

A tananyag felépítése – módosított ütemterv

Zöld: biotechnológia ZH vagy pót ZH. Piros: nanotechnológia ZH (a pót ZH-k nincsenek feltüntetve)

1	02.10.	Alapok	A DNS, RNS és a fehérjék szerkezete. A DNS lemásolása a sejtben.
2	02.17.		Polimeráz láncreakció (PCR)
3	02.24.		Mikrobiológiai alapok
4	03.02.	Módszerek	Indukált mutáció
5	03.09.		Protoplaszt fúzió
Tavaszi szünet	03.16.		
6	03.23.		Génátvitel vektorokkal
7	03.30.	Termékek, technológiák	Elsődleges és másodlagos anyagcseretermékek gyártása
8	04.06.		Biopeszticidok
Húsvéti szünet	04.13.		
9	04.20.		Rekombináns fehérjék gyártása, Állati sejtenyésztés
10	04.27.		Génmanipulált növények
11	05.04.		Génszerkesztés a CRISPR rendszer segítségével
12	05.11.		Klónozás
	05.18.		
Pót ZH	05.21.	csütörtök	pótlási hét
Pót-pót ZH	05.25. – 05.29.	Egy minden érintett számára alkalmas időpont	pótlási hét

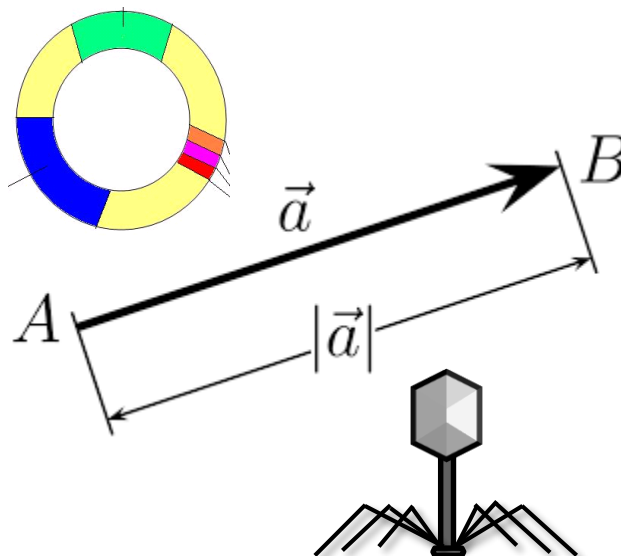
6. Óra Génátvitel vektorokkal

2020. március 23.

Az óra kulcsszavai: vektor, plazmid, restrikciós endonukleáz



Aequorea victoria
(kristálymedúza)



Fluoreszkálóvá tett
dohánynövény levelek
„GMO dohánylevelek”

A kristálymedúza egyik génje egy fluoreszkáló fehérjét (GFP) kódol. Ezt vitték át vektorokkal a dohánynövény leveleibe.

Vektorok: idegen genetikai információ sejtbe juttatására alkalmas biológiai információ hordozó rendszerek. A vektorok az őket befogadni képes sejt genetikai módosítására képesek.

De miért van szükség vektorokra - tehát hordozó rendszerekre - az idegen DNS bejuttatásához? És mi értelme van idegen DNS-t bejuttatni egy élőlénybe?

1 <http://wonderfulanimals.blogspot.com/2012/06/aequorea-victoria.html>

2 Chen Q, Lai H, Hurtado J, Stahnke J, Leuzinger K, et al. (2013) Agroinfiltration as an Effective and Scalable Strategy of Gene Delivery for Production of Pharmaceutical Proteins. Adv Tech Biol Med 1: 103.

doi:10.4172/atbm.1000103

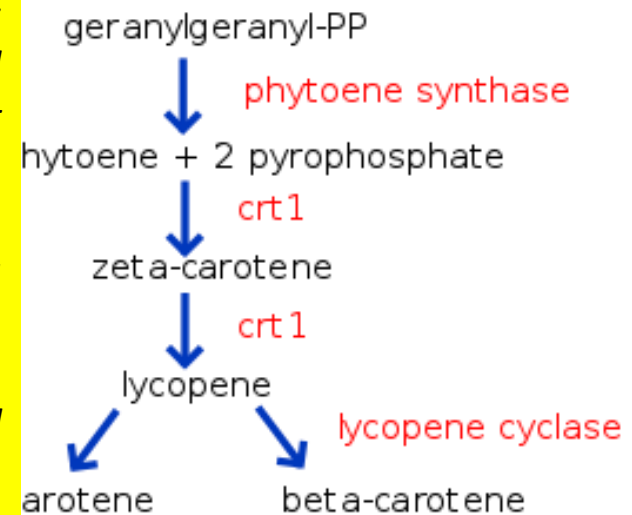
Mi értelme van idegen DNS-t bejuttatni egy élőlénybe?

- Valamilyen, számunkra (és esetenként az élőlény számára is) hasznos tulajdonsággal szeretnék felruházni. (Ugyanaz, mint a keresztezésnek, az indukált mutációnak vagy a protoplaszt fúzióknak.)
- Egysejtű élőlényeket arra lehet rávenni, hogy valamilyen számunkra hasznos anyagot – tipikusan egy fehérjét – állítson elő nagy mennyiségben, amit a genetikai állománya egyébként nem tartalmazott (számára nem hasznos ennek az idegen génnek a jelenléte).
- Növényeket, állatokat megfelelő idegen gének bevitelével bizonyos kártevőkkel vagy betegségekkel szemben ellenállóvá lehet tenni. Pl. aranyrizs vagy a sertéspestissel szemben ellenálló sertések létrehozása.



“vad típusú” rizs és aranyrizs [1,2]

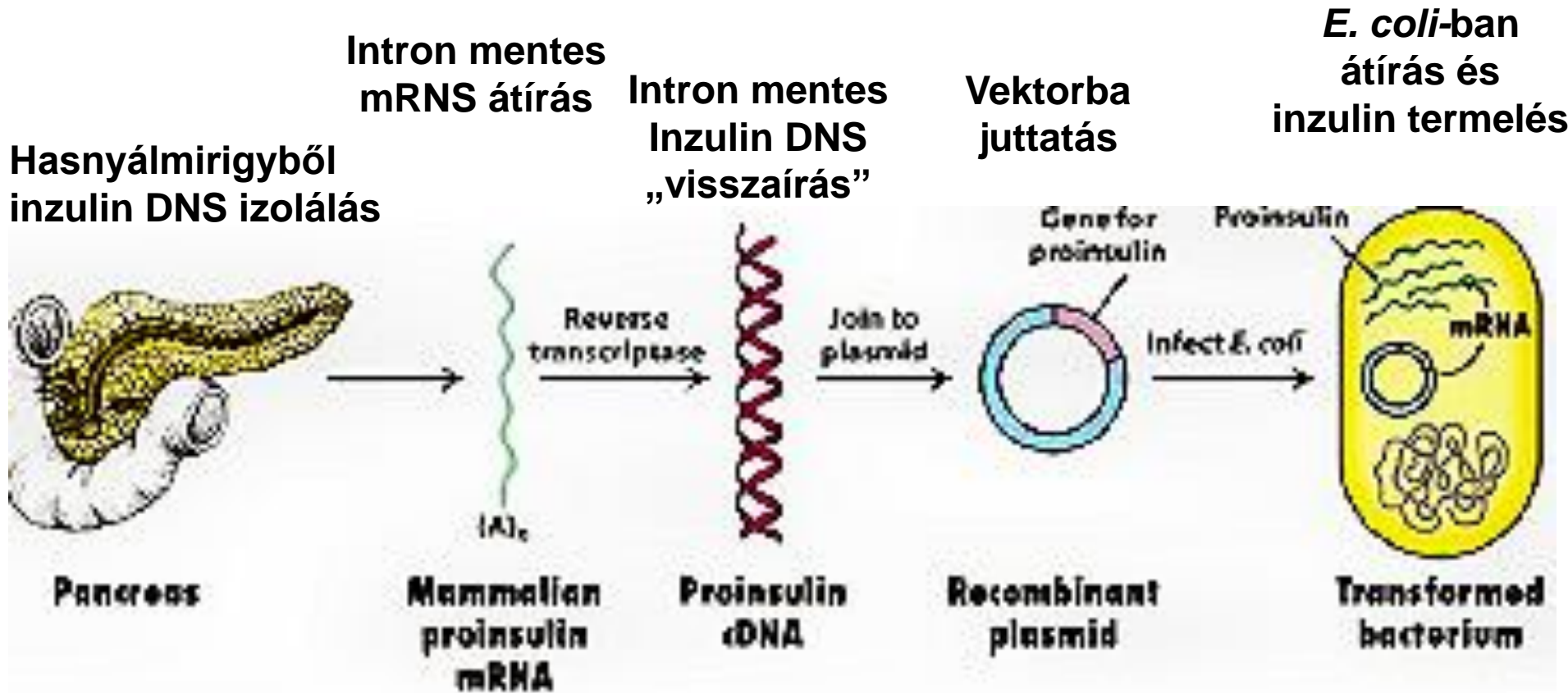
Jobbra: az arany rizs csírasejtjeiben zajló karotinoid bioszintézis egyszerűsített vázlata. Nárciszból származó fitoén szintáz és Erwinia uredovora talajbaktériumokból származó fitoén deszaturáz (crt1) enzim fehérjék génjeinek bevitelével valósították meg [1,2].



Mi értelme van idegen DNS-t bejuttatni egy élőlénybe?

Az inzulin baktériumokkal történő előállításának példája

- Az inzulint meg lehet termeltetni *Escherichia coli* baktériumokban.
- (Kihívás: az inzulin tartalmaz intronokat és átesik poszttranszlációs módosításon is.)



A humán inzulin (proinzulin) előállítása E. coliban. Genentech, 1978, Humulin



Mi értelme van idegen DNS-t bejuttatni egy élőlénybe?

- Genetikai betegségek gyógyítása
- Bakteriális fertőzések gyógyítása fág terápiával
- Például egy genetikai betegséget szeretnének modellezni, és a gén hibás változatát juttatják be a kísérlethez felhasználni kívánt sejtekbe.



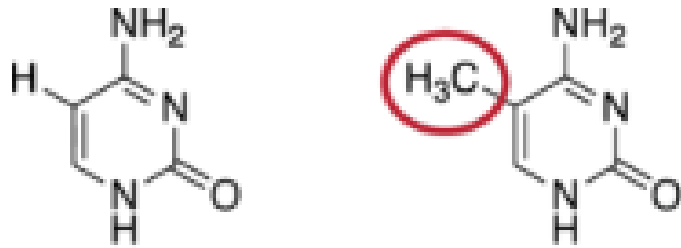
Miért van szükség vektorokra az idegen DNS sejtbe juttatásához?

- A DNS és a sejtmembrán felszíne egyaránt negatívan töltött. Ezért taszítják egymást.
- A sejtmembrán pórusain csak egy bizonyos mérettartomány alatti molekulák tudnak passzívan átjutni.
- Ha sikerül is legyőzni ezt a taszító hatást és a bejuttatni kívánt DNS méretének megfelelő pórusokat nyitni a membránon (kémiai vagy elektros kezeléssel), akkor is számolni kell még a sejt saját “immunrendszerével”. A sejtek ugyanis sokszor védekeznek az idegen DNS vagy RNS sejtbe kerülése ellen, hiszen ez akár egy vírusfertőzés következménye is lehet.
- A vírusok is vektorok, csak az esetek többségében nem az ember által irányított célokat szolgálnak.



Hogyan védekezhetnek a sejtek az idegen DNS ellen?

- Azért fontos erre kitérni, mert a bejuttatni kívánt DNS-t a sejt „immunrendszerétől” általában meg szeretnék védeni.
- Egyrészt léteznek az idegen DNS-t felismerő és feldaraboló enzim fehérjék, pl. a baktériumokban a **restrikciós endonukleázok**. Ezek részét képezik a baktériumok „immunrendszerének”. (Ezekről az enzimekről mindjárt részletesen mesélek.)
- A baktériumok metil csoporttal látják el a saját DNS-üket (metilezés vagy metilálás a szakirodalomban), az őket támadó vírusok DNS-e viszont nem metilezett. Ez alapján tudnak a restrikciós endonukleázok a saját és az idegen DNS között különbséget tenni.
- A metilezett DNS-t a legtöbb restrikciós endonukleáz nem hasítja el (de vannak kivételek).



Balra: a DNS metilálása az esetek túlnyomó többségében a citozin (C) bázisokra egy “extra” metil csoport felkerülését jelenti. Kivételes esetben az adein (A) bázisok is metilálódhatnak.

Cytosine methylated Cytosine



A genetikai módosítások a maradandóság szempontjából

- **átmenetiek** (tranzienst) vagy **stabilak** lehetnek.
- **Átmeneti**: a bevitt géneket a sejtek átírják és kifejezik (expresszálják), de a kívülről bevitt információ nem épül be a genomi DNS-ükbe. Emiatt a DNS módosítást – vagyis az új tulajdonságot - sejtosztódáskor nem örökítik tovább.
- Pl. “a koronavírus” (SARS-CoV-2) egy olyan egyszálú RNS vírus, amelyről nem keletkezik DNS másolat, ami bépülhetne a gazdasejt DNS-ébe (nem tartalmazza a reverz transzkriptáz enzimet, tehát “nem tud rácáfolni a genetika centrális dogmájára”. Tegyük fel, hogy van olyan fertőzött sejt, ami túléli a vírusfertőzést – ebben az esetben a vírus által létrehozott genetikai módosítást átmenetinek nevezhetjük, amit a sejt a soron következő osztódásakor nem örökít tovább.
- **Stabil**: az idegen gén beépül a módosítani kívánt sejt genomi DNS-ébe. Emiatt a bevitt információ a sejtosztódások során tovább is örökítődik. Stabil módosítás a genomi DNS-t érő mutáció is. (Nem minden genetikai módosításhoz van szükség vektorokra, pl. az UV sugárzás vagy a rákkeltő kismolekulák vektor nélkül is képesek a DNS-t módostani.)

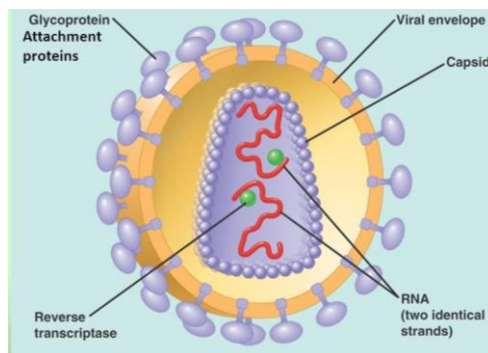


(Embertől független) génmódosítás vírusfertőzéssel

Retrovírusok: genetikai információjuk **stabilan beépül** a megfertőzött sejt genomi DNS-ébe (pl. HIV)

Adenovírusok: DNS-ük a sejtmagon belül a kromoszómák mellett szabadon helyezkedik el, lemásolódik és a vírusfehérjéket kódoló gének átíródnak,
DE nem épül be a genomba → **átmeneti (tranzien) módosítás**,
Sejtosztódás esetén az utódsejtek nem öröklék a vírus DNS-t.

Megj.: az adenovírusok többnyire légzőszervi megbetegedéseket okoznak (pl. megfázás → légcsőhurut → tüdőgyulladás).



A HIV vírus keresztmetszeti ábrázolása



Idegen DNS célsejtbe juttatásával kapcsolatos fogalmak

- Transzformálás: idegen eredetű DNS bejuttatása a célsejtbe.
- Transzdukció: idegen, vírus eredetű DNS bevitele a célsejtbe.
- Kompetens sejt: laboratóriumi körülmények között a transzformálásra előkészített sejt vagy sejtkultúra.



Mit használhatunk vektorként?

1. Plazmidokat. A plazmidok **nem élőlények**, még a vírusoknál (a vírusok sem tekinthetők élőlénynek) is egyszerűbbek, mert tokjuk sincsen, csak DNS-ük. Kicsi, „gyűrűs” DNS darabok, melyek a kromoszómától függetlenül másolódnak a sejtekben. Anyagcseréjük nincs, semmi mást nem tudnak, csak duplikálódni. (bevihető: 1-10 kb).

2. Vírusokat. Ezen belül megkülönböztethetjük a →

Bakteriofágokat: Ezek is tulajdonképpen vírusok, de a baktériumok vírusai, és sokkal egyszerűbben működnek, mint pl. az emlős vírusok. (bevihető: 10-23 kb)

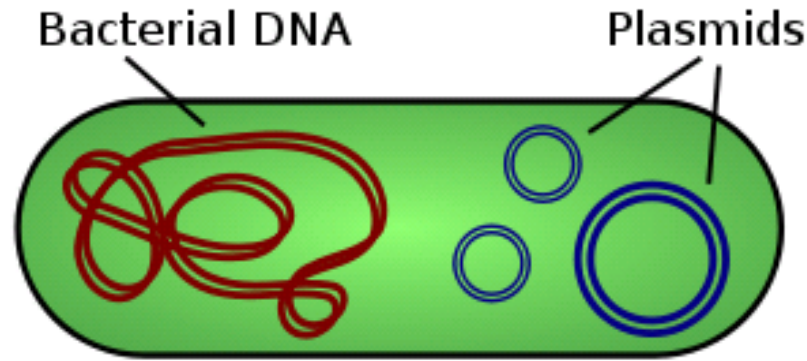
És más vírusokat: Ez alatt azt értjük, hogy minden élőlénynek, az élesztőknek, a növényeknek, az emlősöknek mind megvannak a maguk vírusai, amelyek a megtámadott sejtek tulajdonságaihoz alkalmazkodtak.

3. Mesterséges kromoszómát. Alkalmazhatunk mesterségesen létrehozott baktérium kromoszómát is (~300 kb).

kb: kilobázispár = 1000 bázispár, a DNS hosszúságának mérőszáma.



Plazmidok, (embertől független) génmódosítás plazmid átadásával



- Plazmidok: a genomi DNS-től (kromoszómától) függetlenül létező és attól függetlenül lemásolódó, “önmagukba visszazáródó” (cirkuláris) DNS darabok.
- Nagyon sok baktérium sejt tartalmaz plazmidokat. De akár eukariótáknak is lehetnek plazmidjaik (pl. élesztő sejteknek).
- Nem feltétlenül szükségesek a sejt életben maradásához, de bizonyos környezeti hatások kivédésében előnyt jelenthetnek. Tekinthetőek a vírusokhoz hasonlóan “önző” DNS szakaszoknak. Az “önzés” itt legtöbbször abban nyilvánul meg, hogy gyakran a gazdasejt túlélését segítő géneket hordoznak.
- Kódolhatnak pl. antibiotikum rezisztencia géneket, toxinokat, anyagcserében fontos extra fehérjéket.
- Számuk a sejtben 0-néhány 100 darab között változhat.
- **Horizontális génátadás: nem szaporodás útján (szülő → utód), hanem két független sejt között történő génátadás.**

Hogy néznek ki “közelebbről” a plazmidok?

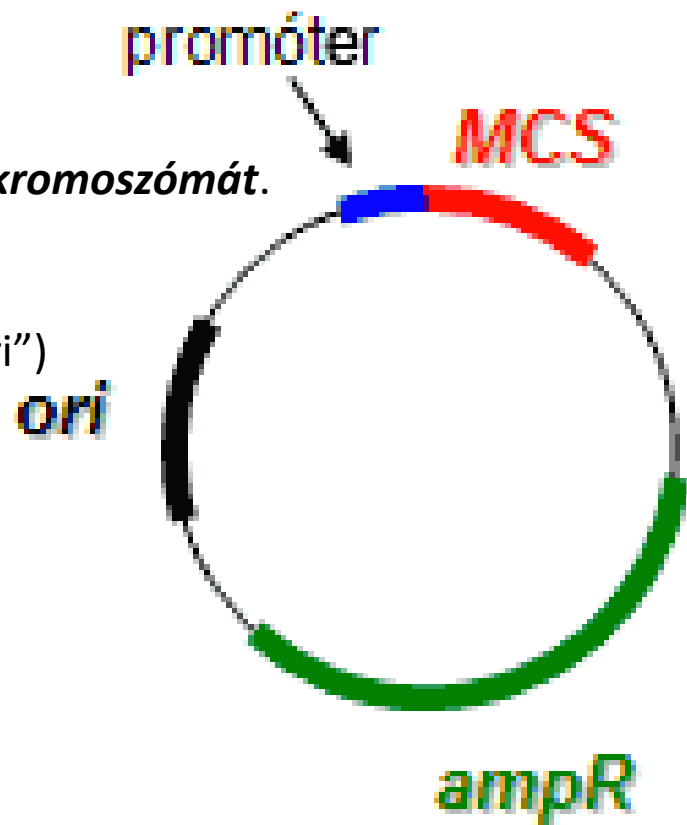
- Plazmidoknak nevezzük a baktériumokban, egyes élesztőkben, algákban és növényfajokban található, a **kromozómáktól független DNS darabokat**.
- A plazmidok általában gyűrű alakú és kettősszalú DNS-molekulák.
- A plazmidokban található gének a kromozómáktól eltérő tulajdonságokat hordoznak.
- Génmanipulációnál ezt használják ki:
Egyszerűbb egy kis plazmid génjeit „átszabni”, mint a teljes kromozómát.

Egy plazmidnak minden esetben tartalmaznia kell:

- A saját lemásolásának kijelölt helyét (replikációs origó, “ori”)

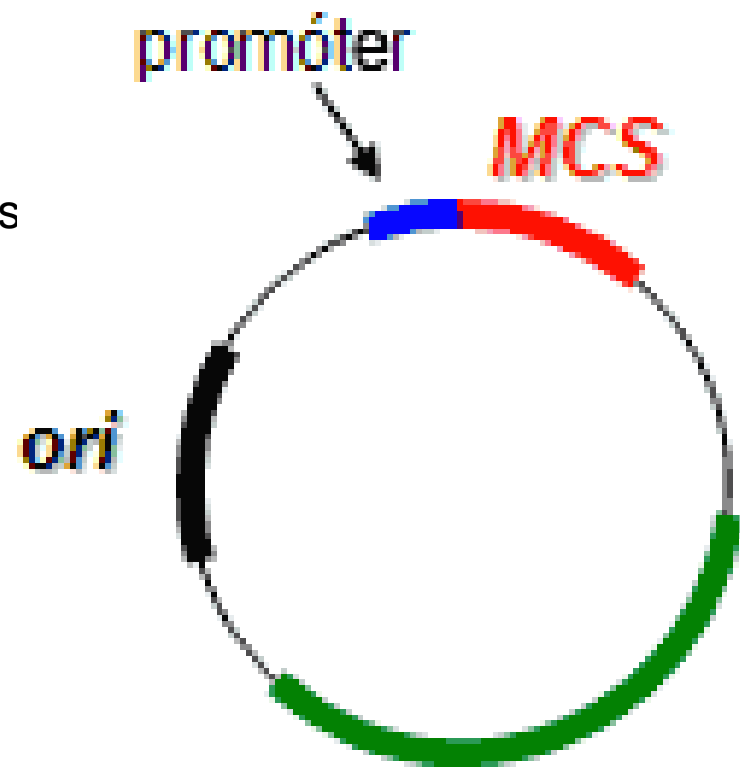
Egy plazmid rendszerint tartalmazza:

- A rajta kódolt információ átírásának (mRNS → fehérje) kezdő- és végpontját (promóter régió).
- A plazmidon belül több, fehérje felépítésre vonatkozó információt kódoló szakaszt. Pl. antibiotikum rezisztenciát kódoló génszakasz vagy szakaszok (ampR = ampicillin rezisztencia).



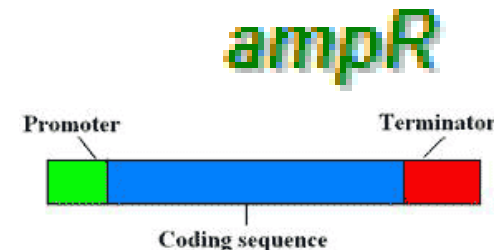
Hogyan működnek a plazmid vektorok?

- ori = replikációs origó, ez a DNS másolás kezdőpontjának helye.
- ampR = ampicillin rezisztencia gén.
- A rezisztenciát a plazmidot felvett sejtek szelektálására használjuk ki.
- MCS = multiple cutting/cloning site = (többféleképpen) felvágható szakasz = itt lehet felnyitni a gyűrűt, és beilleszteni, amit akarunk.



A plazmid vektorok jellemző részei:

- Replikációs origó – a plazmid DNS duplikációjának kezdőpontja, enélkül nem tud sokszorozódni a plazmid
- Promóter szakasz - itt indul a kiírás mRNS-re (ld. operon)
- Célgén(ek) – ezek által kódolt fehérjét akarjuk előállítani a sejttel
- Terminátor szakasz – ez zárja le a kiírandó gének sorát.
- Marker gén(ek) – a sikeresen bevitt és működő géneket tartalmazó sejtek szelektációját segítik, pl. antibiotikum rezisztencia → antibiotikumot tartalmazó tápoldaton csak a plazmidos sejtek növekednek, a többi elpusztul.



Mesterséges génátvitel vektorokkal

Használjuk fel a természet megoldásait!

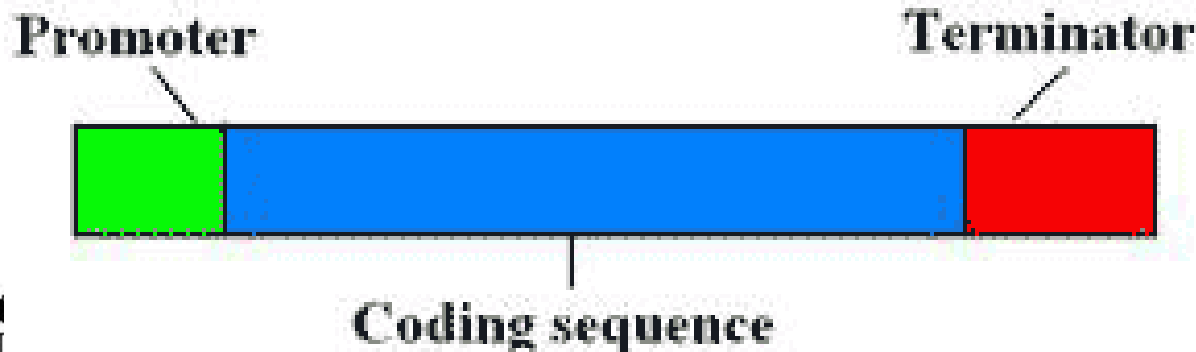
Klónozó vektorok: csak a gén(ek) bevitelére és sokszorosítására alkalmasak, a rajtuk kódolt információ kiírását nem segítik elő. Használhatóak **genetikai könyvtárnak** is.

Expressziós vektorok: a bevinni kívánt gén(ek) mellett azok szabályozott kiírásához szükséges DNS szakaszokat is tartalmaznak → A célgén és a szabályozó szakaszok együttesét hívják expressziós kazettának vagy keretnek.

Az **expressziós keret** részei:

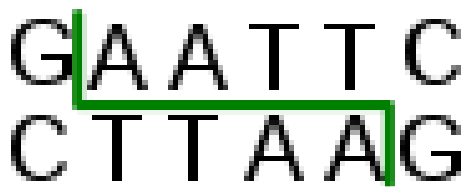
1. a célgén előtti **promóter szakasz**,
2. a **célgén**,
3. a célgén utáni **terminátor szakasz**.

*Mi a szerepe a promóter és a terminator szakasznak?
A DNS szakasz átírására vonatkozó információt tartalmaznak.*



Hogyan ültethetőek be egy vektorba a tetszésünk szerinti fehérjét kódoló gének? Restriktációs endonukleáz enzimek segítségével.

- A DNS-t speciális felismerési helyeknél elhasítani képes enzimek.
- Baktériumok és archea baktériumok „immunrendszerének” részét képezik.
- A prokariótát ért vírusfertőzés esetén a számukra specifikus DNS szakasznál (szekvencia részletnél) elhasítják a vírus DNS-t.
- A sejt metil csoportokkal jelöli meg a saját DNS-ét.
- A „metilezett” DNS-t a legtöbb restriktációs enzim nem képes elhasítani.



EcoRI hasítóhely



SmaI hasítóhely

- A hasítóhelyek tükörképi = palindrom szekvenciák.



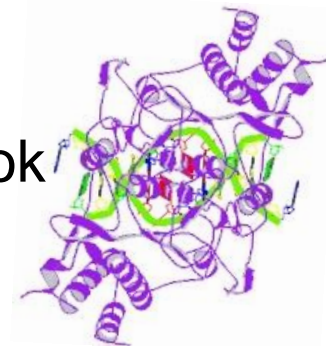
Vége a 6. előadásnak, idáig jutottunk 2020. 03. 23-án a tananyagban.



Restriktíós enzimek

Számunkra molekuláris ollók, a bakteriofágok számára molekuláris piranha-k.

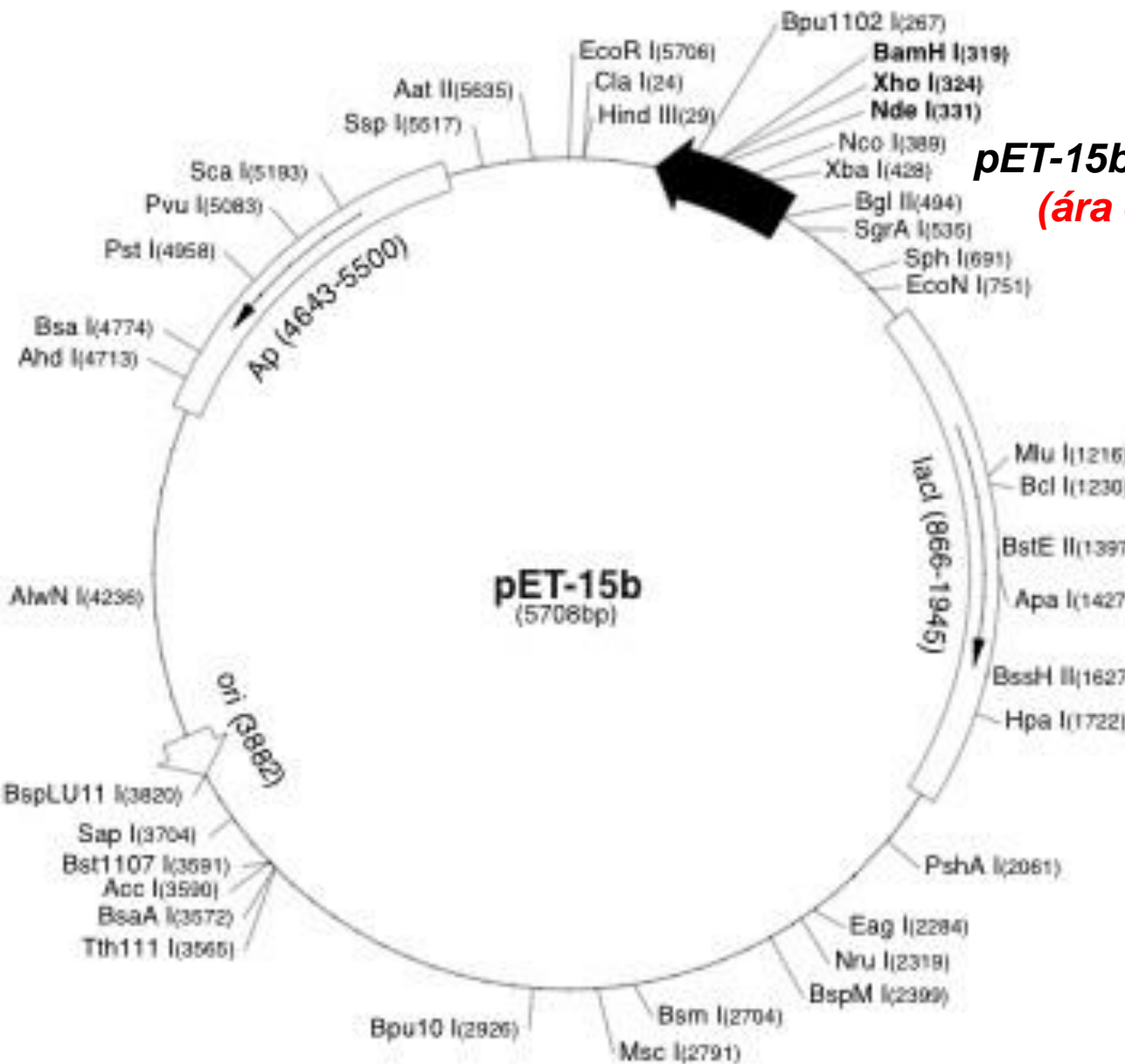
Nevezéktan és specifitás...



Mikroorganizmus	Enzim	szekvencia 5' → 3'	Bontási helyek száma			
			λ	Aα 2	SV40	φx174
<i>Arthobacter luteus</i>	AluI	AG↓CT	>50	>50	35	24
<i>Brevibact. albidum</i>	BalI	TGG↓CAA	15	17	0	0
<i>H. aegypticus</i>	HaeIII	GG↓C'C	>50	>50	19	11
<i>H. parainfluenzae</i>	HpaI	GTT↓AAC	13	6	4	3
<i>Serr. marcescens Sb</i>	SmaI	CCC↓GGG	3	12	0	0
<i>B. amyloliquefaciens H</i>	BamHI	G↓GATC'C	5	3	1	0
<i>E. coli RY13</i>	EcoRI	G↓AA'TTC	5	5	1	0
<i>H. influenzae Rd</i>	HindIII	A'↓AGCTT	6	11	6	0
<i>H. parainfluenzae</i>	HpaII	C↓C'GG	>50	>50	1	5
<i>K. pneumoniae OK8</i>	KpnI	GGTAC↓C	2	8	1	0
<i>X. holcicola</i>	XhoI	C↓TCGAG	1	6	0	1



Restriktációs enzim hasítóhelyek egy kereskedelemben kapható plazmidon

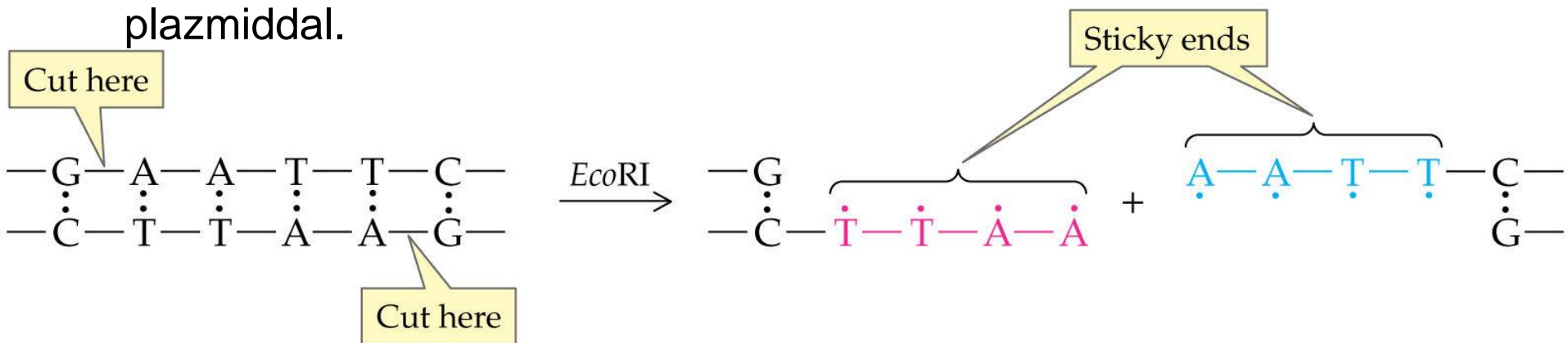


**pET-15b, egy mesterséges plazmid
(ára egyéni árképzés szerint alakul...)**

Hogyan vihetők át gének plazmidokkal?

1. Az átvenni kívánt gén izolálása: a hordozó sejt DNS-ének feldarabolása, a keresett gén izolálása
2. Beépítés a plazmid DNS-be. „Szabás-varrás” Kell hozzá olló és ragasztó. „Olló:” enzimek, restrikciós endonukleázok. A kettős szálú DNS-t hasítják, de csak bizonyos helyeken. Tükörképi DNS szakaszoknál (palindrom szekvenciák) „ragadós véget” hoznak létre.

A célgén két végét ugyanazzal az egy vagy két restrikciós enzimmel kell megvágni, mint amivel/amikkel az “üres”, lezárt plazmidot felnyitjuk, hogy a célgén és a plazmid végei egymásba illeszthetők legyenek (“ragadós végek” keletkezzenek). “Össze kell legózni” a célgént a felnyitott plazmiddal.



Hogyan vihetők át gének plazmidokkal?

3. Bevitel a gazdasejtbe:

- kémiai és/vagy
- elektromos hatásokkal (vö. a *protoplaszt fúzióval*)

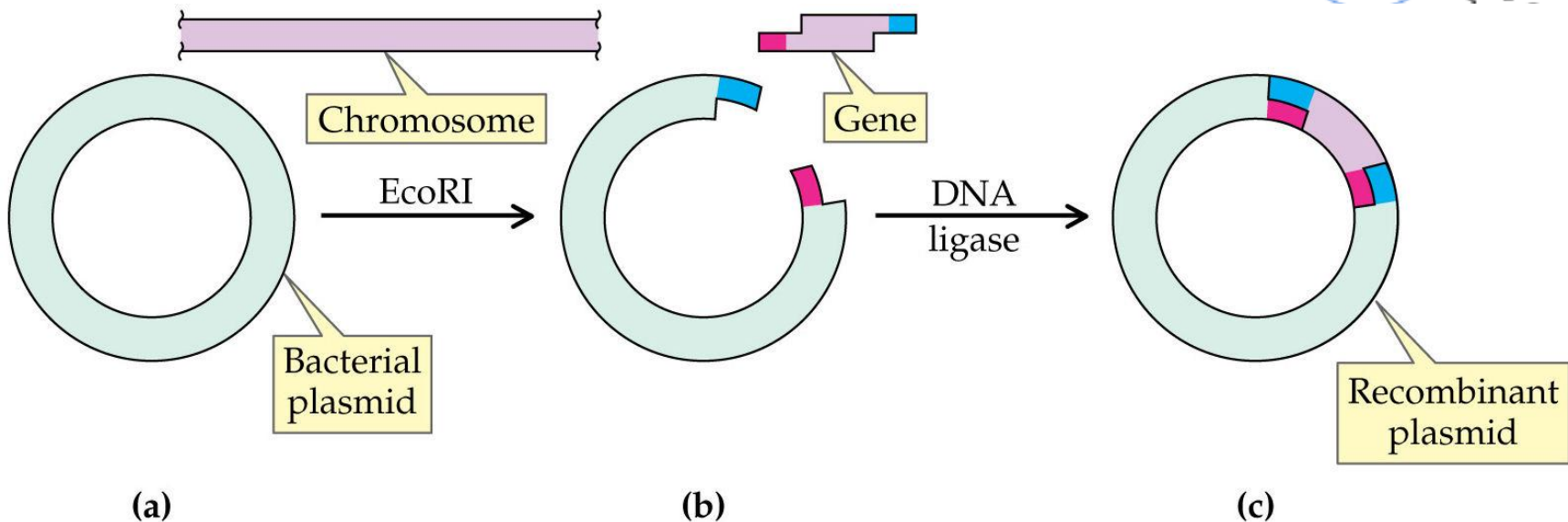
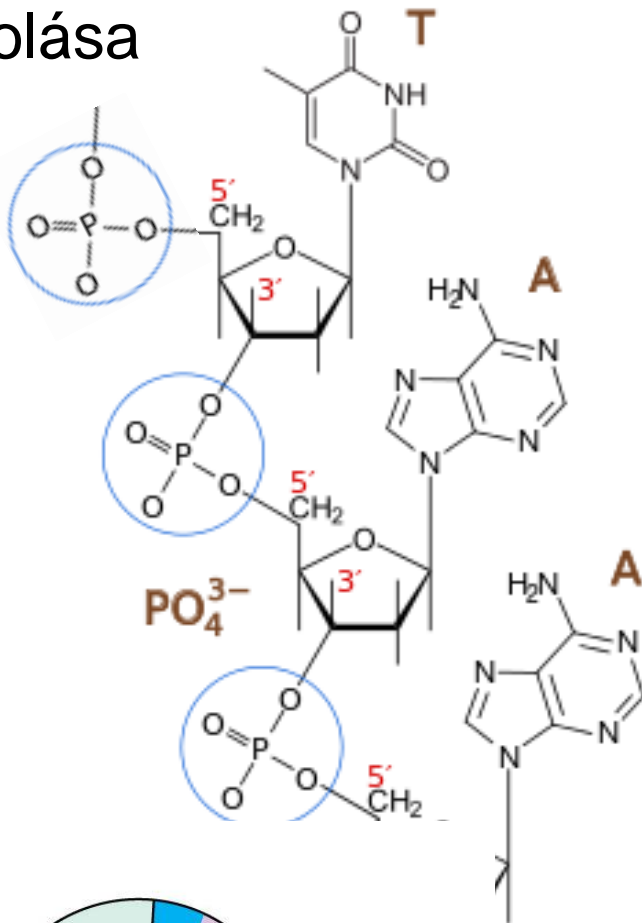
4. Manifesztáció + szelekció: a kívánt gén mellé egy marker (nyomjelző) gént is beépítenek (pl. antibiotikum rezisztencia), ami segít kiválasztani azokat a sejteket, ahol megtörtént a beépülés, és „működik” a plazmid. Az adott antibiotikumot tartalmazó táptalajon csak a rezisz-tenciagént (azaz a plazmidot) tartalmazó sejtek indulnak növekedésnek.

Ez a jelző (marker) gén – például antibiotikum rezisztencia – már benne szokott lenni a kereskedelemben kapható “üres” plazmidban.



Ragadós végek készítése és összekapcsolása

- A ragadós végek maguktól is összetapadnak.
- Ez az egymással szembe kerülő komplementer bázisok (A-T és C-G) közötti hidrogén-kötések spontán kialakulását jelenti.
- De a DNS cukor-foszfát alapláncának összekapcsolásához még **kell egy enzim (T4 DNS-ligáz, "ragasztó")**.
- A plazmidba beültetni kívánt DNS szakasz két szélére **PCR reakcióval is készíthetünk restriktions enzim hasító helyeket**. Ez akkor használatos, ha az expressziós kazetta csak a plazmidba illesztéskor áll össze.

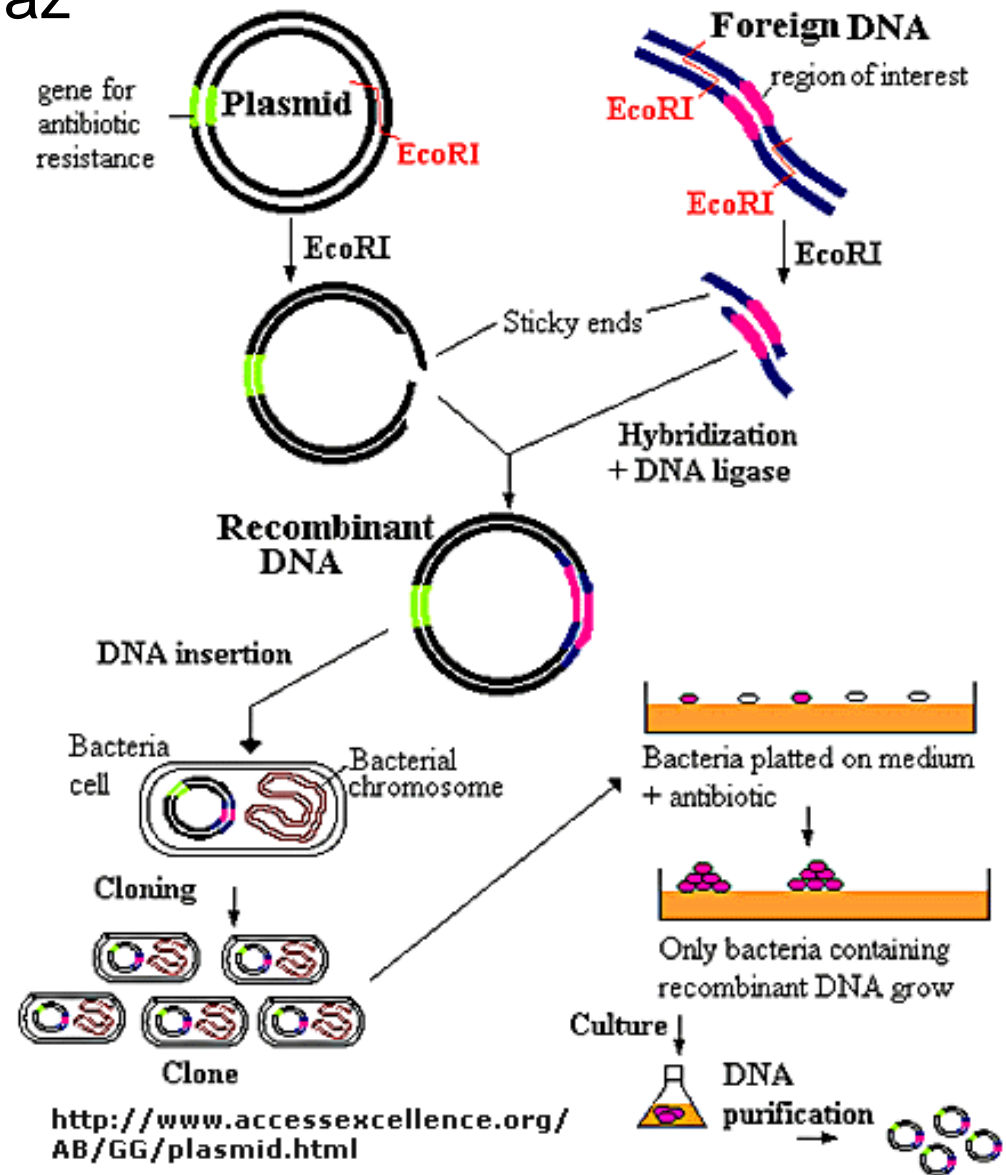


Idegen DNS sejtbe juttatása – az előbb ismertetett lépések folyamatábrája

Ezzel az eljárással a prokariótákba és eukariótákba is szinte bármilyen gént be lehet vinni.

Cél: fehérjetermelés

- hormonok
- vakcinák
- enzimek
- immunfehérjék
- vérfehérjék



Cloning into a plasmid



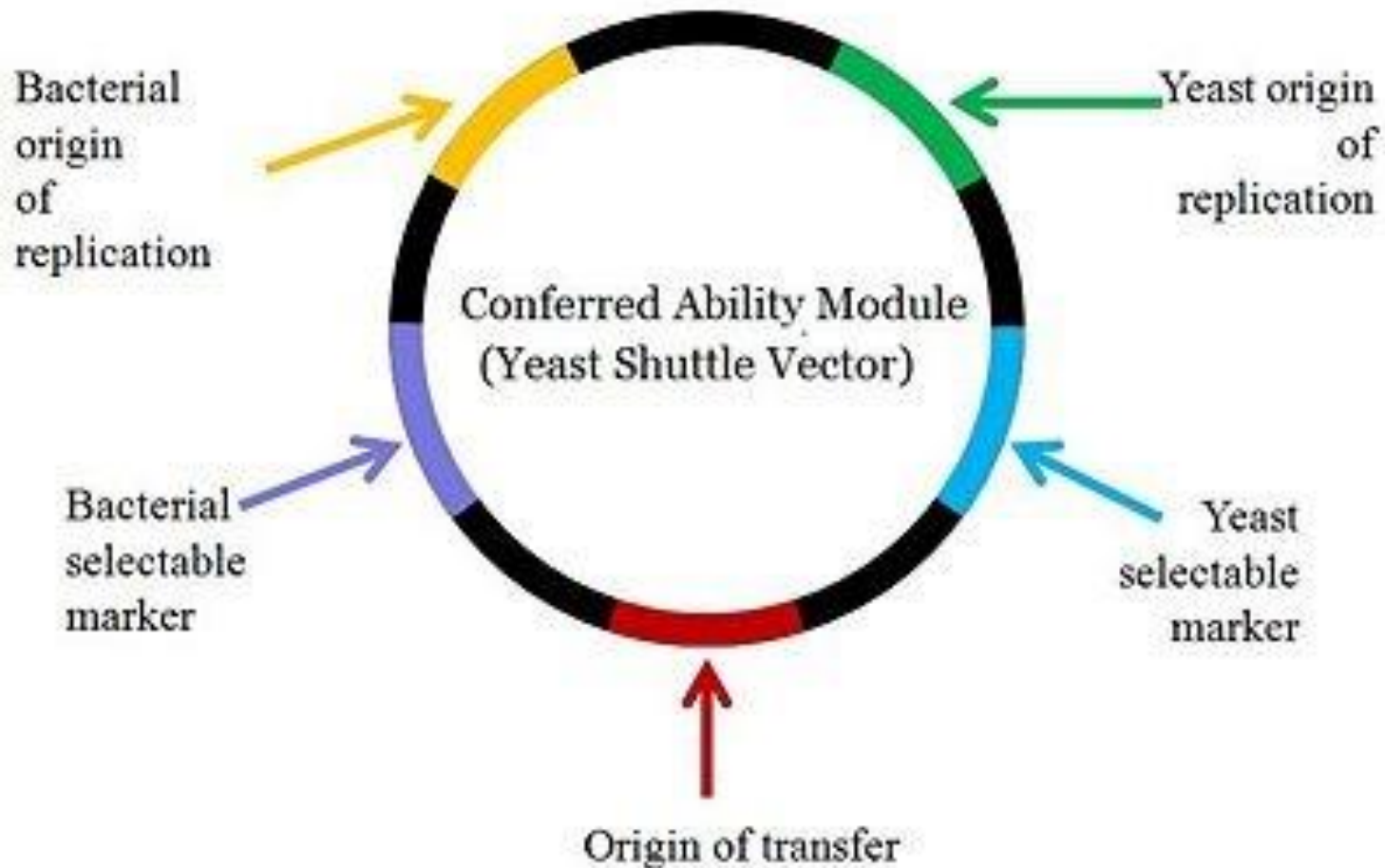
Ingázó (shuttle) vektorok

Az eukarióták plazmidjai és vírusai másképpen másolódnak le (sokszorozódnak), mint a prokariótáké, másfajta replikációs origójuk van. Az eukarióta sejtek génmanipulációjához tehát más vektorokra van szükség. Sokszor viszont baktériumokból kell át-vinni géneket eukariótákba – és vissza. Ehhez olyan vektorokra van szükség, amelyek mindkét sejtípusban szaporodni tudnak. Ezekben kétféle replikációs origó található, egy a prokarióta és egy az eukarióta sejtekhez.

Emellett a rezisztencia markerek is különbözők, másfajta antibiotikumok hatékonyak a prokarióták és eukarióták ellen → kétféle rezisztencia gént kell beépíteni.



Ingázó (shuttle) vektorok



Génátvitel *Agrobacterium* plazmidokkal

Az *Agrobacterium*ok 4 faja ismert:

1. *Agrobacterium tumefaciens*: gyökérgolyva, koronagubacs. A sérülések helyén alakul ki fertőzés.

A Ti plazmid nem differenciált szövetburjánzást idéz elő. A sejtek olyan anyagokat termelnek amelyeket a baktérium felhasznál.



2. *Agrobacterium rhizogenes*: RI (root inducing) plazmidja vattaszerű hajsálgökér burjánzást okoz.
3. *Agrobacterium rubi*: gyümölcsfánál, málnánál gyökérgolyva, vesszőgolyva
4. *Agrobacterium radiobacter*: plazmidja nem okoz betegséget, de antibiotikumot (agrocint) termelő gént hordoz. Ugyanezen a plazmidon található az agrocin elleni rezisztenciát biztosító gén is – megvédi saját magát.



Az *A. tumefaciens* fertőzés

Az *Agrobacterium tumefaciens* egy Gram-negatív növénypatogén talajbaktérium, amely a kétszikű növényeket a sebzési helyeken megfertőzi és tumorokat okoz rajtuk.

A baktériumok patogenitása összefügg a tumorindukáló (Ti) plazmid jelenlétével. A Ti plazmid egy része (transzfer DNS = T-DNS) a kórfolyamat során átkerül a növényi sejtbe és a sejtmag DNS-állományába integrálódik (A T-DNS régióban helyezkednek el a tumorok kialakulásáért felelős gének.)

V.ö.: a HPV (Human papillomavirus) fertőzés emberben szintén kóros sejtosztódást, méhnyakrákot okozhat.

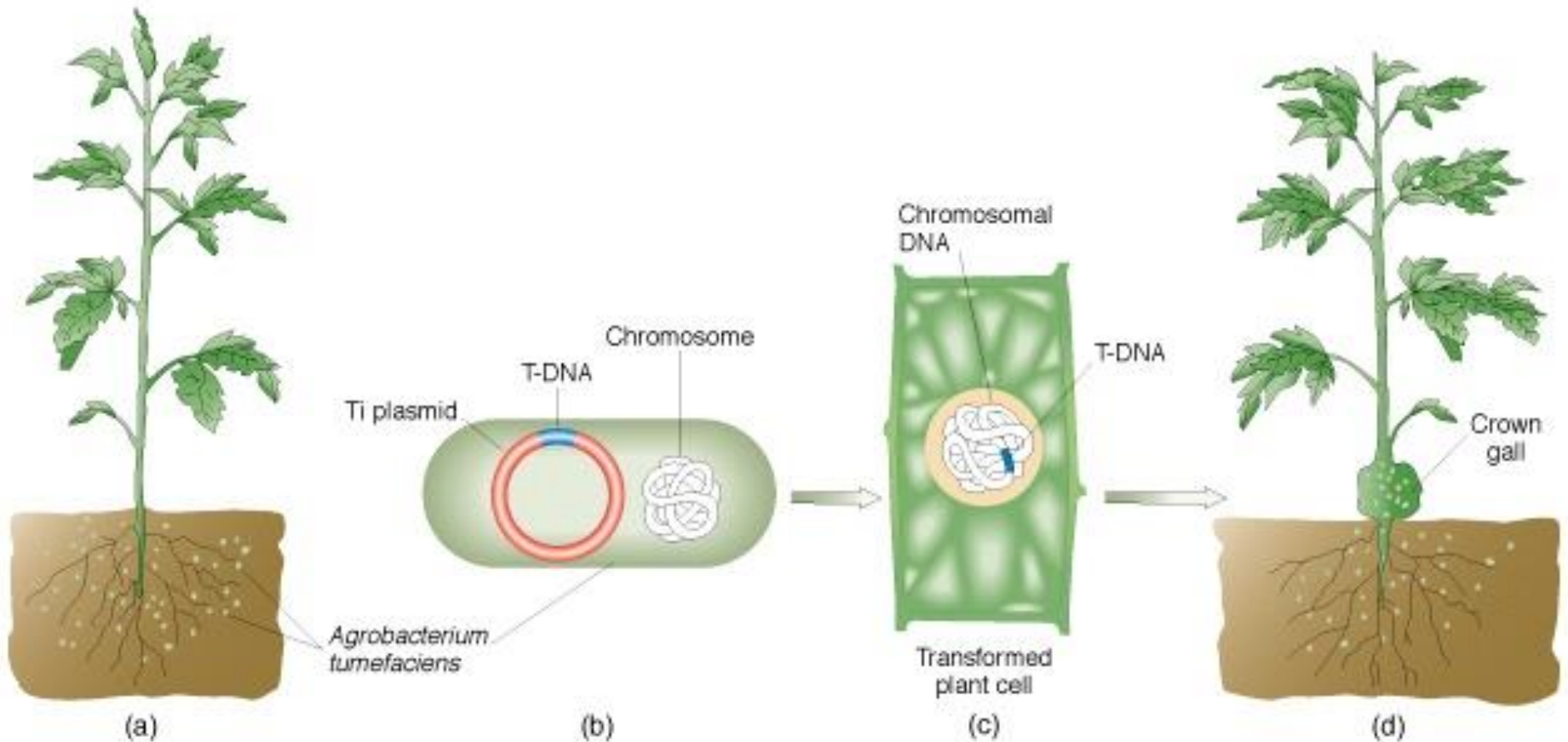


Az *A. tumefaciens* fertőzés

Kétszikűeknél: Az *Agrobacterium tumefaciens* növény-patogén törzs Ti (tumor indukáló) plazmidja a T-DNS szakaszt beépíti a megfertőzött növény kromoszómájába.

Maga a baktérium sejt nem hatol be a növényi sejtbe, csak a növény sejtközötti folyadékával érintkezik.

A növény életben marad, de életműködései, anyagcseréje megváltoznak.



A Ti plazmid

- $1,2 \times 10^8$ molekulatömegű, gyűrű alakú DNS molekula. A baktériumban önállóan replikálódó genetikai egység.
- A plazmid DNS-nek van egy transzformáló (T-) DNS szakasza. Ennek nagysága 20 000 bázispár, ez jut be a gaz-dasejtbe a fertőzést követően, majd stabilan beépül a növényi kromoszómába.
- A sejtburjánzás mellett olyan aminosav származékokat termeltet a növényen, amelyeket az *Agrobacterium* tápanyagként hasznosít, emellett olyan növényi hormonanalógok képződnek, amelyek a gyökér- és szárnövekedést leállítják, ezzel is előnyt adva a tumorsejtek növekedésének.



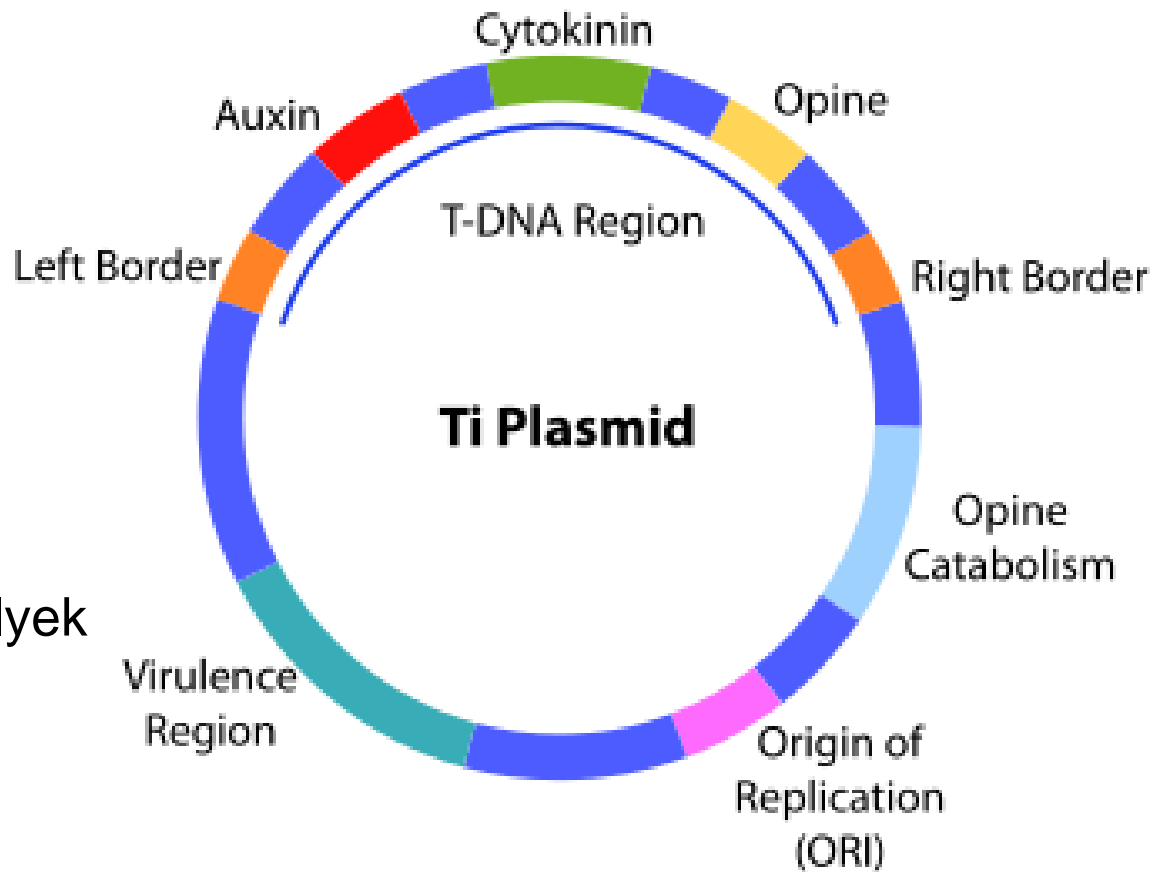
Génátvitel a Ti plazmiddal

- A Ti plazmidok alkalmasak arra, hogy vektorként szolgáljanak „idegen” DNS szakaszoknak a gazdanövények kromoszómáiba történő beviteléhez.
- Ha a T-DNS szakaszba a tumorindukáló gének helyére más géneket építenek be, azok éppúgy integrálódnak a növényi genomba. E rendszer felhasználásával a növények gyakorlatilag bármely génnel transzformálhatók.
- A genomba juttatandó T-DNS szakaszokba általában rezisztencia géneket is elhelyeznek, ami lehetővé teszi a transzformáns növények egyszerű szelektálását.
- Növényeknél értelemszerűen az antibiotikum rezisztencia helyett herbicid rezisztencia géneket alkalmaznak.



A T-DNS felépítése

By MouagipThis W3C-unspecified vector image was created with Adobe Illustrator. - Own work, CC0, <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=18274425>



Határoló régiók: ezek a T-DNS „jobb és bal oldali” végei, amelyek a kromoszómába való integrálódáshoz nélkülözhetetlenek.

- Ezen belül: expressziós kazetta, az elején promóter, a végén terminátor régióval, melyek a gén működését, expresszióját (kifejeződését) teszik lehetővé.
 - Ezen belül:
 - szelekciós marker gén (antibiotikum- vagy herbicid-rezisztencia gén), és a
 - hasznos gén (egy hasznos növényi tulajdonság génje, amit be akarunk vinni a növénybe)

Növényregenerálás

A Ti plazmidokkal be lehet vinni géneket a növényi sejtekbe, de ezek a gének nem jelennek meg az egész növényben, csak a tumorsejtekben, és nem öröklődnek. Ahhoz, hogy minden sejtben megjelenő, öröklődő tulajdonságot kapjunk, ki kell emelni egy tumorsejtet, és abból regenerálni a teljes növényt.

(A protoplaszt-fúziónál már említettük, hogy ez kivitelezhető.)



Növényregenerálás

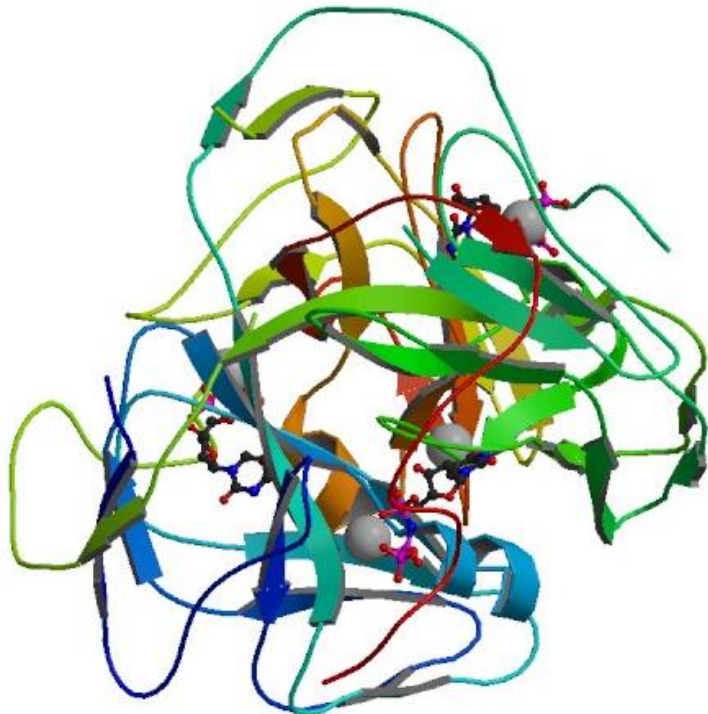
A növényeknél egy sejtől vissza lehet nevelni az egész növényt, a tumorsejtől kiindulva is regenerálható szaporodóképes növény.



Alkalmas lehet-e egy baktérium emberi fehérje termelésére?

Mi értelme van egyáltalán egy emberi fehérjét baktériummal megtermeltetni?

- A baktériumok prokarióták, így a legegyszerűbb, legkönnyebben módosítható anyagcserével rendelkeznek. → a legolcsóbb és leggyorsabb termelés lehetőségét nyújtják.
- Nem állnak fel állatvédelmi aggályok (vö. immunfehérje termeltetése állatokban).
- Nem hordoznak emberre veszélyes vírusokat (vö. vérfehérjék, vérkészítmények).
- Attól függ, hogy a fehérje **tartalmaz-e intront** és az emberben átesik-e a felépítését követő, **poszttranszlációs módosításon**.
- Pl. intronok kivágása (csak eukariótákban), glikoziláció, metilezés, foszforiláció, stb.



Balra: egy kutatási célra *Escherichia coli* BL21 baktérium törzsben előállított emberi fehérje, a **dUTPáz**.

Az emberi dUTPáz nem esik át poszttranszlációs módosításon, így baktériumokkal is megtermeltethető.

Emberi inzulin: tartalmaz intront, de sikerült *E. coli*-val is megoldani a termelését.

Mire való a sejtben a dUTPáz?

Miért kell ipari méretekben inzulint termelni?