



Ugráló gének

KOZMA CSABA, BONYHÁDI PETŐFI SÁNDOR EVANGÉLIKUS GIMNÁZIUM

KOCSA JÁNOS, KESZTHELYI VAJDA JÁNOS GIMNÁZIUM

TÉMAVEZETŐK: ORBÁN TAMÁS, NÉMETHY KORNÉLIA

Transzpozonok= „Ugráló gének”

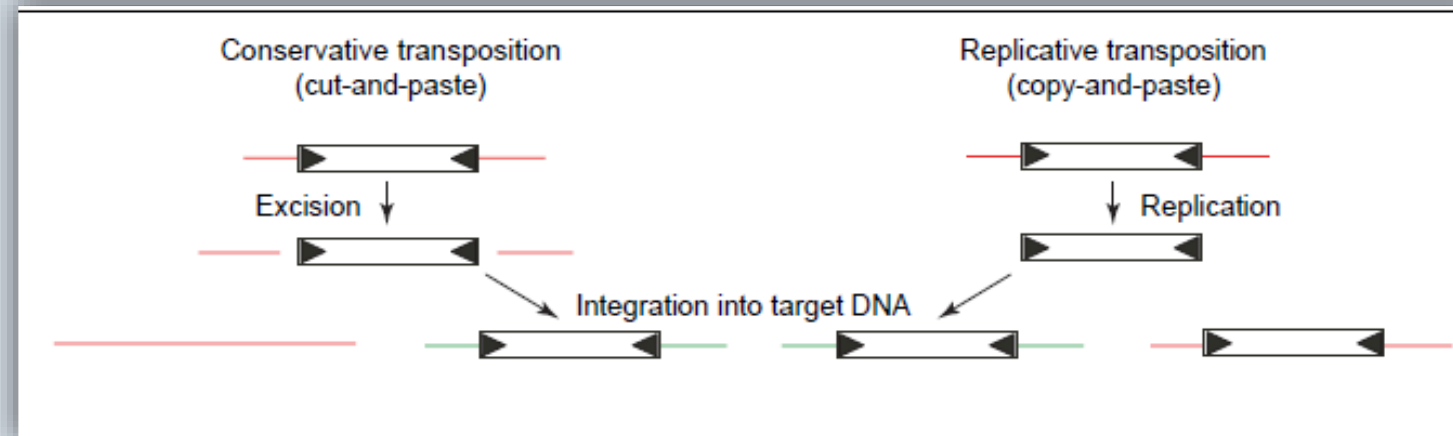
Mobilis genetikai elemek.

Típusaik:

DNS transzpozonok

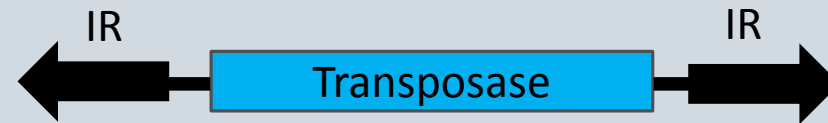
RNS transzpozonok
„Retrotanszpozonok”

Működésük:

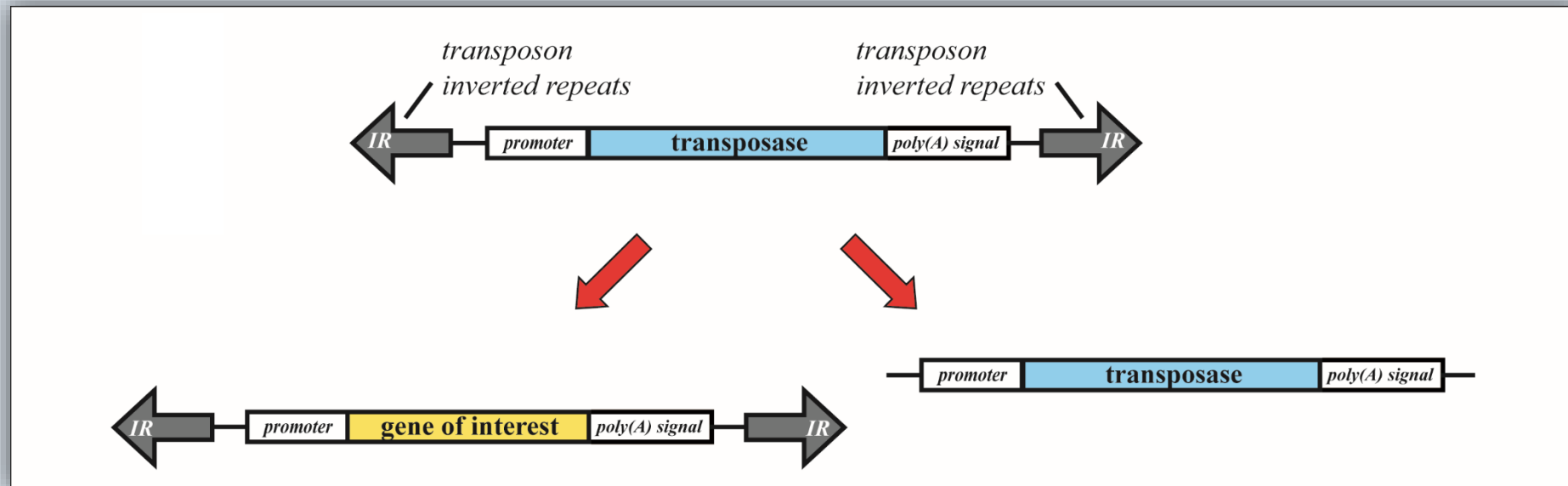


DNS transzpozonok

Felépítésük:



Alkalmazásuk: Génbeviteli eljárásokhoz

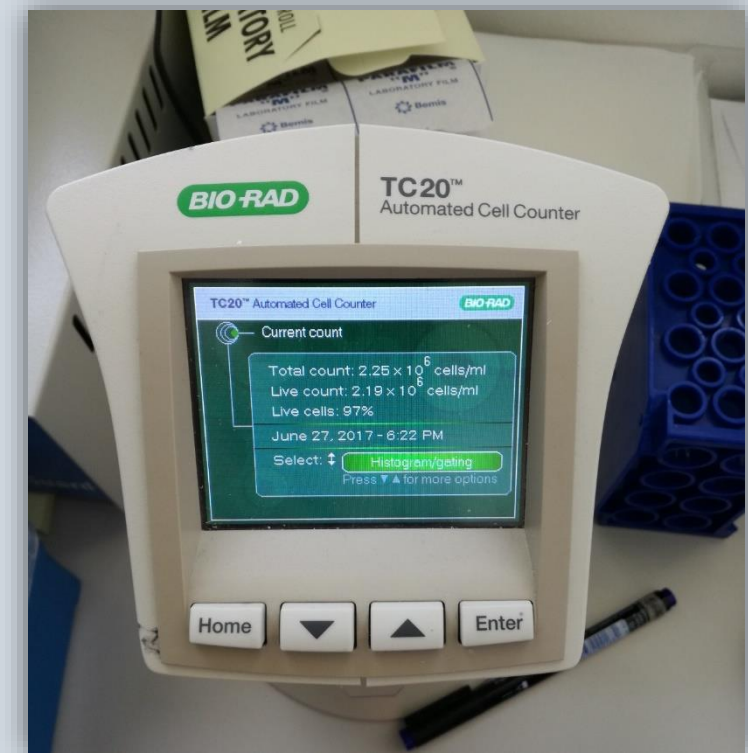


A mi kísérletünk

GFP génjének a bevitele HEK 293 sejtekbe és ennek vizsgálata.

1. NAP

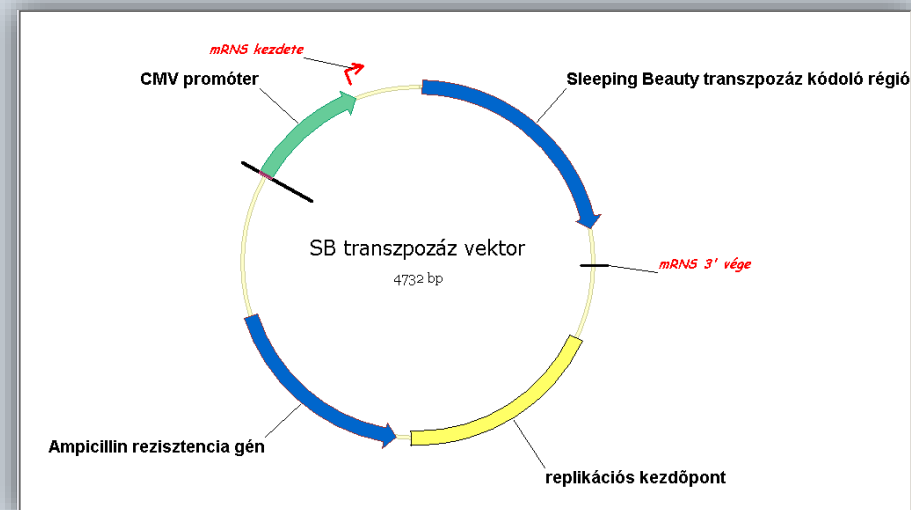
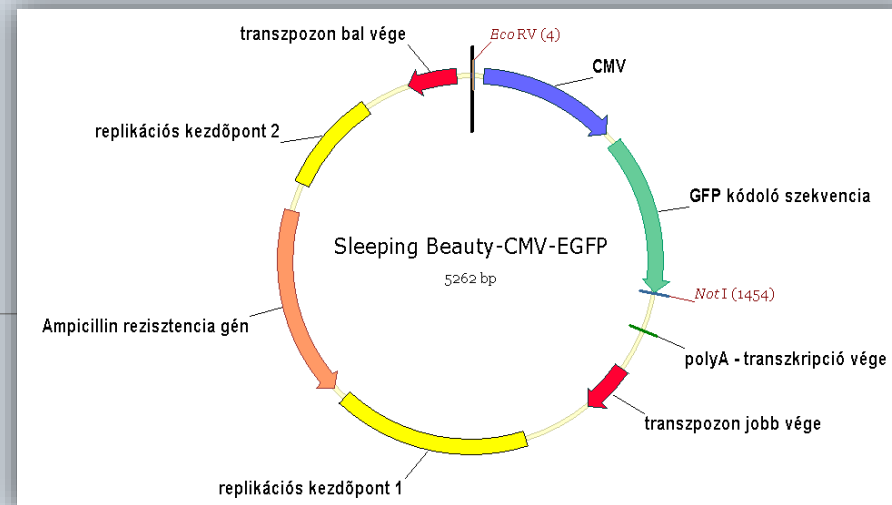
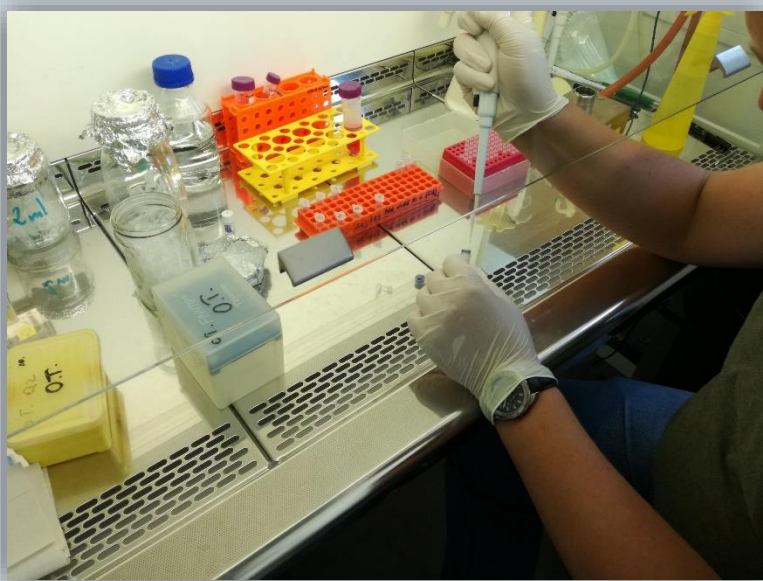
- HEK sejtek felszedése
- Sejtek megszámolása
- 200 000 db/ml sejt tartalmú szuszpenzió készítése
- 2x2 ml sejt inkubálása platen



2. NAP

Transzfektálás

- Két plazmid bejuttatása a sejtbe
- FuGENE reagens + tápoldat
- 1 nap inkubálás



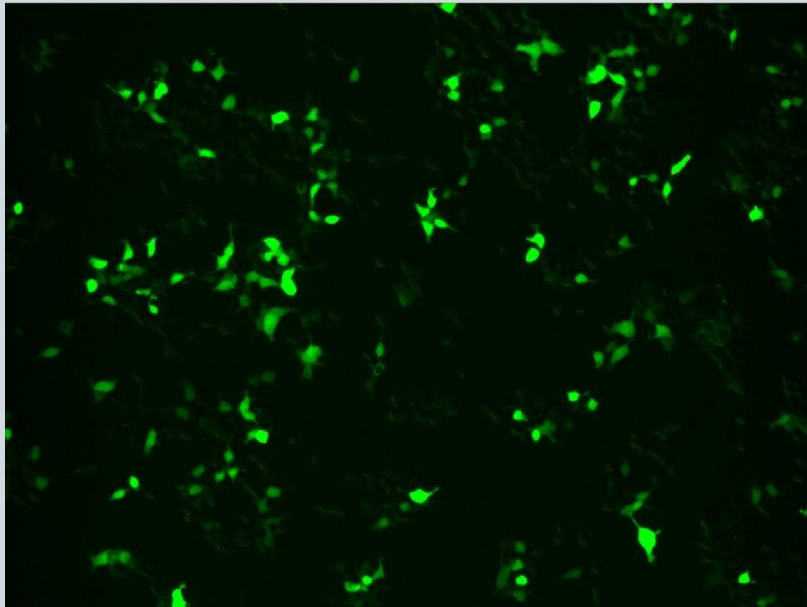
Egyikünk működő a másikunk mutáns transzpozázt kódoló plazmiddal dolgozott.

3. NAP

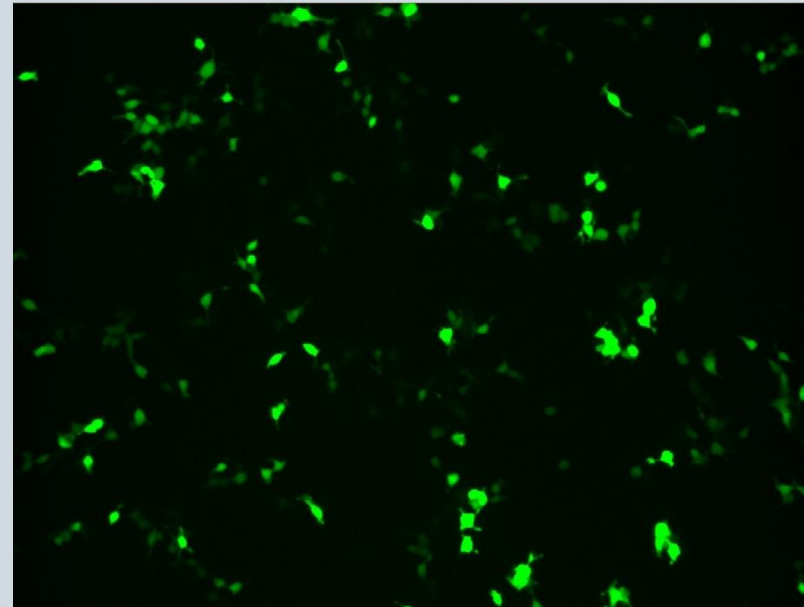
Excíziós esszé

Ezt megelőzően a transzfekeció eredményét ellenőriztük.

JANÓ



CSABA



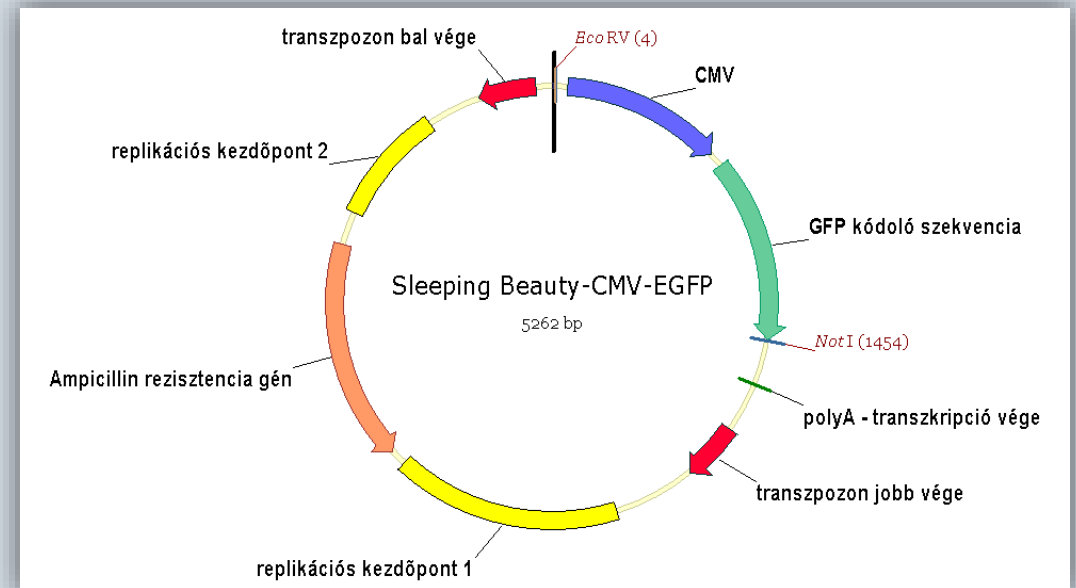
Mindkét mintán fluoreszkálnak a sejtek, mivel a GFP gént tartalmazó plazmid bejutott és expresszáldott a fehérje.

A működő transzpozáz kimutatásához izoláltuk a plazmidokat.

- Kivágja a GFP-t kódoló szekvenciát
- A plazmid megrövidül

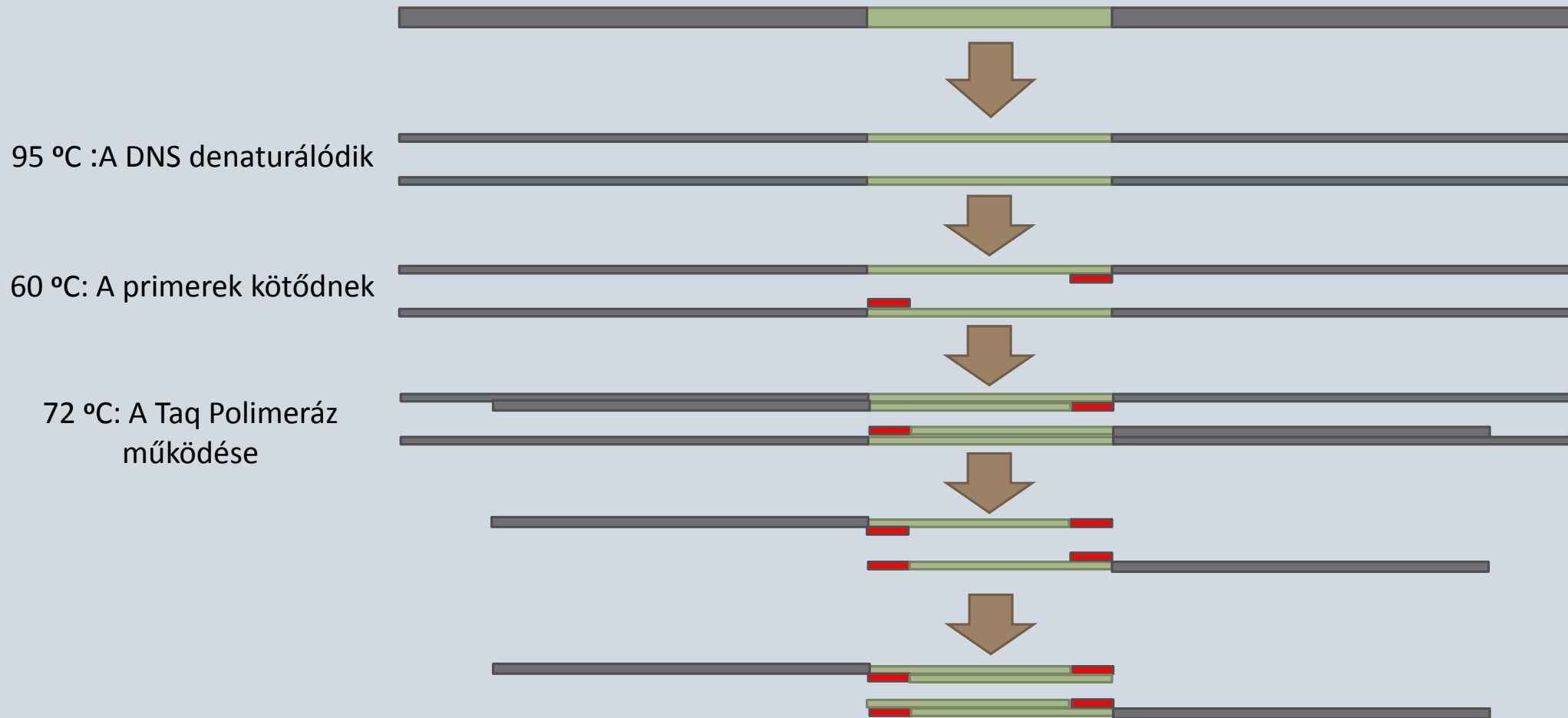
Plazmid izolálása: Izoláló Kittel

Ezt követően meghatároztuk a tisztított plazmid koncentrációját fotométerrel.



PCR a DNS darabok felszaporítására.

A PCR működése:

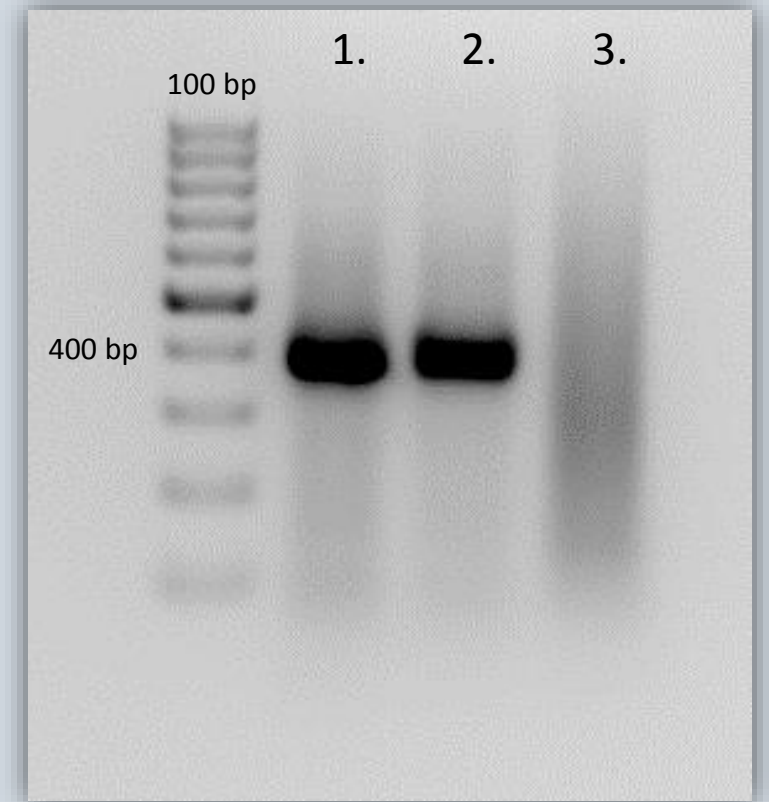
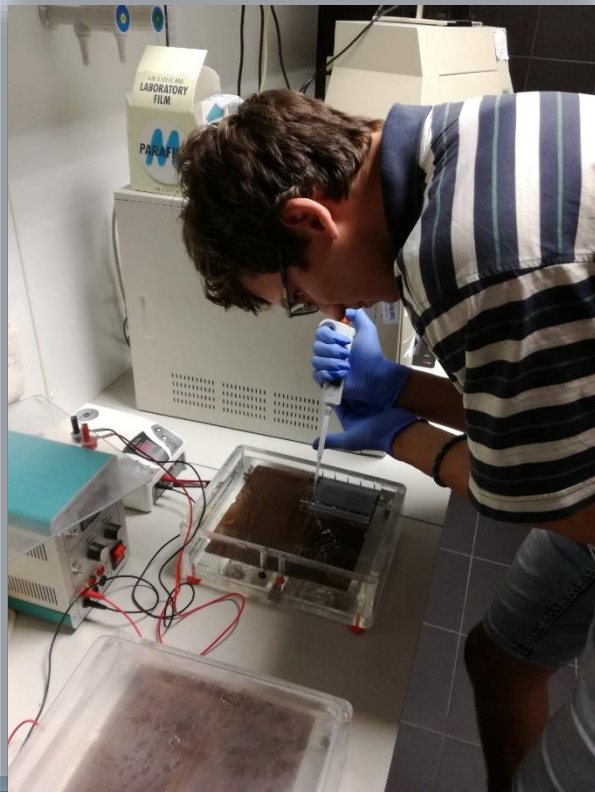


4. NAP

PCR reakcióval a transzpozon végeihez kötődtek a primerek.
A közte lévő rész felszaporodott.

- Működő transzpozáz: Rövid DNS darab
- Mutáns transzpozáz: Nagyon hosszú DNS darab vagy DNS darabkák

Ezeket agaróz gélen futtattuk



- 1. : Kontroll működő transzpozáz
- 2. : Működő transzpozáz /Janó/
- 3. : Mutáns transzpozáz /Csaba/

Köszönjük a Enzimológiai Intézet Molekuláris Genetikai laboratóriumának és a MTA TTK Kutató Központjának a lehetőséget!

Köszönjük még!:

Fóthy Ábel, Wachtl Gerda, **GABI NÉNI**, valamint témavezetőink:
Orbán Tamás és Némethy Kornélia

Odaadó munkáját

