

Obsah

Předmluva	8
1. TRANSFORMACE ROSTLINNÝCH BUNĚK BAKTERIEMI RODU <i>AGROBACTERIUM</i>	
M. Ondřej	9
1.1 Bakterie <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	9
1.1.1 Plasmid Ti <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	11
1.1.2 Úsek virulence	11
1.1.3 T-DNA	13
1.1.3.1 T _L -DNA	13
1.1.3.2 T _R -DNA	13
1.1.3.3 Geny pro syntézu opinů	14
1.1.3.4 Geny pro syntézu fytohormonů	16
1.1.3.5 Hraniční sekvence T-DNA	17
1.1.3.6 Detekce přenosu T-DNA do genomu rostlinných buněk	17
1.1.3.7 Mechanismus excize T-DNA z plasmidu Ti v bakteriích <i>A. tumefaciens</i>	17
1.1.3.8 Mechanismus integrace T-DNA	18
1.1.3.9 Sekvenování T-DNA	18
1.1.4 Zvláštní typy plasmidů Ti	18
1.2 Bakterie <i>Agrobacterium rhizogenes</i>	19
1.3 Závěr	20
Summary	20
2. VEKTORY PRO TRANSFORMACI BAKTERIEMI <i>AGROBACTERIUM</i>	
M. Ondřej	22
2.1 Princip vektorů	22
2.1.1 Intermediární vektory	23
2.1.2 Binární vektory	24
2.2 Projev chimerických selektovatelných a signálních genů	26
2.2.1 Selektovatelné geny	26
2.2.1.1 Námitky antibiotechnologických aktivistů proti využívání genu <i>NPTII</i> a dalších genů pro rezistenci k antibiotikám v transgenních odrůdách	27
2.2.1.2 Systémy pro eliminaci selektovatelného transgenu z genomu transgenních rostlin	28
2.2.2 Signální geny	28
2.2.2.1 Transgen pro chloramfenikolacetyltransferasu	28
2.2.2.2 Transgen pro β -glukuronidasu	29
2.2.2.3 Transgen pro luciferasu	29
2.2.2.4 Transgen pro zeleně fluoreskující protein (GFP)	29
2.3 Metody transformace rostlinných pletiv	30
2.3.1 Prostřednictvím bakterií <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	30
2.3.2 Přímá transgenoze	30
2.3.2.1 Transgenoze protoplastů	30
2.3.2.2 Transgenoze pletiv	31
2.4 Závěr	31
Summary	31
3. TRANSGENY PRO TOXICKÉ PROTEINY, PYLOVOU STERILITU A TOLERANCI K HERBICIDŮM	
M. Ondřej	33
3.1 Transgeny pro toxické proteiny	33
3.1.1 Transgen pro toxin cholery	33
3.1.2 Transgen pro toxin záškrtu A	33
3.1.3 Gen pro thymidin kinasu viru herpes simplex (<i>herpes simplex virus</i> HSV)	33

3.1.4	Gen pro cystein deaminasu	34
3.1.5	Gen <i>aux2</i> (<i>iaah</i>)	34
3.2	Pylová sterilita	34
3.2.1	Systém Barnasa–Barstar	34
3.2.2	Systém genu <i>rolC</i>	35
3.2.3	Využití needitovaného mitochondriálního genu přeneseného do jader	35
3.3	Rezistence k herbicidům	35
3.3.1	Rizika pro člověka	36
3.3.2	Rizika pro přírodní prostředí	36
3.4	Jednotlivé typy herbicidů a transgenů	36
3.4.1	Glyfosát	36
3.4.1.1	Mechanismus účinku herbicidů a transgenů	36
3.4.1.2	Ekologické a toxikologické studie tolerantních transgenních rostlin	38
3.4.2	Fosfinotricin	40
3.4.2.1	Mechanismus účinku herbicidů a transgenů	40
3.4.2.2	Ekologické a toxikologické studie tolerantních transgenních rostlin	41
3.4.3	Herbicidy, které blokují acetolaktátsyntetasu (ALS)	41
3.4.3.1	Mechanismus účinku herbicidů a transgenů	41
3.4.3.2	Ekologické a toxikologické studie tolerantních a transgenních rostlin	42
3.4.4	Transgeny s tolerancí vůči dalším herbicidům	43
3.5	Zhodnocení obecných rizik používání transgenních rostlin tolerantních k herbicidům	43
3.6	Závěr	44
	Summary	44
4.	TRANSGENY PRO REZISTENCI K HMYZÍM ŠKŮDCŮM	
	M. Ondřej	45
4.1	Transgen pro δ -endotoxin <i>Bacillus thuringiensis</i>	45
4.1.1	Expres neupravených toxinových genů v chloroplastech	47
4.2	Další mechanismy – geny rostlinného původu	48
4.2.1	Inhibitory proteas	48
4.2.2	Inhibitory amylas	49
4.2.3	Lektiny	49
4.2.3.1	<i>Gallanthus nivalis</i> agglutinin (GNA)	49
4.2.4	Chitinasy, tryptofan dekarboxylasy	49
4.3	Geny jiného než rostlinného původu	50
4.3.1	Geny pro další insekticidní proteiny	50
4.4	Zvládnutí rezistence škůdců vůči transgenním rezistentním rostlinám	50
4.5	Antibiotechnologická hnutí v souvislosti s transgenními rostlinami odolnými vůči hmyzu	50
4.6	Závěr	51
	Summary	52
5.	TRANSGENY PRO REZISTENCI K VIRŮM	
	M. Ondřej	53
5.1	Typy rostlinných virů	53
5.2	Agroinfekce	54
5.3	Mechanismy rezistence prostřednictvím transgenoze	54
5.3.1	Transgeny virového genomu	54
5.3.1.1	TMV	54
5.3.1.2	Virus zlaté mozaiky rajčete TGMV	55
5.3.1.3	CaMV	56
5.4	Strategie vnášení rezistence k patogenům transgenozí	56
5.4.1	Rezistence zprostředkovaná genem pro plášťový protein	56
5.4.2	Rezistence k proteinu pro přenos z buňky do buňky (movement protein)	57
5.4.3	Rezistence založená na transgenu pro replikasu	57
5.4.4	Rezistence podmíněná nukleovými kyselinami	57

5.4.5	Další strategie	58
5.4.6	Mechanismy založené na potlačování exprese genů (gene silencing)	58
5.4.6.1	Uzdravení, doze transgenů a prahový model	58
5.4.6.2	Aberantní RNA	58
5.4.6.3	Vyhojení a interakce RNA-DNA	59
5.4.7	Ochrana zprostředkovaná antisense RNA	60
5.4.8	Rezistence odvozená z replikujících se virových genomů	60
5.4.9	Rezistence založené na dalších transgenech	60
5.4.9.1	Rostlinné transgeny	60
	<i>Transgeny pro rostlinné antivirové proteiny</i>	61
5.4.9.2	Bakteriální transgeny	61
5.4.9.3	Živočišné transgeny	61
5.5.	Komponenty virového genomu jako nástroje pro transgenozi rostlin	61
5.6	Transgenní kulturní rostliny rezistentní k virům	61
5.7	Virové vektory	62
5.8	Předpokládaná rizika transgenních rostlin rezistentních k virům	62
5.8.1	Transenkapsidace	62
5.8.2	Rekombinace	63
5.9	Závěr	63
	Summary	63
6.	DALŠÍ TRANSGENY VYUŽÍVANÉ V TRANSGENNÍCH ODRŮDÁCH	
	M. Ondřej	65
6.1	Transgenoze pro změněný obsah lipidů v semenech	65
6.1.1	Biosyntéza rostlinných olejů	65
6.1.2	Význam rostlinných olejů v zemědělské produkci	65
6.1.3	Složení zásobních proteinů a olejů semen	66
6.1.4	Olejodárné rostliny v rostlinné produkci	66
6.1.5	Transgeny pro změny biosyntézy rostlinných olejů	67
6.2	Zásobní proteiny	68
6.2.1	Manipulace biosyntézy nedostatkových aminokyselin	68
6.2.2	Včleňování genů pro zásobní proteiny semen do genomu	69
6.3	Rajčata s prodlouženým dozráváním (antisense konstrukce genu pro polygalakturonasu)	69
6.4	Transgeny pro prodloužení životnosti řezaných květů (Biosyntéza a receptory ethylenu)	70
6.5	Závěr	70
	Summary	70
7.	ŠLECHTITELSKY PERSPEKTIVNÍ TRANSGENY	
	M. Ondřej	72
7.1	Transgeny pro protilátky	72
7.2	Rostlinné vakcíny	73
7.3	Produkce farmakologicky využitelných vzácných proteinů transgenními rostlinami	73
7.3.1	Hirudin	73
7.4	Transgeny pro průmyslově nebo zemědělsky významné enzymy	75
7.4.1	Expres transgenů pro fytasu	75
7.4.2	Expres transgenů pro xylanasu	75
7.4.3	Produkce glukonasy v transgenních rostlinách	75
7.4.4	Produkce α -amylasy v rostlinách	75
7.4.5	Produkce polymerů fruktosy	75
7.5	Produkce biodegradovatelných polymerů transgenními rostlinami	76
7.6	Transgenní rostliny pro fytoremediaci	77
7.7	Modifikace fyziologie a vývoje rostlin	77
7.7.1	Žlutá rýže	77

7.7.2	Modifikace vývoje rostlin	77
7.7.3	Modifikace barvy květů	78
7.7.4	Aktivace latentních transgenů pomocí hybridního transkripčního faktoru	78
7.7.5	Terminátorový systém	79
7.8	Závěr	80
	Summary	80
8.	INZERČNÍ MUTAGENEZE	
	M. Ondřej	81
8.1	Základní strategie	81
8.1.1	Past na zesilovače	81
8.1.2	Past na promotory	82
8.1.3	Past na geny	82
8.1.4	Aktivační mutageneze	82
8.2	Vektory pro inzerční mutagenezi s využitím T-DNA	84
8.3	Homologní transgenoze	85
8.4	Závěr	86
	Summary	86
9.	ZTRÁTA AKTIVITY TRANSGENŮ	
	M. Ondřej	88
9.1	Základní rozdělení	88
9.1.1	Transkripční aktivace genů	88
9.1.2	Posttranskripční aktivace genů	88
9.2	Mutace které ovlivňují inaktivaci genů	89
9.3	Polohový efekt a požadavek stabilní exprese transgenů	89
9.4	Inaktivace transgenů v souvislosti s ochranou před infekcí viry a viroidy	90
9.5	Přenos RNA v rostlině a inhibice aktivity transgenů	91
9.6	Závěr	92
	Summary	92
10.	SPECIFITA PRÁCE S TRANSGENNÍMI ROSTLINAMI	
	M. Ondřej	93
10.1	Typy izolace	93
10.2	Zvláštnosti práce s transgenními rostlinami	93
10.3	Pravidla práce s transgenními rostlinami	94
10.3.1	Laboratoře a kultivační místnosti	94
10.3.2	Izolační skleníky	95
10.3.3	Malé polní pokusy	95
10.3.4	Předběžné polní testování transgenních rostlin	95
10.4	Schvalovací postupy	96
10.5	Česká komise transgenoze rostlin	96
10.5.1	Odhad rizika	96
10.6	Závěr	97
	Summary	97
11.	TRANSGENNÍ ODRŮDY	
	M. Ondřej	98
12.	REGULACE POUŽITÍ GENETICKY MODIFIKOVANÝCH ORGANISMŮ VE SVĚTĚ A V ČR	
	J. Drobník	100
12.1	Aktivita OECD	102
12.2	Aktivita Spojených národů	104
12.3	Regulace v Evropské unii	105

12.3.1	Směrnice 90/219/EEC pro uzavřené nakládání s geneticky modifikovanými mikroorganismy	105
12.3.2	Směrnice 98/81/EC novelizující Směrnici 90/219/EEC pro uzavřené nakládání s geneticky modifikovanými mikroorganismy	106
12.3.3	Směrnice 90/220/EEC pro uvážlivé uvádění geneticky modifikovaných organismů do prostředí	107
12.4	Regulace použití geneticky modifikovaných organismů v některých státech	108
12.4.1	Regulace v Německu	108
12.4.2	Regulace v Rakousku	109
12.4.3	Regulace v USA	110
12.5	Vztah pravidel Světové obchodní organizace (WTO) k obchodu s geneticky modifikovanými organismy	110
12.6	Závěr	111
	Summary	111
13.	EVROPSKÁ DISKUSE O BEZPEČNOSTI GENETICKY MODIFIKOVANÝCH POTRAVIN	
	K. M. A. Gartland, J. S. Gartland	112
13.1	Úvod	112
13.2	Současný stav legislativy týkající se GMR v EU	112
13.3	Nátlakové skupiny: problémy davové psychosy a genetického nátlaku	113
13.4	GM potraviny v budoucnosti	114
13.5	Závěr	114
	Summary	114
14.	SLOVNÍČEK POJMŮ	
	M. Ondřej	116