

Tema 4 . TRANSFORMAREA GENETICĂ A PLANTELOR (II)

Metode directe de transformare genetică.

Regenerarea, selecția și analiza eficienței transferului de gene

1. Întrebări cu unul sau mai multe răspunsuri corecte

1. Metodele de transfer direct a genelor se realizează prin tehnici:
2. Exemple de metode de transfer direct al ADN-ului în plante a cărei eficiență a fost demonstrată sunt:
3. Protoplastele sunt:
4. Problemele privind aplicarea microinjecției în transferul de gene se referă la:
5. Electroporarea consta în:
6. Dezavantaje utilizării fibrelor de carbura de siliciu în transformare sunt:
7. În metoda biolistică pentru a transfera molecule de ADN alogen, acestea se precipită pe microparticule de:
8. ADN-ul se precipită la suprafața microparticulelor utilizați în metoda biolistică cu:
9. Avantajele utilizării metodei biolistic constă în:
10. Prin modificarea raportului de fitohormoni în mediul de cultivare *in vitro* a plantelor este indusă:
11. Prezența genei marker *nptII* (neomicinfosfotransferaza II) este confirmată prin imersarea frunzelor în soluții cu:
12. Pentru identificarea transgenelor se utilizează preponderent metode de analiză bazate pe:
13. În calitate de markeri care permit detecția vizuală nedistructivă a celulelor transgenice în transformarea genetică cele mai utilizate sunt:
14. Celulele transformate genetic pot regenera prin cultura *in vitro* datorită:
15. Eficiența transformării prin electroporare și utilizarea PEG este influențată de o serie de parametri:
16. Genele raportoare:

2. Adevărat/fals

1. Utilizarea metodelor fizice, electrice și chimice de transfer ADN, spre deosebire de metodele mediate de virusuri și bacterii, nu depinde de genotipul plantei, însă eficiența de transformare depinde de capacitatea de regenerare a transformanților *in vitro*.
2. Tesuturile derivate din protoplaste au, în general, origine clonală provenind din celule individuale.

A F

A F

3. Transferul direct al ADN-ului plasmidial cu fibre de carbură de siliciu se utilizează rar, depinde de tipul de țesut-țintă utilizat (celulele mici cu perete celular subțire). A F
4. Polietilenglicolul în concentrații de 25-40% aplicat timp de 30 minute, provoacă, deshidratarea și aglutinarea protoplastelor A F
5. Electroporarea este metoda cea mai rar utilizată pentru transformarea protoplastelor vegetale, celule de mamifere sau bacteriene. A F
6. Prin electroporarea protoplastelor se elimină necesitatea utilizării unor gene marker. A F
7. Principiul tehnic al permeabilizării protoplastelor cu PEG constă în omogenizarea suspensiei de celule cu ADN plasmidic și fibre de carbură de siliciu A F
8. Nu este posibilă fuziunea lipozomilor cu membrana plasmatică a protoplastelor. A F
9. Metoda de transfer a ADN mediat de lipozomi nu prezintă avantaje deosebite comparativ cu alte metode de transfer direct, de aceea este mai puțin utilizată. A F
10. Eficiența regenerării in vitro a plantelor variază și este influențată de genotip și de metoda de transfer. A F
11. Ultima verificare a plantelor transgenice în cazul speciilor agricole de interes economic se face în teste de laborator. A F
12. Organogeneza se realizează prin modificarea raportului de substanțe reglatoare de creștere prezente în mediul de cultivare *in vitro* a calusului. A F
13. Prezența vacuolei mari reprezintă o problemă pentru transferul ADN prin microinjectare, deoarece există riscul distrugerii tonoplastului în procesul penetrării spre nucleu. A F
14. Cele mai rar folosite gene-marker sunt cele care conferă rezistență la un antibiotic sau un erbicid. A F

3. Completarea spațiilor

1. Transferul genelor în protoplaste se bazează pe:
- _____
- _____
2. Deoarece PEG prezintă un anumit grad de _____, iar în unele cazuri, determină formarea _____ prin fuziunea mai multor _____, o metodă alternativă de transfer a ADN-ului în protoplaste este electroporarea.
3. Primele cercetări care au indicat asupra unei transformări stabile a protoplastelor s-au bazat pe _____ a membranei plasmatică pentru ADN-ul străin _____ (PEG, solubil în apă, greutatea moleculară variază între 200-15000 daltoni).
4. Avantajele electroporării - eficiența crescută a transferului de _____, _____ și _____ în realizarea acestei metode.
5. Microinjectia este o metodă fizică _____ de introducere a ADN-ului în nucleul celulei vegetale, sub control _____.
6. Principiul metodei biolistice constituie utilizarea microproiectilelor cu _____ precipitat, lansate cu _____ pentru _____ în celulele vii.
7. Microșintizarea cu aerosoli este folosită pentru transformarea _____.
8. Regenerarea plantelor poate fi influențată negativ de _____ ale bacteriei și perioada lungă de _____ – factori esențiali în eficiența transformării.
9. Electroporarea implică formarea _____ prin care ADN străin pătrunde în citoplasmă, datorită unor _____ continuu de amplitudine crescută și durată foarte scurtă
10. Testul de marcă enzimatică (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay, ELISA) este unul de alternativă PCR și permite identificarea _____ (enzimelor) codificate de transgene.

11. Testul aplicat plantelor cultivate *in vitro* se bazează pe creșterea și pe dezvoltarea materialului vegetal modificat genetic pe _____ suplimentate cu _____.
12. _____ este procesul prin care celulele unui organ pierd capacitatea de a-și regla dezvoltarea, devenind apte de a se divide cu formarea unei mase de celule parenchimatice numit _____.
13. _____ induce un răspuns de rănire la nivelul secțiunilor care, cultivate în prezența hormonilor din mediu, formează calus.
Plantele potențial transformate se supun unor etape intermediare de _____ și ulterior _____ pentru o testare a _____ în condiții naturale.
14. Genele marker sunt acele gene care permit _____, iar genele raportoare sunt gene care _____ în celule sau extracte celulare.
15. Testul aplicat plantelor cultivate *in vitro* prevede creșterea și dezvoltarea plantelor pe medii nutritive suplimentate cu _____. În calitate de criteriu de apreciere a prezenței transgenelor sunt plantele _____ față de agentul de selecție.
16. Testul de expresie fenotipică a alogenelor prevede tratarea exogenă a plantelor cultivate _____ cu factorul de selecție, prin _____. Principiul de selecție - plantele susceptibile non-MG vor manifesta simptome de _____.