



## MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGUS MSc KÉPZÉS

**Tantárgy: GÉNTECHNOLÓGIA, TRANSZGENIKUS HASZONÁLLATOK****Neptun kódja: SMKSK4313BN****Oktató intézet: Genetika és Biotechnológiai Intézet (GBI)****Tantárgyfelelős: Dr. Bősze Zsuzsanna tudományos főmunkatárs (MBK)****További oktatók:****Szemeszter: 4****Kredit: 3****Heti óraszám: 3 óra előadás + 2 óra gyakorlat****Tantárgyi tematika**

Előadás	Laboratóriumi gyakorlat
<p>1. Transzgenikus emlős állatok előállítása és vizsgálata, történeti áttekintés. Transzgenikus állatok előállítása mikroinjektálással. A transzgén beépülésének problémaköre: az integrációs hely és kópia szám, genetikai mozaicizmus a transzgenikus alapító állatokban, több helyre történt beépülés, a szex kromoszómára történő beépülés, genetikai instabilitás</p> <p>2. Az egér fejlődés genetikája és embriológiája, embrionális őssejtek (ES sejtek). Célzott génbeépítés embrionális őssejtekben homolog rekombinációjával. Szövet specifikus génmutációk létrehozása a Cre/lox P rendszer. A célzott génbevitel korlátai haszonállatokban</p> <p>3. Alternatív lehetőségek a génbevételre. A retrovirus közvetítette génbevétel mint lehetőség, a retrovirusokról általában lentivirusok közvetített génbevétel transzpozon mediált génbevétel spermával történő idegen gén bevitel</p> <p>4. Transzgenikus nyúl transzgenikus nyúl mint bioreaktor - a nyúltej összetétele - az első nyúltejben termelt forgalomba került gyógyhatású fehérje transzgenikus nyúl mint betegségmodell - érelmeszesedés – lipid metabolizmus vizsgálatok - szívrendellenességek modellje transzgenikus nyúl a termelékenység növelése szolgálatában - κ-kazein koncentráció megváltoztatása transzgenézissel - az elmélet és a kísérleti eredmények összehasonlítása;</p> <p>5. Transzgenikus csirke alkalmazási területei</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• fejlődésbiológia modell</li><li>• gyógyhatású fehérjék termeltetése</li><li>• veszélyeztetett fajok megmentése</li></ul>	<p>1. Transzgenikus állatok előállítása mikroinjektálással - Az embriók kinyerése, in vitro fenntartására alkalmas mediumok. - A transzgenikus egér előállítására alkalmas törzs kiválasztása, fenntartása. - A donor egerek szuperovuláltatása, a szuperovulációhoz használt hormonok, sötét/világos fényperiódusok beállítása. - A mikroinjektáláshoz szükséges pipetták elkészítése, a pipetta húzó és élesítő működési elve. - A mikroinjektálásra alkalmas mikroszkópok és micromanipulátorok főbb típusai. - DNS mikroinjektálás kritériumai</p> <p>2. Az injektált embriók visszaültetése, recipiens nőtények előkészítése és a műtéti eljárás ismertetése.</p> <p>3. A DNS konstrukcióról általában, mérethatárok, az injektált DNS tisztítása és koncentrációjának meghatározása.</p> <p>4. A transzgén detektálása: Southern blot hybridizáció, polymeráz láncreakció, slot-blot hybridizálás</p> <p>5. A transzgén expresszió vizsgálata RNS szinten: RNS izolálása szövetekből, Northern-blot hybridizálás, reverz-transzkripciót követő polimeráz láncreakció, situ hybridizálás.</p> <p>6. A transzgén expressziója fehérje szinten: Western immunoblot analízis szövetkivonatokból, immunhisztológia, riporter gén analízis.</p> <p>7. Embrionális őssejtek eredete, tápláló sejtek izolálása.</p> <p>8. Az embrionális sejtvonalak fenntartása, génbejuttatás elektroporációval, a génbeépülés vizsgálata az ES sejtekben.</p>



## MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGUS MSc KÉPZÉS

<p>6. Transzgenikus csirke előállítás speciális módszerei</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Vírussal történő génbevitel X. stádiumú embrionális blasztodermába (frissen rakott tojásba)</li><li>• Frissen termékenyült petesejt citoplazmájába történő mikroinjektálás majd ex vivo tojásban történő felnevelés</li><li>• Csirke embrionális őssejtek /CES/ illetve ősvarsejtvonalak /PGC/ alapítása és in vitro génmódosítást követően ivarsejt kiméra létrehozása</li></ul> <p>7. Transzgenikus sertés Mezőgazdasági célú hasznosítások</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Húsminőség javítása</li><li>• Környezetbarát transzgenikus sertés</li><li>• Alom súlygyarapodás fokozása</li></ul> <p>Orvosi célú alkalmazások</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Xenotranszplantáció</li><li>• Betegség modell preklinikai gyógyszerhatás vizsgálatokhoz</li><li>• Gyógyhatású fehérjék termeltetése</li><li>•</li></ul> <p>8. Transzgenikus sertés Szomatikus sejtmagi transzfer alkalmazása célzott génbevitelre sertésben</p> <p>9. Transzgenikus kecske Transzgenikus kecske előállításának módjai és hatékonysága</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Előmag injektálás</li><li>• Szomatikus sejtmagi transzfer</li><li>• Vírussal történő direkt génbevitel az emlőkbe</li></ul> <p>10. Transzgenikus kecske alkalmazási területei:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Tejsír összetétel megváltoztatása</li><li>• Antibakteriális hatású fehérje termeltetése tejben</li><li>• Gyógyászati célú humán fehérjék előállítása GMO kecsketejéből</li></ul> <p>Vitatott alkalmazások:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Pókfehérje termeltetése kecsketejben</li><li>• Transzgenikus kecskék tejében termelt bytyrlycholinesterase a vegyi háborúk elleni védelemben</li></ul> <p>11. Transzgenikus juh Leggyakoribb módszerek a GMO juh előállítására Speciális alkalmazási területek</p>	<p>9. Aggregációs kimérák</p> <p>10. A nyúl szuperovuláltatása, az embriók kinyerése és in vitro kultúrában tartása, mikroinjektálás,</p> <p>11. Laparoszópiás eljárás mint alternatív lehetőség az embrió beültetésre;</p> <p>12. Transzgenikus vonalak kialakítása és fenntartása, sperma mélyhűtési eljárások, transzgenikus vonalak megőrzésére</p> <p>13. Megváltozott tejösszetétel vizsgálatára alkalmas módszerek genetikailag módosított állatokban</p>
---	--



## MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGUS MSc KÉPZÉS

<p>12. Transzgenikus szarvasmarha A transzgenikus szarvasmarha előállításának speciális technikai problémái: a vágóhídtól az embriótranszferig, A klónozás kiemelt jelentősége a transzgenikus szarvasmarhák előállításában</p> <p>13. A genetikailag módosított állatok létrehozása által felvetett etikai kérdések</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. A genetikai módosítás és az <i>állatok</i><ul style="list-style-type: none"><li>• A genetikai módosítás önmagában véve rossz (a genetikai módosítás elfogadhatósága)</li><li>• A genetikai módosítás következményei (az állatok jól-léte; animal welfare science)</li></ul></li><li>2. A genetikailag módosított állatok és az <i>emberek</i> (egészségügyi és társadalmi-gazdasági kérdések)</li><li>3. A genetikailag módosított állatok és a <i>környezet</i> (biodiverzitás és szabadonbocsátás/szökés)</li></ol> <p>A három R elve</p>	
---	--

**Kötelező irodalom:**

- Mezőgazdasági Biotechnológia; Bősze Zsuzsanna, Gócza Elen
- Állattenyésztési Biotechnológia, transzgenikus haszonállatok előállításának lehetőségei és céljai. Szerk: Heszky László, Fésűs László, Hornok László, Agroinform Kiadó 2005
- Bősze Zs., Hiripi L., Genetikailag módosított élőlények (GMOK) a tények tükrében Szerkesztők: Balázs E., Dudits D., Sági L. Barabás Zoltán Biotechnológiai Egyesület ISBN 978-963-08-1065-4 2011.

**Ajánlott irodalom:**

- Nagy A., Gertsensten M., Vintersten K. and Behringer R. 2003, Manipulating the Mouse Embryo; A Laboratory manual. [\*3rd edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, New York\*](#)
- Transgenic animal technology. Academic Press Inc. Ed. Pinkert C.A: 2002. pp 3-12.

**Számonkérés:**

- A tárgy elsajátításához folyamatosan heti 2 óra egyéni felkészülés szükséges.
- A konzultációkon **célszerű** részt venni, mivel az előadás, valamint az elméleti jegyzet teljes anyagát a kollokviumon tudni kell.
- A gyakorlatokon a jelenlét **kötelező**.
- A hallgatóknak fel kell dolgozni egy az oktatóval közösen kiválasztott közleményt és arról kiselőadást tartani a csoporttársaiknak- ezt utána az oktató értékeli
- A gyakorlati jegy aláírásának feltétele a gyakorlati oktatáson való részvétel és az ott készült jegyzőkönyv bemutatása
- Az elméleti anyagból írásbeli számonkérés van, szóbeli javítási lehetőséggel, egyén egyeztetés alapján

**A tantárgy rövid leírása****GÉNTÉCHNOLÓGIA, TRANZSGENIKUS HASZONÁLLATOK****SMKSK4313BN***Tantárgy oktatója: Dr. Bősze Zsuzsanna*

Transzgenikus állatok előállítása mikroinjektálással. Embrionális őssejtek típusai. Embrionális őssejtek genetikai módosításának jelentősége az állattenyésztésben, kísérletek használatok ES sejtjeinek izolálására és sejtvonalak létrehozására. Célzott génbeépítés embrionális őssejtekbe homológ rekombinációjával. Szövetspecifikus és szabályozható génmódosítások. Alternatív módszerek transzgenikus használatok létrehozására. A transzgenezis jelentősége az állattenyésztésben teljesítménynövelés, betegség rezisztencia létrehozásában. Transzgenikus használatok, mint bioreaktorok, és alkalmazásuk xenotranszplantációban. A transzgenikus szarvasmarha, kecske, juh, sertés, nyúl és baromfi létrehozásának specifikus körülményei, és alkalmazási területeik.

Gödöllő, 2015. szeptember

Dr. Bősze Zsuzsanna