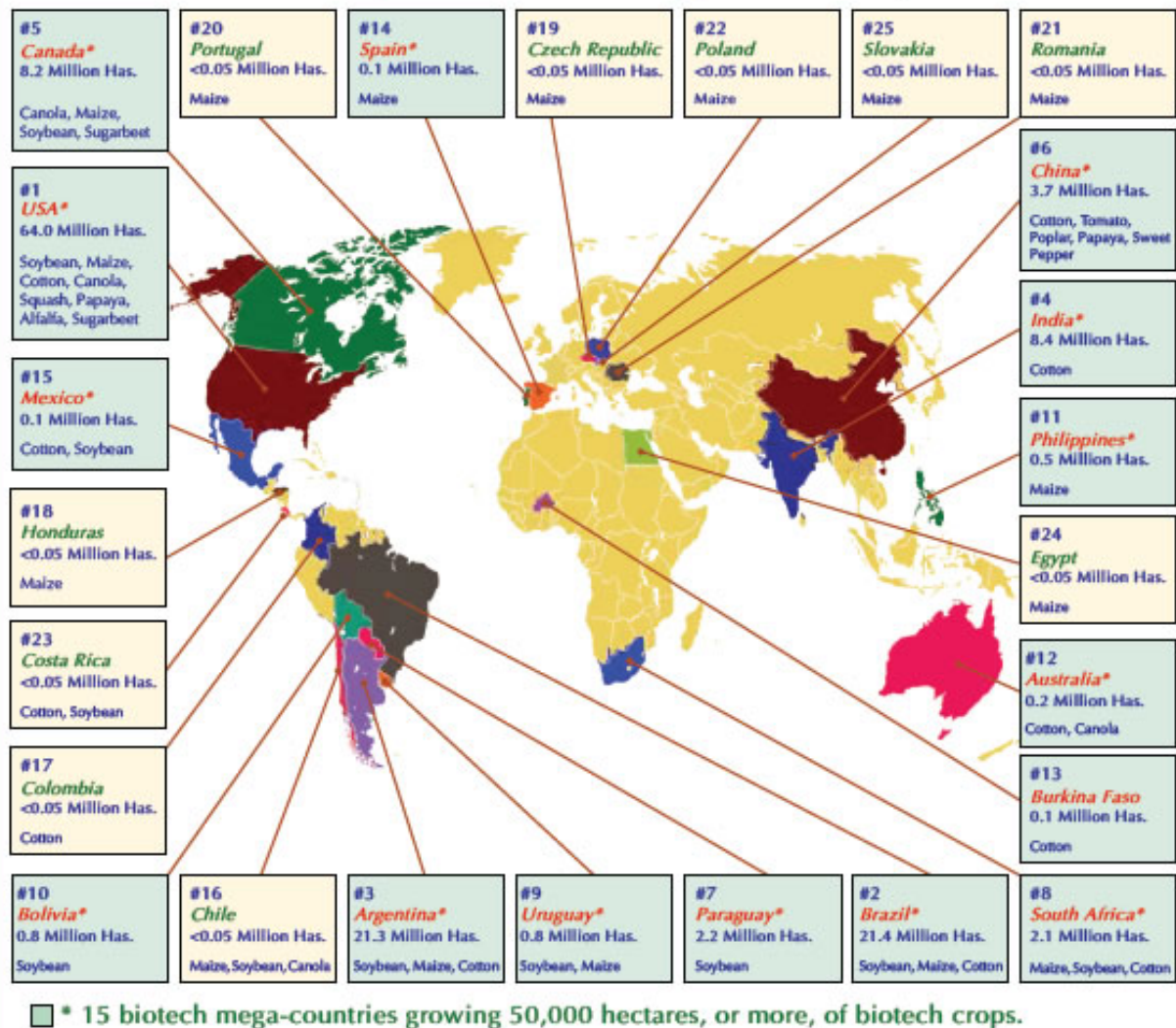


M hold /ha



Forrás: Clive James, 2009

Biotech Crop Countries and Mega-Countries*, 2009

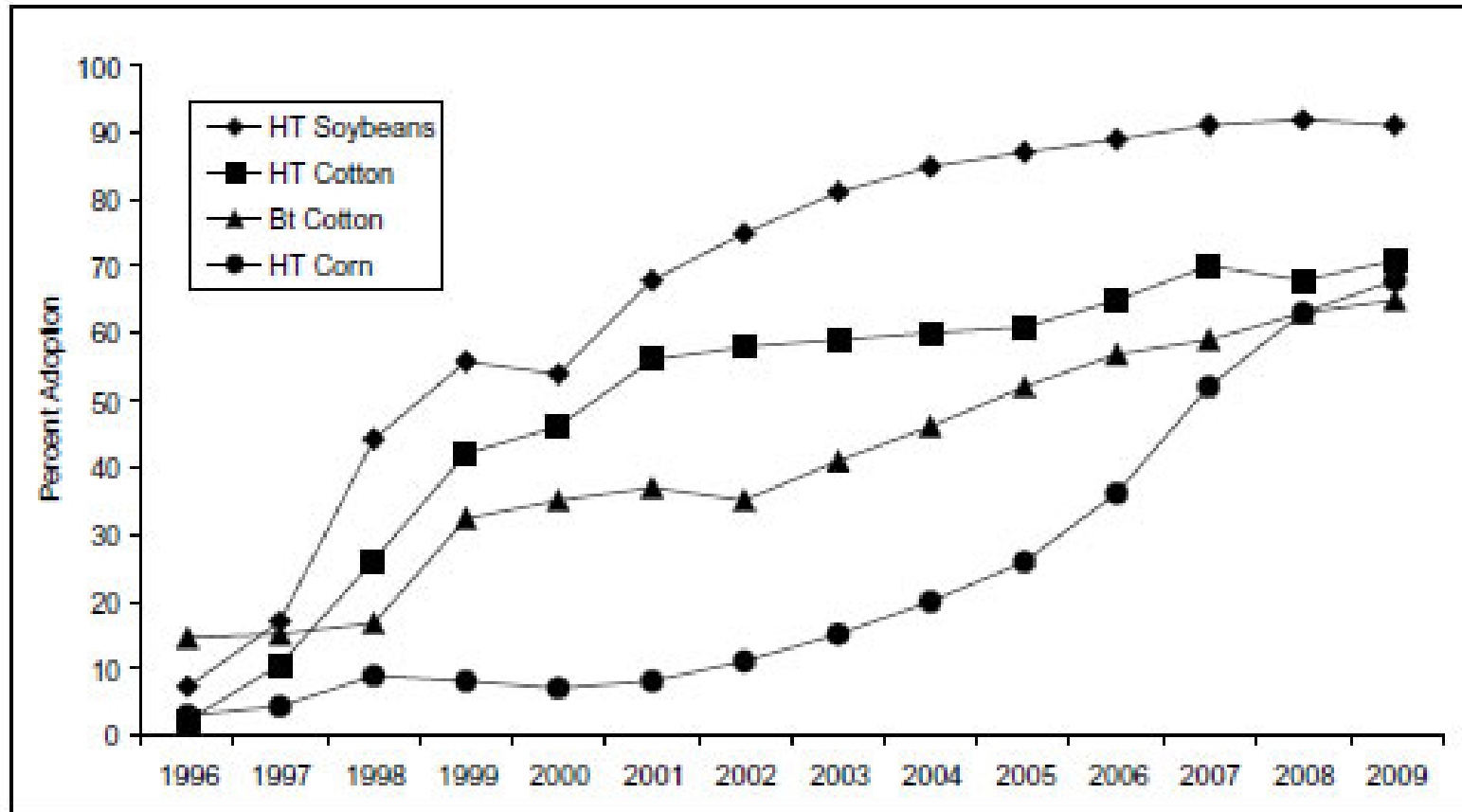


Source: Clive James, 2009.

Figure 1. Global Map of Biotech Crop Countries and Mega-Countries in 2009

Ország	Vetésterület, millió ha	Főbb GM növények
Amerikai Egyesült Államok	62,5	Szója, kukorica, gyapot, cukorrépa repce, lucerna, tök, papaya
Argentína	21,0	Szója, kukorica, gyapot
Brazília	15,8	Szója
India	7,6	Gyapot
Kanada	7,6	Repce, kukorica, szója, cukorrépa
Kína	3,8	Gyapot, paradicsom, nyár, petunia, papaya, paprika
Paraguay	2,7	Szója
Dél Afrikai Köztársaság	1,8	Kukorica, szója, gyapot
Uruguay	0,7	Szója, kukorica
Bolívia	0,6	Szója
Fülöp Szigetek	0,4	Kukorica
Ausztrália	0,2	Gyapot, repce, szekfu
Mexikó	0,1	Gyapot, szója
Spanyolország	79269 ha	Kukorica
Chile	<0,1	Szója
Kolumbia	<0,1	Kukorica, szekfu
Honduras	<0,1	Kukorica
Burkina Faso	<0,1	Gyapot
Cseh Köztársaság	8380 ha	kukorica
Románia	7146 ha	Kukorica
Portugália	4851 ha	Kukorica
Németország	3173 ha	Kukorica
Lengyelország	3000 ha	Kukorica
Szlovákia	1900 ha	Kukorica
Egyiptom	<0,1	Kukorica

Figure 2. Percent Adoption of Biotech Crops in the USA, 1996 to 2009.



Source: USDA's National Agricultural Statistics Service (NASS), 2009a.

HT: herbicide tolerance

Transzformáció céljai

Betegség ellenállóság kialakítása

Terméshozam növelése

Termésminőség javítása

Gének és termékeik funkciójának vizsgálata

A GM-előállítás potenciális előnyei

ELSŐ GENERÁCIÓS TRANSZGÉNIKUS NÖVÉNYEK	MÁSODIK GENERÁCIÓS TRANSZGÉNIKUS NÖVÉNYEK	HARMADIK GENERÁCIÓS TRANSZGÉNIKUS NÖVÉNYEK
<p>Abiotikus és Biotikus stresszrezisztencia kialakítása</p>	<p>Életfolyamatok módosítása</p>	<p>Speciális molekulák termeltetése:bioreaktor GM-növények</p>
<p><i>Herbicidrezisztencia:</i> -Round-Up Ready szója:glifozát rezisztencia, <i>Inszekticid rezisztencia:</i> Star Link kukoricamolylezisztens kukorica(CRY-géncsalád)</p>	<p><i>Anyagcsere módosítása:</i> Például:fehérje,szénhidrát anyagcsere -új fehérje termeltetése, -fehérjék túltermeltetése, -fehérjetermelés-gátlás(poligalakturonáz antiszensz génnel), <i>Fejlődés módosítása:</i> például:hímsterilitás,érés</p>	<p>a gyógyszer, műanyag-és az élelmiszeripar számára <i>emberi fehérjék, vakcina stb. alfa-amiláz,fitáz, stb.</i> GM-banán „fogasztható vakcinája”</p>
<p>A növénytermesztési technológiák fejlesztése</p>	<p>Javul a termék minősége</p>	<p>Javul az emberek életminősége,ipari alapanyagok előállítása</p>

A GMO-előállítás potenciális veszélyei

HUMÁN/EGÉSZSÉGÜGYI PROBLÉMÁK	Antibiotikum rezisztencia gének hatása Toxicitás,fehérjeallergia	Az anyagcseréjükben módosított növények fehérjéket,enzimeket termelnek,vagy túltermelnek.
JOGI PROBLÉMA	Szabadalmi monopol helyzet	Globális szabadalmak A vetőmag termesztő cégekellentétes érdekeinek ütközése.
POLITIKAI PROBLÉMA	Genetikai gyarmatosítás	Kiszolgáltatott térségek:a génekkal rendelkező és a géneket felhasználó országok közötti érdekek ütközése.
NEM CÉLZOTT GAZDASÁGI HATÁSOK	Koegzisztencia	Transzgénikus és hagyományos (bio) termesztoők közötti ellentétes érdekek ütközése

Előadás összefoglalása

GM növények

Promóterek

Transzgén

Rekombináns DNS technológia

Marker gének

Transzformációs módszerek

Transzformáció céljai

Előadás ellenőrző kérdései

- Melyek a GM növények előállításának fontosabb lépései?
- Hogyan épül fel a transzgen?
- Mit ért rekombináns DNS technológia alatt?
- Mi az indirekt és direkt transzformáció?

KÖSZÖNÖM FIGYELMÜKET

KÖVETKEZŐ ELŐADÁS CÍME

Hazai és nemzetközi génbanki tevékenység

Előadás anyagát készítették:

Dr. Pepó Pál