

## Transgenní živočichové (komentáře)

### Stránka 2

Metoda infekce ranných zárodků (4-8 buněk) retroviry in vitro se moc nepoužívá ... často vznikají genetické mozaiky, variabilita v genové expresi z transgenu (epigenetika), letalita, ...

### Stránka 3

Transgenní myši již byly připraveny řadou různých metod (viz schéma) – ale standardně se používají ty dvě základní metody

### Stránka 4

Historicky starší technika, odběr vajíček 3-5 hodin po oplození, implantuje se více vajíček – více potomků, začlenění transgenu ještě neznamená expresi – např. začlenění do oblastí heterochromatinu, inzerční mutageneze (až 10% myší patologický fenotyp)

### Stránka 7

chimerická myš - nutno další křížení pro získání transgenní myši

### Stránka 9

Chiméry – různě stupeň chimerismu, pro křížení se vybírají ty nejvíce chimerické, heterozygotní myši jsou v tomto případě tmavé, ty následně křížím mezi sebou, abych získal homozygota

### Stránka 12

pozitivně-negativní selekce, gen neo přerušuje gen zájmu – buňky nesoucí transgen kdekoli začleněný jsou rezistentní k G418, TK (tymidinkináza) vně homologních oblastí – po homologní rekombinaci se nazačlení, při náhodném začlenění ano, ganciclovir je přeměněn TK na cytotoxický produkt – kombinací G418/ganciclovir tedy selektují buňky, kde nejspíš došlo k HR, nutno ověřit následně sekvenací genomu

## Stránka 16

A je gen zájmu, M je nějaký marker (neo), dnes už existují i různé typy LoxP sekvencí (viz dále Brainbow myš)

## Stránka 17

Analogie Cre-loxP systému

## Stránka 18

Cílový vektor nese na krajích homologní oblasti – krátkou a dlouhou (SHA, LHA)

## Stránka 19

Využití různých kombinací loxP sekvencí. Mutuálně exkluzivní a náhodná rekombinace – buňky „barevné“ dle principu náhodného skládání barev. Myš s tímto konstruktem se kříží s myší produkující Cre rekombinázu pod tkáňově specifickým promotorem (v tomto případě neurogenní promotor – sledujeme produkci fluorescencí proteinů v mozku). Využití – odlišení jednotlivých buněk na histologických řezech, trasování původu/migrace buněk, atd.

## Stránka 22

U myší se tetracyklin/doxycyklin přidává do pití, v buněčné kultuře klasicky do kultivačního média. Transgenem může být i gen pro Cre rekombinázu – tedy indukujeme následné vyštěpení loxP míst a změnu genomu v určitém námi zvoleném čase.

## Stránka 24

Analogie loxP systému. Aktivita rekombinázy ale regulovaná přítomností tamoxifenu. Tedy jiná forma inducibilního systému.

## Stránka 28

Začlenění je náhodné a sledujeme expresi markerového genu (třeba i GFP, lacZ ...), identifikujeme místo začlenění (gen X), a víme nyní o něm kdy a kde se exprimuje.

Stránka 41

U ryb je cílem především rychlejší růst

Stránka 44

Pharming se dříve používalo, aby se zdůraznilo, že se u zvířatech připravují farmakologicky významné látky

Stránka 45

Velká a kontinuální produkce mléka – získá hodně proteinu, ekonomicky výhodné

Lysozym nebo lysostafin – brání bakteriálním infekcím (mastitidy) – mléko krávy se zánětem nelze použít pro člověka, ekonomické ztráty

Stránka 47

Polly – připravena obdobně jako Dolly, ale navíc vnesen gen pro koagulační faktor IX (léčba hemofilie) – Polly je tedy klonovaná a zároveň transgenní ovce

Stránka 48

Trypanozomy (prvok) přenáší spavou nemoc – mezipřevodcem je hmyz (př. ploštice), přenos geneticky modifikovaných bakterií do střeva toho hmyzu – produkce toxinu – usmrtí Trypanozomy, pokud se takové ploštice rozšíří – mohlo by to vést ke snížení výskytu této choroby (obdobně i malárie)