



MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGUS MSc KÉPZÉS

Tantárgy: MOLEKULÁRIS BIOLÓGIA ÉS GÉNTÉCHNOLÓGIA MÓDSZERTAN**Neptun kódja:** SMKNG4032BN**Oktató intézet:** Genetika és Biotechnológiai Intézet (GBI)**Tantárgyfelelős:** Dr. Kiss Erzsébet, egyetemi tanár**További oktatók:** Kovács László (gyakorlatvezető)**Szemeszter:** 2015 (ősz)**Kredit:** 4**Heti óraszám:** 2 óra előadás + 2 óra gyakorlat**Tantárgyi tematika**

Előadás	Laboratóriumi gyakorlat
1. A génizolálás módszerei	1. Baktérium-táptalaj és kompetens <i>Escherichia coli</i> sejtek készítése
2. Génkönyvtárak létrehozása és fenntartása (genomi és cDNS). cDNS szintézis	2. <i>Escherichia coli</i> sejtek transzformációja GFP riportergént hordozó pGLO plazmiddal
3. A gének, cDNS-ek befogadására, tárolására alkalmas vektorok, gazdasejtek	3. A klónozendó / transzformációra alkalmazandó gén/promoter/DNS szakasz felszaporítása PCR-rel
4. Hibridizáció, gének azonosítása hibridizációval, PCR –rel	4. Emésztett plazmid és PCR termék gélelektroforézise, a gélszeletek kivágása és visszaizolálása
5. Riportergének típusai, géntechnológiai és funkcionális genomikai alkalmazásai (lacZ, GUS, GFP)	5. Visszaizolált emésztett PCR termék ligálása az emésztett plazmidba
6. 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)	6. Fagyasztott kompetens sejtek felhasználása, transzformáció
7. 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	7. Rekombináns plazmidot tartalmazó baktérium telep azonosítása(α –komplementáció / kék-féher szelekció, GFP)
8. Indirekt (vírus, <i>Agrobacterium</i>) transzformációs technikák	8. „Master plate” készítése
9. Direkt (génpuska, mikroinjektálás) transzformációs technikák	9. Kolónia PCR, gélelektroforézis
10. Transzformáns baktérium/növényi/állati sejtek szelekciója, transzgénikus élőlények előállítása és felhasználásuk	10. Folyékony tenyészetek indítása, glicerines törzstenyészet készítése
11. A transzgén integrációjának, expressziójának és öröklődésének bizonyítása.	11. Plazmid-izolálás, a plazmid méretének ellenőrzése gélelektroforézissel, a plazmid emésztése az inszert méretének ellenőrzése
12. A legfontosabb hibridizáción alapuló technikák (RFLP, Southern hibridizáció, northern hibridizáció). Nem izotópos jelölésen alapuló detektálási módszerek	12. Az inszert orientációjának meghatározása restrikciós emésztéssel
13. A génexpresszió tanulmányozása (antiszensz	13. TAIL-PCR alkalmazása



MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGUS MSc KÉPZÉS

RNS, RNS interferencia, real time PCR)	
14. Genetikai térképezés <i>in situ</i> hibridizációval	14. <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.

Hallgatói tanulmányi idő

Személyes kontakt az oktatókkal	1) Előadás	26 óra
	2) Gyakorlat	26 óra
Közvetett tanulási idő	Házi feladatok	8 óra
Egyéni tanulási idő	Egyéni tanulás	24 óra
Tesztek, vizsgák		4 óra
Összesen		88 óra

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****SMKNG4032BN****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, génezolálás 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