



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Mezőgazdasági Biotechnológus Msc

**Búza törpülés vírus rezisztencia kialakítása árpában mesterséges
miRNS és CRISPR/cas9 technológiákkal**

Belső konzulens: Dr. Kis András
tudományos munkatárs

Készítette: Sorbán-Kiss Barbara
VSV512
Mezőgazdasági Biotechnológus Msc
(levelező)

Intézet/Tanszék: Genetika és Biotechnológia Intézet
Növénybiotechnológiai Tanszék

Gödöllő

2023

Az olyan transzgenikus növények, amelyek ellenállóak a vírusokkal szemben, fontosak lehetnek a mezőgazdasági termelésben és az élelmiszeriparban, mivel javíthatják a növénytermesztés hatékonyságát, növelhetik a termés hozamot és csökkenthetik a növényvédőszer használatát. Kutatásunkban egy olyan transzgenikus árpa növény létrehozását tűztük ki célul, amely hatékonyan tud védekezni a búza törpülés vírus (WDV) ellen.

Munkánk alapja Kis et al. 2015 és Kis et al. 2019 publikációi voltak, amelyekben különböző módszerekkel hoztak létre WDV rezisztens árpa növényeket. A 2015-ös cikkben arról számoltak be, hogy policisztronikus mesterséges miRNS-eket felhasználásával alacsony hőmérsékleten is tudják célzottan gátolni a WDV genom működését. Kis és munkatársai 2019-es tanulmánya azt mutatta, hogy a CRISPR/Cas9 rendszerrel a növényekben nagyon hatékony rezisztenciát lehet kialakítani vírusos betegségekkel szemben akkor, ha a megfelelő guide RNS-eket alkalmazzuk. Ugyanakkor azt is megállapították, hogy CRISPR/Cas9 rendszer működésének hatására mutáns WDV genomok keletkezhetnek. Kísérleteinkben azt szeretttük volna megvizsgálni, hogy a két rendszert kombinálva milyen fokú rezisztencia érhető el és hogy a mutáns WDV genomok ellen képesek-e védelmet biztosítani az amiRNS-ek.

Munkánk során először agrobaktérium segítségével hoztunk létre mesterségesen WDV fertőzött árpa növényeket. A későbbiekben ezeket a növényeket használtuk fel arra, hogy rovarvektor segítségével WDV átvitelt végezzünk a teszt növényeinkre. A Növényi Fejlődésbiológiai Csoport olyan kotranszformáns növényeket hozott létre, amelyek a policisztronikus amiRNS konstrukciót hygromicin szelektációs génnel és a CRISPR/Cas9 guide RNS konstrukciót dsRED riportergénnel tartalmaztak. A T0 generáció magjaiból embriókat preparáltunk és hygromicin tartalmú szelektációs táptalajon kallaszt növesztettünk, majd dsRED expressziót vizsgálva válogattuk ki a kotranszformáns növényeket. A kiválasztott kallaszokról regenerált növényekben az amiRNS-ek, a Cas9 és a guide RNS expresszióját sikeresen kimutattuk. A kotranszformáns növényeket ezután rovarvektor által WDV-vel fertőztük meg és a kalászosítás időpontjában vizsgáltuk a rezisztenciát.

Az eredmények azt mutatják, hogy bár a teljes rezisztencia elérése két konstrukció szimultán alkalmazásával nem sikerült, azonban a kotranszformáció magas fokú rezisztenciát eredményezett. A kotranszformáns növények közel 50%-a vírusmentesnek bizonyult, amely fontos előrelépés lehet a kórokozóval szembeni hatékonyabb védekezés szempontjából. Az eredmények további kutatásokra adnak okot, hogy új CRISPR/Cas9 guide RNS-ek és mesterséges miRNS-ek együttes alkalmazásával hatékonyabb rezisztenciát érhetünk el.