



## MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGUS MSc KÉPZÉS

**Tantárgy:** MOLEKULÁRIS BIOLÓGIA ÉS GÉNTÉCHNOLÓGIA MÓDSZERTAN**Neptun kódja:** SMKNG4012BL**Oktató intézet:** Genetika és Biotechnológiai Intézet (GBI)**Tantárgyfelelős:** Dr. Kiss Erzsébet, egyetemi tanár**További oktatók:** Kovács László (gyakorlatvezető)**Szemeszter:** 2**Kredit:** 4**Heti óraszám:** 10 óra előadás + 10 óra gyakorlat**Tantárgyi tematika**

Előadás	Laboratóriumi gyakorlat
1. A génezés módszerei Génkönyvtárak létrehozása és fenntartása (genomi és cDNS). cDNS szintézis	1. Baktérium-táptalaj és kompetens <i>Escherichia coli</i> sejtek készítése <i>Escherichia coli</i> sejtek transzformációja GFP riportergént hordozó pGLO plazmiddal
2. A gének, cDNS-ek befogadására, tárolására alkalmas vektorok, gazdasejtek Hibridizáció, gének azonosítása hibridizációval, PCR –rel	2. A klónozendő / transzformációra alkalmazandó gén/promoter/DNS szakasz felszaporítása PCR-rel
	3. Emésztett plazmid és PCR termék gélelektroforézise, a gélszeletek kivágása és visszaizolálása
3. Riportergének típusai, géntechnológiai és funkcionális genomikai alkalmazásai (lacZ, GUS, GFP)	4. Visszaizolált emésztett PCR termék ligálása az emésztett plazmidba
4. A PCR technika leggyakoribb géntechnológiai-genomikai alkalmazásai I. (Primer-tervezés szabályai, degenerált primerek, genotipizálás, nested, aszimmetrikus, touch-down és multiplex PCR, RFLP-PCR, TA-klónozás, irányított klónozás)	5. Fagyasztott kompetens sejtek felhasználása, transzformáció
5. A PCR technika leggyakoribb géntechnológiai-genomikai alkalmazásai II. (inverz-PCR, TAIL-PCR, RT-PCR, RACE-PCR, szemikvantitatív PCR, real-time PCR). Transzformációs vektorok összeállítása. Promóterek, markergének, riportergének, célbajuttató szekvenciák	6. Rekombináns plazmidot tartalmazó baktérium telep azonosítása( $\alpha$ -komplementáció / kék-fehér szelekció, GFP) „Master plate” készítése Kolónia PCR, gélelektroforézis
6. Indirekt (vírus, <i>Agrobacterium</i> ) transzformációs technikák Direkt (génpuska, mikroinjektálás) transzformációs technikák	
7. Transzformáns baktérium/növényi/állati sejtek szelekciója, transzgénikus élőlények előállítása és felhasználásuk	7. Folyékony tenyészetek indítása, glicerines törzstenyészet készítése
8. A transzgén integrációjának, expressziójának és öröklődésének bizonyítása.	8. Plazmid-izolálás, a plazmid méretének ellenőrzése gélelektroforézissel, a plazmid emésztése az inszert méretének ellenőrzése
9. A legfontosabb hibridizáción alapuló technikák (RFLP, Southern hibridizáció, northern hibridizáció). Nem izotópos jelölésen alapuló detektálási módszerek	9. Az inszert orientációjának meghatározása restriktív emésztéssel



## MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGUS MSc KÉPZÉS

10. A géneexpresszió tanulmányozása (antiszensz RNS, RNS interferencia, real time PCR) Genetikai térképezés <i>in situ</i> hibridizációval	10. TAIL-PCR alkalmazása <i>In situ</i> hibridizáció
---	---

**Kötelező irodalom:**

- Az előadások és a gyakorlatok anyaga
- Kiss E. (2003): Növényi géntechnológia gyakorlatok. Kézirat. SZIE, Gödöllő

**Ajánlott irodalom:**

- Dudits D., Heszky L. (2003): Növénybiotechnológia és géntechnológia. Agroinform Kiadó Rt. p. 312.
- Heszky L., Hornok L., Fésüs L. (2005): Mezőgazdasági biotechnológia, Agroinform Kiadó, Budapest.

**Számonkérés:**

Az órák látogatása kötelező, hiányzás esetén a gyakorlatot pótolni kell.

A félévi aláírás feltétele az előadások és a gyakorlatok látogatása, a félév során kiadott feladatok beadása.

A kurzus írásbeli vizsgával zárul, amelyen három kérdésre kell válaszolni.

Az érdemjegy: a három kérdésre kapott jegyek átlaga.

Ha a részkérdések közül bármelyik elégtelen, a végső jegy is elégtelen.

5 (kiváló)	4,51-
4 (jó)	3,51-4,50
3 (közepes)	2,51-3,50
2 (elégséges)	2,00-2,50
1 (elégtelen)	

**A tantárgy rövid leírása****MOLEKULÁRIS BIOLÓGIA ÉS GÉNTÉCHNOLÓGIA MÓDSZERTAN****SMKNG4012BL****Tantárgy oktatója: Dr. Kiss Erzsébet**

A tárgy a molekuláris biológia és géntechnológia legjelentősebb módszereinek elméleti és gyakorlati alapjaival foglalkozik. A félév során ismerteti a génklónozás, génizolálás és génmanipulációs módszereket; génkönyvtárak készítését és felhasználását; a transzformációs vektorok összeállítását és a legfontosabb transzformációs módszereket (*Agrobacterium* közvetített, génpuska); a transzformáns sejtek szelekciójának módszereit; a transzgén integrációjának, expressziójának és öröklődésének bizonyításának a módszereit; a legfontosabb PCR-en alapuló és hibridizációs módszereket. Lehetőséget teremt a legtöbb módszer gyakorlati bemutatására és kipróbálására is.

Gödöllő, 2015. szeptember

Dr. Kiss Erzsébet