



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Georgikon Campus

Genetika és Biotechnológia Intézet, Mikrobiológia és Alkalmazott

Biotechnológia Tanszék

Mezőgazdasági biotechnológus MSc

nappali tagozat

Allaga Dávid

Rezisztenciagének vizsgálata paprikában

Belső konzulens:

Dr. Taller János

egyetemi tanár

Külső konzulens:

Dr. Frank Krisztián

tudományos munkatárs

Dolgozatom fő célkitűzése volt a TMV és CMV rezisztencia molekuláris genetikai hátterének vizsgálata paprikában, a fertőzéssel előidézett génexpressziós vizsgálatok elemzésével.

Munkánk során elvégeztük a ZKI-ből származó növényanyag RNS tisztítását. Sajnos arra a következtetésre jutottunk, hogy a minták egy részében az RNS degradálódhatott, így korlátozottan alkalmas további vizsgálatokhoz való felhasználásra. A transzkriptom szekvenálást a rendelkezésre álló összes mintán elvégeztük, azonban a továbbiakban csak a rezisztens Kárpát és a Century paprika fajták transzkriptom adatait vizsgáltuk. A kapott adatokat bioinformatikai módszerek segítségével elemeztük, mely során TMV rezisztencia génekkel kapcsolatos szekvencia motívumokat kerestünk. Az ismert rezisztenciagénekkel nagyfokú hasonlóságot mutató géneket szerettünk volna a rezisztens vonalakban azonosítani. Ehhez a nyilvános NCBI GenBank adatbázisában megtalálható rezisztencia gén szekvenciákat használtunk. Néhány szekvenciát igen nagy pontossággal sikerült azonosítanunk az általunk szekvenált transzkriptomokban, azonban teljesen azonos, százszázalékos lefedettségű szekvenciát nem találtunk. Ennek egyik oka lehet a vizsgált mintákból izolált RNS-ek nem megfelelő minősége. Továbbá néhány feltételezett TMV rezisztenciagén analógot csak a fertőzött minták transzkriptomjaiban azonosítottunk, amiből arra következtetünk, hogy a fertőzés hatására expresszáldóhattak. Ennek és a többi kérdésnek a tisztázásához további részletes és átfogó vizsgálatok elvégzésére van szükség.

Az elmúlt években a genomika gyors növekedése lehetővé tette új megközelítések megvalósítását a kórokozókkal szembeni rezisztenciát megalapozó molekuláris mechanizmusok megértésére. A következő generációs szekvenálási technológiák alkalmazhatók a kórokozók teljes genom szekvenálásának biztosítására, valamint nagy áteresztőképességű molekuláris markerek fejlesztésére QTL-térképezéshez és génfelderítéshez. A hagyományos molekuláris megközelítések fáradságosak és időigényesek. A technológia fejlődésével a nemesítési programok hatékonyabbak lehetnek a pontosság és az eredmények elérésének gyorsasága tekintetében. Az NGS alapú genotipizálás több ezer SNP-t hoz létre, amelyek lehetővé teszik a kórokozókkal szembeni rezisztenciában részt vevő lókuszok kimutatását. A genomi alapú nemesítés mellett az NGS alkalmazható a kórokozó törzsek genomszekvenciáinak sokféleségének feltárására, specifikus virulencia gének azonosítására. Ezenkívül alkalmazható a kórokozó virulenciájához kapcsolódó szekvenált transzkriptomok nagy adathalmazának előállítására vagy az effektor fehérjék expressziójának

vizsgálatára a fertőzés korai szakaszában. Az NGS jövője a teljes genom szekvenálása felé tolódik el, lehetővé téve a virulencia gének működésével, a rezisztencia mechanizmusával és a kórokozók evolúciójával kapcsolatos kulcskérdések megoldását. A platformokhoz való hozzáférés, valamint az adatok egyszerűbb elemzése és kezelése megfizethetővé teszi ezen technológiák használatát a genetikusok és nemesítők számára.