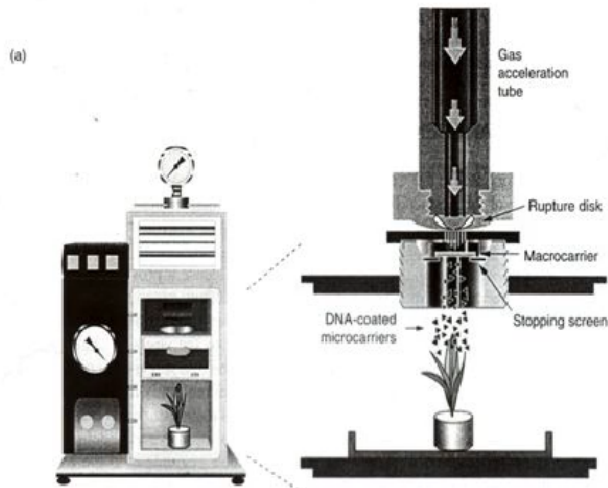




Metody transformace II.

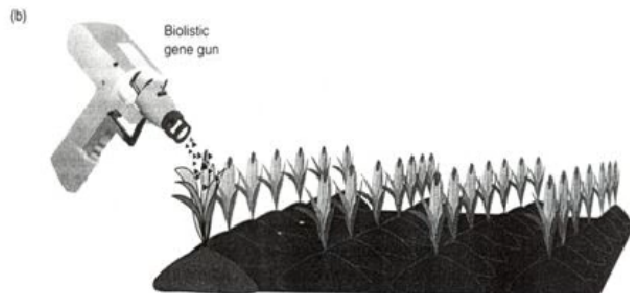
Bombardování mikroprojektily (biolistická metoda)

Microprojectile bombardment or biolistic-mediated DNA transfection equipment



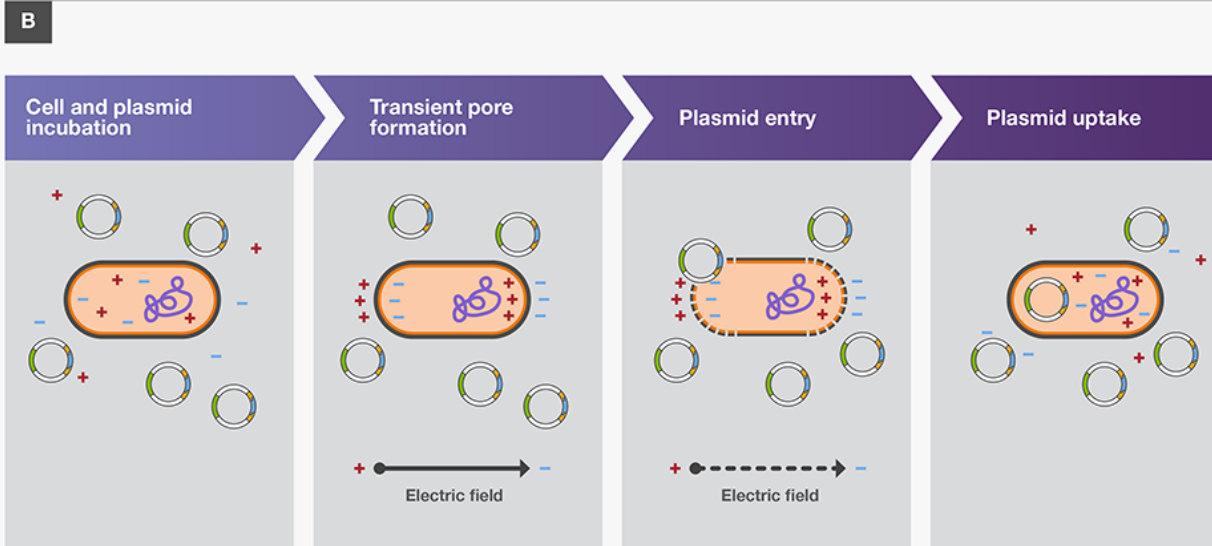
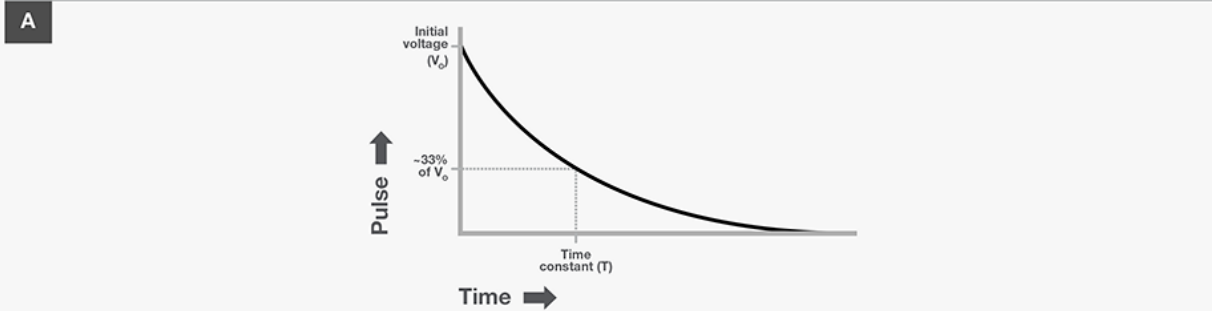
- equipment
(a) lab version
(b) portable version

- When the helium pressure builds to a certain point, the plastic rupture disk bursts, and the released gas accelerates the flying disk with the DNA-coated gold particles on its lower side. The gold particles pass the stopping screen, which holds back the flying disk, and penetrate the cells of the plant.



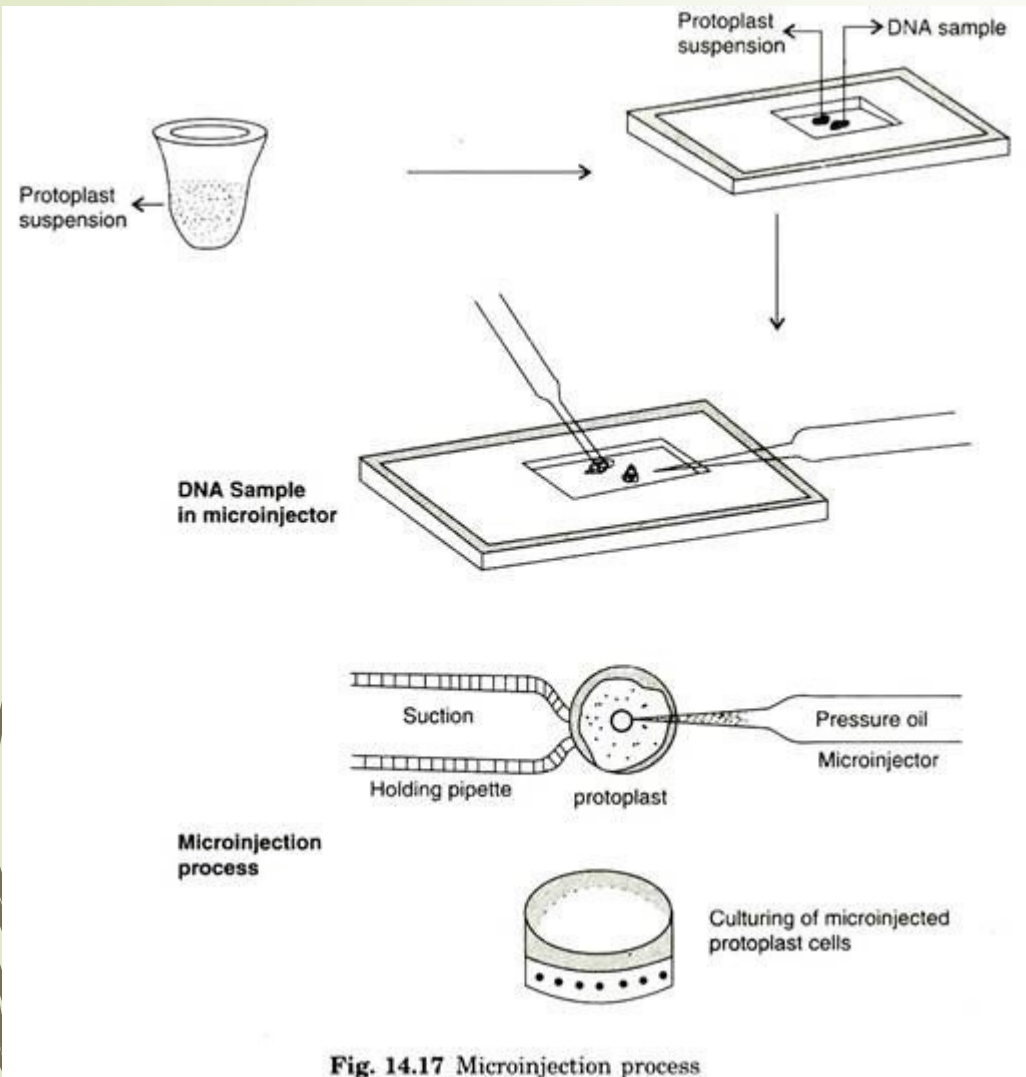
- Klein 1987
- Výhody: účinné a snadno proveditelné, přenesení DNA do většího množství buněk najednou, aplikovatelné na různý materiál (buňky, pyl, meristém, embrya a somatická embrya), pak snazší regenerace, aplikovatelné na velké množství rostlin (dvoj- i jednoděložné)
- Nevýhody: integrace velkého množství kopií DNA do chromozómu, drahé vybavení, poškození buněk/pletiv díky nekontrolovatelné rychlosti částic

Elektroporace

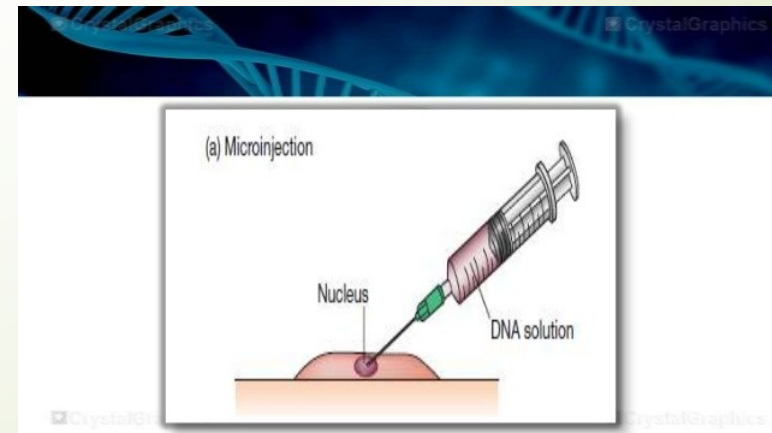


- Výhody: efektivní transformace, získání velkého množství transformovaných buněk, produkce transformantů s nízkým množstvím kopií transgenu, elektroporované buňky mají stejný fyziologický stav jako před el., nízké množství mrtvých buněk, nízké náklady, nevyžaduje specialistu
- Nevýhody: vyžaduje protoplasty, problémy s regenerací rostlin z protoplastů, zvyšování genetické variability v rost. regenerovaných z protoplastů

Mikroinjekce DNA do protoplastů, jádra



- Výhody: optimalizování množství DNA, přesné přesunutí DNA (lze dokonce přímo do jádra), vhodné i na malé objekty (mikrospory, kalus, proembrya...)
- Nevýhody: jedna mikroinjekce=1 DNA do jedné buňky, nutné zkušenosti a zručnost při mikroinjekci, složité vybavení, požadavek regeneračního procesu pro mikroinjektované buňky



Lipozómy uzavírající DNA

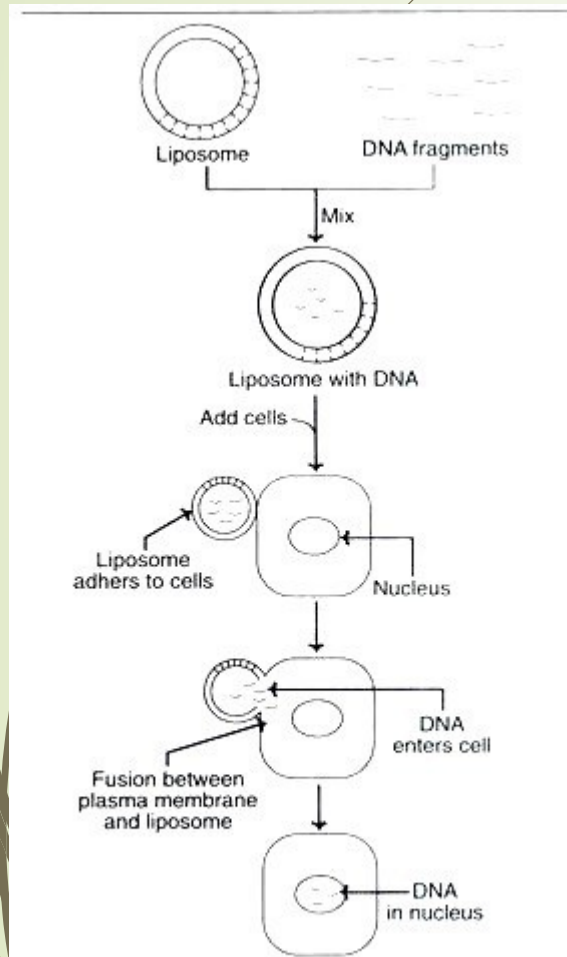
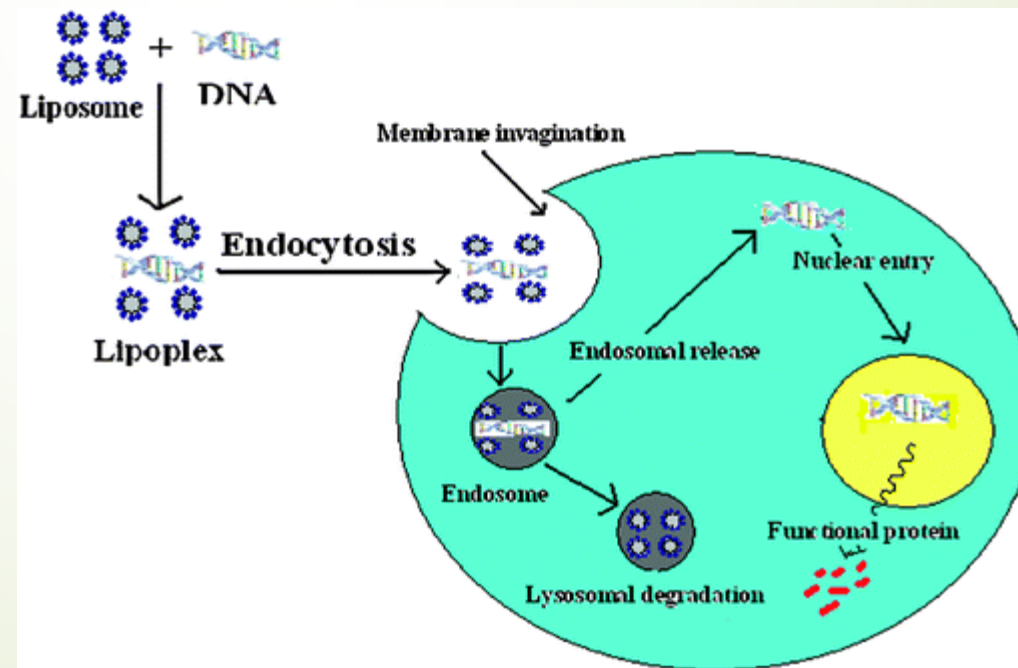


Fig. 6.12 : Liposome-mediated gene transfer
(Note : For clarity, the native cell DNA is not shown).

- Výhody: jednoduchost, dlouhodobá stabilita, ochrana DNA před degradací
- Nevýhody: problémy s regenerací z protoplastů



Transformace pomocí polyethylen glykolu (PEG – mediated)

Polyethylene glycol (PEG) mediated transformation - the chemical method.

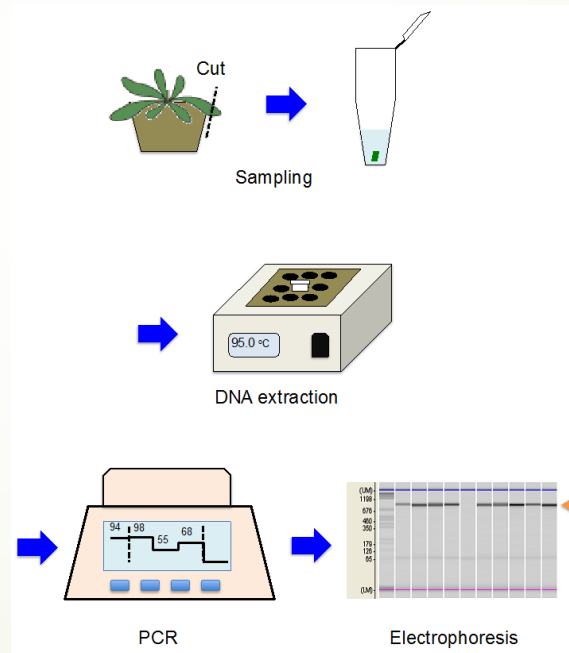
- ✓ Plant protoplast can be transformed with naked DNA by treatment with PEG in the presence of divalent cations . e. g., Calcium.
- ✓ PEG and divalent cations destabilize the plasma membrane of the plant protoplast and rendered it permeable to naked DNA.
- ✓ DNA enters the nucleus and integrates into the host genome.

PEG MEDIATED GENE TRANSFER

- Protoplasts are treated with a solution containing various ions, PEG and DNA. Changes in the plasma membrane allow the DNA to penetrate and move into the cytoplasm.
- Whether PEG is directly involved in the delivery of DNA and the mechanism of this process are still unclear
- The integration of the target DNA into the plastid chromosome is site-directed due to the design of vectors with sequences homologous to a specific target area in the plastid genome.

Methods to Transfer Foreign Genes to Plants

<https://www.intechopen.com/books/transgenic-plants-advances-and-limitations/methods-to-transfer-foreign-genes-to-plants>



Screening regimen for transgenic plants by PCR