

ROVATVEZETŐ:

Dr. Heszky László *akadémikus*

Az előző 11-16. részekben a transzgénikus (GM) fajták nemesítésének alternatív módszereit mutattuk be. A korábbi I-II. fejezetekhez hasonlóan ezt a III. fejezetet is a szakkifejezések ismertetésével fejezzük be. A Szakkifejezések III. című részben viszont csak azokat a szakszavakat értelmezzük, melyeket a Szakkifejezések I. és II. részei még nem tartalmaznak (lásd: Agrofórum 2010. november és 2011. április).

Akiket érdekelnek a géntechnológiával kapcsolatos további ismeretek, azoknak ajánljuk figyelmébe Heszky László és Galli Zsolt (2008): *Genetika alapjai*. Szent István Egyetemi Kiadó, Gödöllő, (<http://www.olvass.hu/>) és Heszky L., Fésüs L., Hornok L. (2005) *Mezőgazdasági biotechnológia*. Agroinform Kiadó, Budapest (<http://www.agroinform.com/konyvek>), továbbá Kiss Erzsébet (1999) *Növényi molekuláris genetika* (Szent István Egyetemi Kiadó, Gödöllő) tankönyveket.

Tanuljunk „géntechnológiául” (17.)

A transzgénikus (GM) fajta előállítása (III./7.)

Szakkifejezések III.

Dr. Heszky László

SzIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Genetika és Biotechnológiai Intézet,
Gödöllő

A

Amplifikáció: Egy adott gén- vagy DNS-szakasz kópiaszámának a többitől független sokszorozódása természetes (differenciált replikációval), vagy mesterséges (molekuláris klónozással vagy PCR-rel) úton.

Antigén: Egy molekula, legtöbb esetben fehérje, ami „testidegen” sejt (vírus, baktérium stb.) felületén található, és ami az emlősök szervezetébe kerülve immunválaszt (antitest termelést) vált ki.

Antitest (ellenanyag): Az antigén ellen, az emlősök vér- és nyirokrendszerében a \square -limfociták plazmasejtjei által termelt antigénre specifikus fehérje (immunglobulin), mely az antigénhez kapcsolva azt megjelöli. A megjelölt antigént az immunrendszer speciális sejtjei már képesek elpusztítani.

Antociánok: A növényi kék, ibolya

és vörös színanyagok egy elterjedt csoportjának gyűjtőneve. Vízben oldódó, glikozid kötésű pigmentek, melyeknek színe a sejtek kémhatásától függően változhat.

Autoradiográfia: Módszer mellyel, az izotóppal kezelt mintákban (pl. növényi minta) meghatározható a radioaktív sugárzás, és annak eloszlása a fényképezőlemezre gyakorolt hatás alapján. A fényképezőlemezben kapott kép az autoradiogram.

B

Backcross (Bc): A hibrid (F1) visszakeresztzése az egyik szülővel. Módszer, melyben a hibridet több generáción keresztül visszakeresztetik az egyik szülővel (rekurrens szülő). Szelekcióval egybekötve alkalmas gének átvitelére egyik genotípusból a másikba.

Beltenyésztés: Olyan eljárás,

amelyben a növényeket önmegporzással, az állatokat közel rokon egyedek párosításával (rokontenyésztés) szaporítják. Hatására a variabilitás csökken, a homozigóta gének aránya nő. A heterózis hibridek szülővonalainak előállítására használatos.

Beltenyésztéses hibrid: Kettő vagy több (3 vagy 4) beltenyésztett vonal keresztezésével előállított hibrid, mely gazdaságilag is jelentős heteróvizist mutathat (pl. kukorica, napraforgó-, baromfihibridek).

BC1, BC2 stb.: A visszakeresztett generációk (populációk) jele a visszakeresztéses (backcross) nemesítés során.

Bioreaktor: Mikroorganizmusok, algák, növényi stb. sejtek kísérleti, vagy üzemi fermentációjára használt tenyésztő edény.

Blottolás: Az a folyamat, mely során egy immobilizáló matrixra (pl.

nitrocellulóz-, vagy fényképező lemez stb.) DNS-t, RNS-t, vagy fehérjét juttatunk.

C

cDNS (kópia, vagy komplementer DNS): Olyan DNS, amely az mRNS-ről, mint mintáról reverz transzkripcióval készül. Intront nem tartalmaz. Szekvenciájából következtetni lehet a kódolt fehérje aminosav sorrendjére.

Cisztron: A gén szinonimája, a DNS funkcionális egysége, amely egyetlen polipeptidláncot vagy tRNS-t, illetve rRNS-t kódol.

Cry fehérje (cry toxin): *Bacillus thuringiensis* által termelt kristályos (crystall) rovarölő fehérje. Közel 200 változata ismert.

D

DNS-DNS hibridizáció: Az a folyamat, melyben a keresett és jelölt – egymással komplementer szekvenciájú – DNS szálak kétszálú DNS-t alkotnak. A hibridizáció bekövetkezése a jelölt DNS szállal detektálható.

DUS: A fajtajelöltek vizsgálatakor alkalmazott hármas követelményrendszer angol rövidítése (Distinction, Uniformity, Stability), ami a megkülönböztetettséget, a kiegyenlítetttséget és a stabilitást jelenti.

E

EFSA (European Food Safety Agency): Európai Élelmiszerbiztonsági Hivatal.

Endolizinek: bakteriofágokból nyert fehérjék, melyek a baktériumok lízisét (szétesését) okozzák, mert képesek a kórokozó baktériumok sejtfalát lebontani.

Event: Egy növényfaj egy vagy több génkonstrukciót tartalmazó transzgenikus vonalának nemzetközileg elfogadott elnevezése.

F

Fajtaminősítő Bizottság: Az EU-ban egy adott tagországnak az a Bizottsága, mely a fajtajelölteket a DUS és gazdasági értékmérő vizsgálat eredményei alapján állami elismerésben részesítheti, és ezzel engedélyezheti a kereskedelmi forgalomba kerülést.

G

Gél: Olyan anyag (mátrix), melyben a nukleinsav fragmentumok gélelektroforézissel, alakjuk és méretük alapján szétválaszthatók. Leginkább használatosak az agaróz és a poliakrilamid gélek.

Géncsendesítés (gene silencing): A gén működésének leállása, mely lehet öröklődő és visszafordítható. Okai lehetnek mutáció, epigenetikai módosulások (pl. metiláció), vagy kromatin struktúra változások.

Génkonstrukció: Program csomag, melyben a fehérje/fehérjék kódján kívül a gén vagy gének működéséhez szükséges további (pl. szabályozás, célba juttatás stb.) információk is beépítésre kerültek.

Géntechnológiai Bizottság: Az EU-ban egy adott ország Szakbizottsága, mely a Géntechnológiai Hatóság számára véleményt nyilvánít a GMO-kal kapcsolatos ügyekben.

Géntechnológiai Hatóság: Az EU-ban egy adott ország döntéshozó (engedélyező, tiltó, törvényt előkészítő stb.) szerve GMO ügyekben.

GM: Géntechnológiával módosított (genetikailag módosított) kifejezés rövidítése, mely jelzőként lehet: -növény, - növényi rész, -fajta, -fajtajelölt, -populáció, -vonal, -hibrid, -élelmiszer stb.

H

Hasadás (szegregáció): 1/A szülőök tulajdonságainak (allélok) szétválása a meiózist követően a gamétákban (meiotikus szegregáció) és ennek következtében az utódnemzedékekben. Mitotikus szegregáció akkor következhet be, ha a mitózisban crossing over volt. Különbséget kell tenni (pl. egy heterozigóta allélpár esetén Aa) a genotípusos szegregáció (1AA, 2Aa, 1aa) és a fenotípusos szegregáció (3A és 1a) között. 2/ Baktérium, kloroplasztisz stb. szaporodása, a DNS és citoplazma megkettőződését követően a plazmahártya betüremkedik, majd két sejté, illetve organelummá válik szét.

Heterózis: A heterozigóta (F1) hibridek fejlődésbeli fölénye valamilyen tulajdonságban a homozigóta szülőkhöz viszonyítva. Ez a fölény speciális gének kölcsönhatások

fenotípusos megjelenésének tulajdonítható a heterozigótákban. F2-ben a heterózis csökken.

Heteroplazmás: 1/ olyan zigóta, vagy abból fejlődött szervezet, mely az anyai mellett, apai eredetű citoplazmát is tartalmaz. 2/szomatikus hibrid sejt, melyben mind a két fúziós partner citoplazmája jelen van (cibrid). 3/ eltérő (vad, mutáns, transzgenikus stb.) típusú kloroplasztiszokat tartalmazó transzgenikus sejt, vagy növény.

Hibrid: Egy vagy több jellegben eltérő szülők keresztezéséből származó utód. Ha a szülők egy tulajdonságban térnek el mono-, ha két-tőben di-, ha sokban polihibridről beszélünk.

Hibridizáció: 1/ Szexuális: két, genetikailag eltérő egyed ivaros keresztezése. 2/ Szomatikus: két, genetikailag különböző szomatikus sejt fúziója (protoplaszt fúzió). 3/ Molekuláris: Különböző eredetű, de egymással részben, vagy teljesen komplementer egyszálú nukleinsav fragmensek összekapcsolódása (H-hidak kialakulása). A komplementer fragmensek duplexet alkotnak (hibridizálnak).

Heterozigóta: Sejt, vagy szervezet, melyben a homológ (apai és anyai eredetű) kromoszómák azonos lokuszain (gén helye a kromoszómán) az allél különböző (jelölése pl. Aa vagy A1A2).

Homozigóta: Sejt vagy szervezet, melyben a homológ (apai és anyai eredetű) kromoszómák azonos lokuszain (gén helye a kromoszómán) az allél azonos.

Hagyományos (konvencionális) nemesítés: Az új fajták előállításánál a 19. és a 20. század klasszikus nemesítési módszereit (keresztesítés, hasadás, mutáció, poliploidizáció, szelekció stb.) alkalmazó nemesítés.

Hagyományos fajta: Fajta, melyet hagyományos nemesítéssel állítottak elő.

Herbicidek: kémiai gyomirtó szer.
Heterotróf: Szervezetek: olyan szervezetek, melyek működésének fenntartásához, szerves anyagokat tartalmazó táplálék is szükséges.

Hibridizációs próba: A nukleinsav hibridizációs módszerekben (Southern-Northern-hibridizáció) alkalmazott egyszálú rövid (1000

bp) nukleinsav fragmentum, mely alkalmas a keresett a komplementer nukleinsav szekvencia kimutatására, ezért általában radioaktívan, vagy kemilumineszcens módon jelölve van.

Homoplazmák: Azonos típusú (vad, mutáns, transzgenikus) citoplazmát, vagy organellumokat (pl. kloroplasztiszokat) tartalmazó sejt, vagy növény.

I

Intronok: Olyan DNS-szakaszok az eukarióta génben, amelyek a hnRNS-re átíródnak, azonban az érés során kivágódnak, így a mRNS-ből már hiányoznak. Hosszúságuk meghaladhatja a struktúr génjét (exonokét). Az intron GT bázisokkal kezdődik és AG bázisokkal végződik.

Ivarsejtek (gaméták): Reprodukcióra specializálódott haploid növényi sejtek (hímivarsejt, petesejt), melyek egyesüléséből jön létre a zigóta. Növények esetében a pollen két hímivarsejtet és egy vegetatív sejtet tartalmaz, az embriózsák pedig 8 haploid sejtet, melyből egy a petesejt.

K

Katalízis (biokatalízis): Biológiai folyamatokban bekövetkező reakciók sebességének megnövelése idegen anyag (biokatalizátor, pl. enzim) hatására anélkül, hogy a biokatalizátor/enzim molekula maradandóan megváltozna a folyamatban.

Kemilumineszcencia (kémiai lumineszcencia): Az a jelenség, melyben a kémiai reakcióban szabaddá váló energia a rendszerből nem hő, hanem fénysugárzás alakjában távozik. A nukleinsav hibridizációs módszerekben a keresett fragmentum kimutatására általában a biotin, digoxigenin, illetve a fluoreszcens nukleotidok használatosak.

Klónozás: Magasabb rendű szervezetek esetében azt a folyamatot jelenti, mely során az utódok egy egyed testi (szomatikus) sejtjeiből, szöveteiből, vagy szerveiből fejlődnek.

Klón: 1/ Sejtek, vagy egyedek csoportja, melyek egy egyed testi vagy szomatikus sejtjeiből mitózással

keletkeztek. 2/ Magasabb rendű szervezetek (növények, állatok), esetében az ivartalan (aszexuális) szaporodásból vagy szaporításból származó – tehát genetikailag azonos – utódok. 3/ Molekuláris szempontból azokat a DNS szakaszokat jelenti, melyeket molekuláris klónozással amplifikáltak.

L

Licenc: ld. szabadalom.

M

Membrán filter: Nukleinsav hibridizációs módszerekben, a gélben elektroforézissel szétválasztott nukleinsav fragmentumokat a gélből át kell vinni egy szilárd és immobilizáló hordozóra, ami lehet nylon, vagy nitrocellulóz membrán. A membránon rögzített nukleinsav fragmentumok alkalmasak a hibridizációra a nukleinsav próbával.

Markergén: A génebesztben használatos – az expressziós vektorba épített –, általában rezisztenciát hordozó gén (antibiotikum-, herbicid-rezisztencia), melynek expressziója lehetővé teszi a transzformáns sejtek korai szelektációját (szelektálható markergén).

mtDNS: mitokondrium DNS.

Mitokondrium DNS (mtDNS): Általában 16-2000 kb hosszúságú, cirkuláris DNS. Génregulációja prokarióta típusú.

Molekuláris hibridizáció: 1/ Mesterségesen szétválasztott egyfonalas nukleinsav molekulák összekapcsolódása a komplementer bázisaik között kialakuló hidrogén hidakkal. (Southern ~, Northern ~, *In situ* ~) 2/ Fehérje azonosítása, antigén – antitest reakcióval. (Western ~)

Molekuláris klónozás: DNS szakaszok felszaporítása. A folyamat magába foglalja a DNS-fragmentum izolálását, klónozó vektorba építést, majd egy megfelelő prokarióta (pl. baktérium) vagy eukarióta (pl. élesztő) gazdasejtbe juttatását. A gazdasejt intenzív felszaporítása során a DNS-fragmentum is amplifikálódik. Az amplifikált szakasz a vektorból restriktions hasítással izolálható.

N

Northern hibridizáció (RNS azo-

nosítás): RNS mintát (heterogén populációt) elektroforetikus szétválasztanak, majd a gélről membránra (filterre) viszik át. A membránra átvitt RNS-t radioaktívan jelölt – a keresett RNS-re specifikus – próbával hibridizáltatják. A komplementer fragmensek duplexet alkotnak (hibridizálnak). Ezt követően autoradiográfiával azonosítják a hibridizált foltnak megfelelő RNS-t tartalmazó sávot.

Nukleinsav blotolás: DNS vagy RNS átvitele a gélből egy szilárd hordozóra (pl. nitrocellulóz- vagy nylon membrán), melyet nukleinsav hibridizáció követ.

Nukleinsav hibridizáció: Két különböző származású egyfonalas nukleinsav (DNS, RNS) között – amennyiben komplementer szekvenciákat is tartalmaznak – bázispárosodás (H-hidak kialakulása) lehetséges. A komplementer fragmensek duplexet alkotnak (hibridizálnak). Amennyiben egy ismert nukleinsav fragmentumot pl. izotóppal jelölünk, és hibridizációs próbaként használunk, a vele homológ szakaszt tartalmazó szakasz a gélelektroforézissel szétválasztott DNS-fragmentumok közül azonosítható.

O

Organellum genom: Az eukarióta sejtben a kloroplasztisznak és a mitokondriumnak saját genomja (DNS) van. Mivel a sejtben a kloroplasztiszok száma 1-100 db és a kópiaszám 1-12 db organellumonként, egy sejtben a ptDNS-nek akár több ezer példánya is jelen lehet. A mitokondrium DNS esetében a mtDNS-populáció még ezt a számot is meghaladhatja. Az egyes genomok (DNS) mérete nem elegendő az organellumok funkciójához, ezért az organellumokban működő fehérjéknek jó része a sejt-magban van kódolva.

P

PCR-analízis: Egy bizonyos nukleinsav-szakasz jelenlétének kimutatása, ennek a fragmentumnak a többitől független felszaporításával. A specifikus amplifikáció a keresett fragmentumot határoló régiók szekvenciáival komplementer

oligonukleotid primer-párral váltható ki.

Polimeráz láncreakció (PCR): Mullis 1984-ben felfedezett technikája, mely alkalmas specifikus DNS-fragmentumok in vitro enzimatikus felszaporítására. A PCR-rel egy adott DNS szakasz korlátlan mennyiségű másolata állítható elő. A folyamat főbb lépései: DNS denaturáció; primer hozzákapcsolás, polinukleotid szintézis (polimerizáció).

Plasztom: plasztisz genom (pt-DNS).

Plasztisz szegregáció: Kétféle (vad, transzgenikus), tehát heterogén plasztisz populációt tartalmazó sejt osztódása során az eltérő plasztiszok szétválnak, ami kétféle utódsejttel eredményezhet. Az utódsejtek már homogén, de eltérő típusú plasztiszokat tartalmaznak.

Ploidia viszonyok: A sejtek eltérő kromoszómaszámát jelenti fajok között, fajon belül, vagy egy egyedben, szervben, szövetben. Két formája ismert: poliploidia, aneuploidia.

Primer: Olyan rövid oligonukleotid (DNS, RNS), melynek szabad 3'OH végétől a DNS polimeráz képes a templát nukleotidlánccal (DNS, RNS) komplementer bázisszekvenciájú lánccal szintézisére.

Poliakrilamid-gél: ld. gél.

Próba: lásd: hibridizációs próba.

Provitamin: Olyan kémiai anyag, melyből a szervezetben végbemenő átalakulás után biológiailag hatásos vitamin keletkezik (pl. az A-vitamin provitaminja a karotin).

R

Radioaktív izotóp: Olyan izotóp, mely radioaktív - többnyire gamma-sugárzást bocsát ki. Lehet természetes és mesterséges. Sugárzásuk veszélyes az emberi szervezetre. Gyakran használatosak nyomjelzésre különböző élettudományi (orvosi, biológiai és agrár) kutatásokban.

Rezisztencia: Ellenálló képesség a kórokozók (vírus, baktérium, gomba) és a kártevőkkel (rovar) szemben. A kórokozók esetében azt jelenti, hogy a tünetek kialakulása a rezisztens egyedben gátolt.

Rezisztencianemesítés: Speciális keresztezést és szelekciót alkalmazó módszer/módszerek, melyekkel

egy fajtában kialakítható az ellenálló képesség a kórokozók és/vagy a kártevőkkel szemben.

S

Spectinomycin: Antibiotikum, mely a kloroplasztiszban gátolja a fehérjeszintézist.

Standard fajta: Összehasonlító kísérletekben az a fajta, aminek teljesítményéhez (100 %) viszonyítják a kísérletben vizsgált többi fajtát.

Southern hibridizáció (DNS azonosítás): Egy DNS molekulából, vagy genomból, restrikciós endonukleáz kezeléssel kapott DNS-fragmentumokat elektroforetikusan szétválasztanak. Ezután a géltre helyezett porózus membránra (pl. nitrocellulóz filterre) itatják át a fragmentumokat (blottolás). A membránra átvitt DNS-t radioaktívan jelölt - a keresett DNS-fragmensre specifikus - egyfonalas nukleinsav próbával (DNS, RNS) hibridizáltatják, majd autóradiográfiával előhívják. Különböző genotípusok vizsgálata esetén kapott eltérő mintázat (polimorfizmus) oka, hogy az adott restrikciós endonukleáz hasítási helyei az adott genomban különböző molekuláris változások (mutáció stb.) miatt megváltoztak.

Sz

Szabadalom: Magas szintű műszaki, természettudományos szellemi alkotótevékenység eredményeképpen létrejött találmány oltalmát biztosító jog.

Szenzitivitás: Érzékenység, vagy fogékonyság a kórokozók (vírus, baktérium, gomba) és kártevőkkel (rovar) szemben.

Szülő vonalak: Azok a vonalak, melyek keresztezésével állítják elő a hibridek vetőmagját.

T

Tolerancia: a/ abiotikus stresszel (hő, fagy, szárazság stb.) szembeni ellenálló képesség, b/ biotikus stresszel (vírus, baktérium, gomba, rovar) szembeni fogékonyságnak az a szintje, mely még nem jár termés-csökkenéssel.

T-ptDNS: Transzformált plasztisz ptDNS.

Transzgenikus nemesítés: Hagyományos fajták agronómiai, ke-

reskedelmi stb. értékeinek javítása egy vagy több gén, géntechnológiai úton való bevitelével. A folyamat magába foglalja a génkonstrukció előállítását, a géntranszfert, a transzgenikus növények szelekcióját, a rizikótényezők és gazdasági értékmerő tulajdonságok vizsgálatát, végül a fajtajelölt előállítását szabadalmaztatását és bejelentését állami elismerésre.

Transzplasztom: transzformált plasztisz genom (T-ptDNS).

V

Variáció: Szövetben, szervben vagy egyedben - általában a pigmentációban - megjelenő eltérés. Fontosabb okai 1/ variabilitás és szegregáció (pl. plasztisz szegregáció), 2/ instabil szomatikus mutációk, 3/ crossing over, 4/ fertőzés (kórokozó) 5/ szomatikus kromoszóma átrendeződések. A variáció egy heterogén organellum populációval rendelkező zigóta, vagy szomatikus sejt kialakulásával kezdődik. Ezek mitotikus osztódásai során bekövetkező szegregáció kétféle típusú utódsejttel eredményezhet, melyekből a további ontogenezis során kétféle típusú (pl. fehér és albinó) szövetek, szervek fejlődnek, illetve csíkoltság vagy foltosság alakulhat ki a variációval rendelkező növényben.

Visszakeresztetés: Olyan nemesítési módszer, mely lehetővé teszi, hogy egy donorfajta valamilyen jó tulajdonságát, vagy a transzgenjét átvigyük egy másik fajtába (recipiens fajta). Az első keresztezés során visszük át a kívánt tulajdonságot, pontosabban annak a génjét. Abból a célból, hogy visszakaphassuk a kiinduló (recipiens) fajtát az új génnel, a többi keresztezés már az egyes nemzedékek visszakeresztetését jelenti a recipiens fajtával. A visszakeresztetést és a szelekciót addig kell végezni, amíg nem állítottuk újra elő az eredeti fajtát, ami viszont már rendelkezik a kívánt tulajdonsággal.

W

Western hibridizáció (fehérje azonosítás): Egy fehérje (mint antigén) azonosítása antigén-antitest reakcióval. A fehérje mintát membránra (pl. nitrocellulóz filter) visznek át,

majd a keresett fehérjére specifikus jelzett antitestet juttatnak a filterre. Az antigén-antitest komplex kialakulása bizonyítja a keresett fehérje jelenlétét a mintában. Alkalmas arra, hogy kimutassuk, pl. a donor gén expresszióját (a kódolt fehérje termelését) a transzgénikus sejtben, szervezetben, a fehérjére specifikus antitesttel.

