

# Definice genového inženýrství

Genové inženýrství se zabývá vytvářením pozměněných či nových genů nebo přípravou nových („nepřirozených“) kombinací genů a jejich zaváděním do genomu organismů s cílem rekonstruovat jejich genetickou výbavu a vytvářet tak geneticky modifikované anebo transgenní organismy.

**Metodickým základem genového inženýrství jsou manipulace s DNA *in vitro* (klonování genů a jejich úpravy) a cílené změny genetické informace prováděné *in vivo***

Aplikace GI: moderní (molekulární) biotechnologie

# Genové inženýrství (syllabus přednášky 2020)

1. Osnova přednášky, definice genového inženýrství a jeho stručná historie, studijní literatura. Optimalizace exprese klonovaných genů (faktory ovlivňující expresi genů v cizích hostitelích; úroveň transkripce, translace, export proteinů)
2. Mutageneze *in vitro* (metody založené na restrikčních místech, metody založené na mutagenních oligonukleotidech, kazetová mutageneze, využití modifikovaných tRNA)
3. Klonování genů v grampozitivních bakteriích
4. Klonování genů v kvasinkách
5. Klonování genů v rostlinách, příprava transgenních rostlin
6. Klonování genů v živočišných buňkách, vektory pro přenos genů do savčích buněk, selekční markery pro vyhledání klonů obsahujících cizorodou DNA
7. Vnášení genů do zárodečných buněk myší, příprava transgenních savců
8. Cílená exprese cizorodých genů v buňkách a tkáních vyšších organismů
9. Opravy dědičných defektů u zvířat metodami genového inženýrství
10. Editace genomů *in vivo*, meganukleázy, systémy CRISPR/Cas
11. Příprava farmakologicky významných látek v prokaryotických a eukaryotických organismech. Využití metod rekombinantní DNA k přípravě vakcín a protilátek. Identifikace produktů rekombinantních genů.
12. Pravidla pro práci s geneticky modifikovanými organismy, novelizovaný zákon 78/2004 Sb., rizika přípravy GMO. Povinné školení pro studenty.

# Doporučená literatura

- Watson J.D. et al., Recombinant DNA, 2nd ed., W.H.Freeman, New York 1992.
- Old R.W., Primrose S.B., Principles of gene manipulation. An introduction to genetic engineering. Blackwell Science, 1995. 5. vydání.
- Strachan T., Read A.P. Human Molecular Genetics, 3. Vydání. Garland Science, London 2004. 4. vydání 2011.
- Glick B.R., Pasternak J.J. Molecular Biotechnology, 3. vydání, ASM Press, Washington 2003. 4. vydání 2017
- Reece R. Analysis of Genes and Genomes. Wiley 2004
- Primrose S.B., Twyman R.M. Principles of gene manipulation and genomics. Blackwell Publ., 2006, 7. vydání.
- Snustad D.P., Simmons M.J.: Genetika (překlad originálu Principles of Genetics), MU Brno, 2009, 2017
- Kun, L.Y.: Microbial biotechnology, principles and applications. 3rd Edition, World Scientific, Singapore, 2013.
- Základní metody: Šmarda J. a kol.: Metody molekulární biologie, Brno, 2005.
- Internetové zdroje, přehledové články
- IS muni.cz

# Využití genového inženýrství

**Ve výzkumu:** studium struktury, funkce a exprese genů (genomů)

**V praxi (Moderní biotechnologie):**

- 1. Příprava látek významných v lékařství, zemědělství a průmyslu**
  - vnášení cizorodých genů do nepříbuzných organismů a získávání produktů ve velkém množství – *překonání reprodukčních bariér*
- 2. Příprava látek s novými vlastnostmi pozměňováním stávajících genů nebo vytvářením nových genů – *enzymy, protilátky, vakcíny aj.***
- 3. Pozměňování a zlepšování vlastností organismů - vytváření geneticky modifikovaných n. transgenních organismů (GMO)**
  - *příprava mikroorganismů pro biotechnologie,*
  - *zvyšování výnosů kulturních rostlin a užitkovosti hosp. zvířat (odolnost vůči chorobám, škůdcům nebo zevním vlivům, produkce cizích látek v tělech rostlin a zvířat)*
  - **genové terapie**

# Předpoklady pro cílené genetické manipulace

- Identifikovat geny a stanovit jejich funkce
- Izolovat geny a cíleně je *in vitro* (*in vivo*)  
pozměňovat
- Přenést vhodným způsobem upravené geny do  
původních nebo jiných (**nepříbuzných**) organismů  
a zajistit jejich expresi (**heterologní** expresní  
systémy)

# Etapy vzniku a vývoje genového inženýrství

## Poznání základních procesů přenosu genetické informace

1970 – izolace prvního restriční enzymu

1972 – příprava prvních rekombinantních molekul DNA *in vitro*

1973 – začátek klonování genů

1975 – Asilomarská konference, moratorium NIH (1976)

1976 – první pravidla práce s rekombinantní DNA

1977 – první rekombinované molekuly DNA nesoucí savčí geny

1977 – zavedení metod sekvenování DNA

1978 – příprava lidského inzulinu v bakteriích

(od r. 1982 vyráběn komerčně), založení fy Genentech

zavedení technik mutageneze *in vitro* – proteinové inženýrství  
příprava transgenních organismů (bakterie, kvasinky, rostliny,  
živočichové)

1980 – první pokusy o genovou terapii

1997 – klonování živočichů

~2000: zavedení technik editace genomů