

MUNI  
SCI

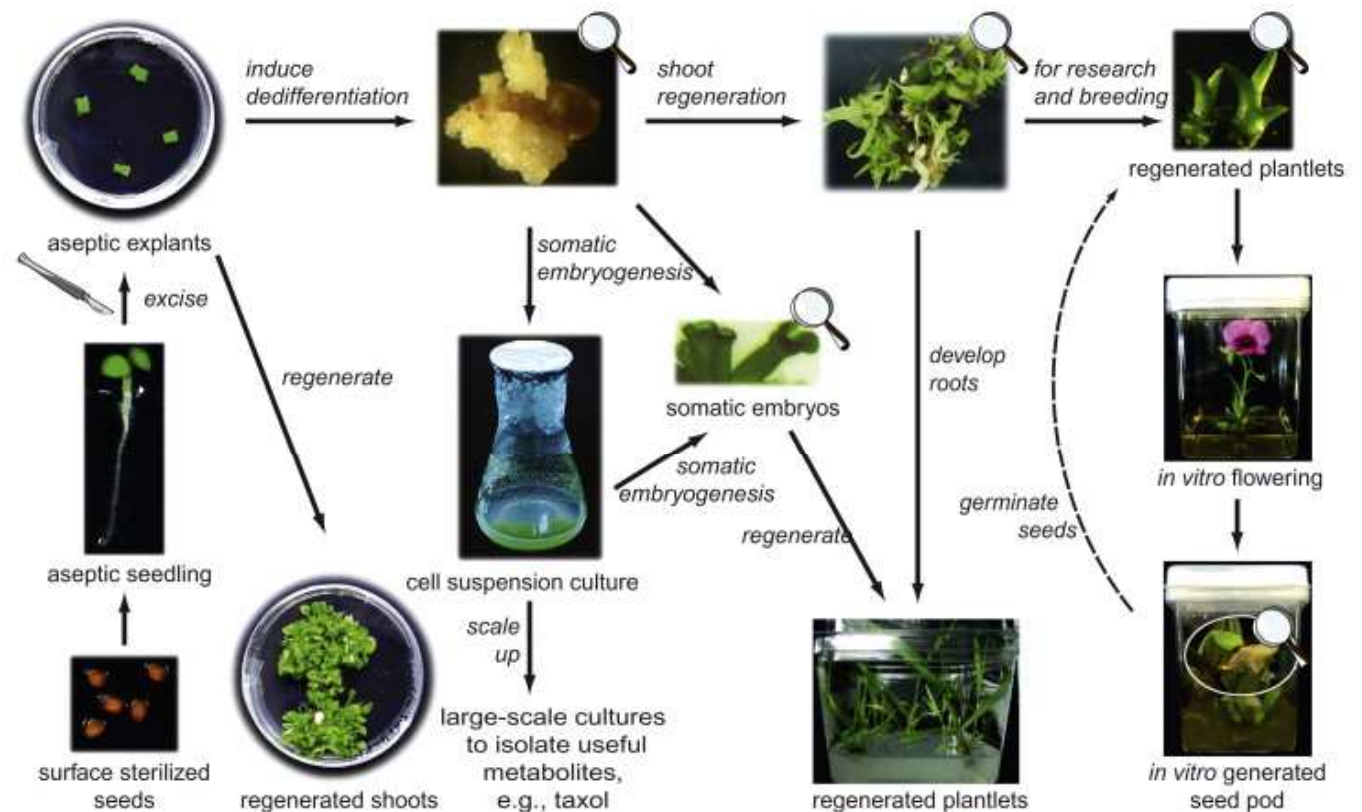
# Rostlinné biotechnologie



# Biotechnologie

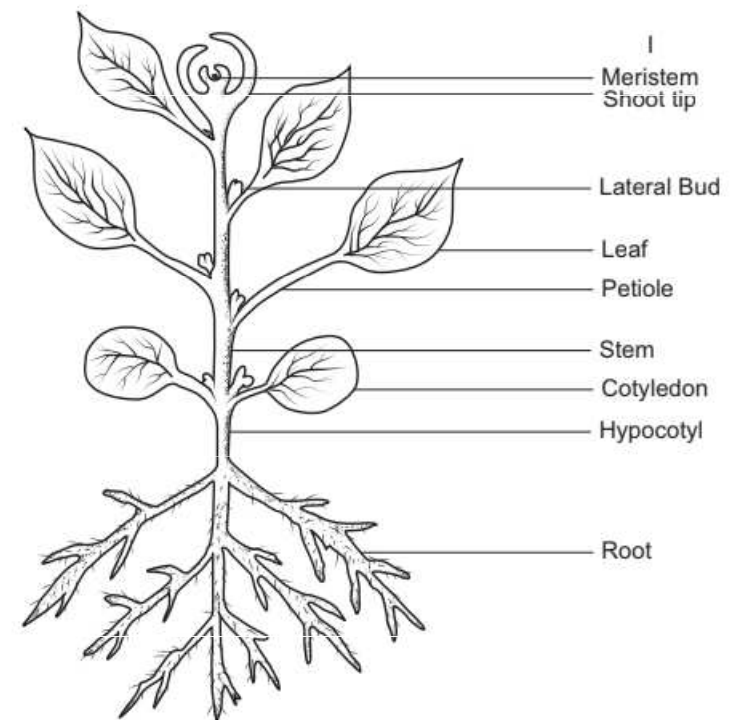
Moderní rostlinné biotechnologie zahrnují především rostlinné tkáňové kultury a genové inženýrství.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381466-1.00009-2>



# Rostlinné explantáty

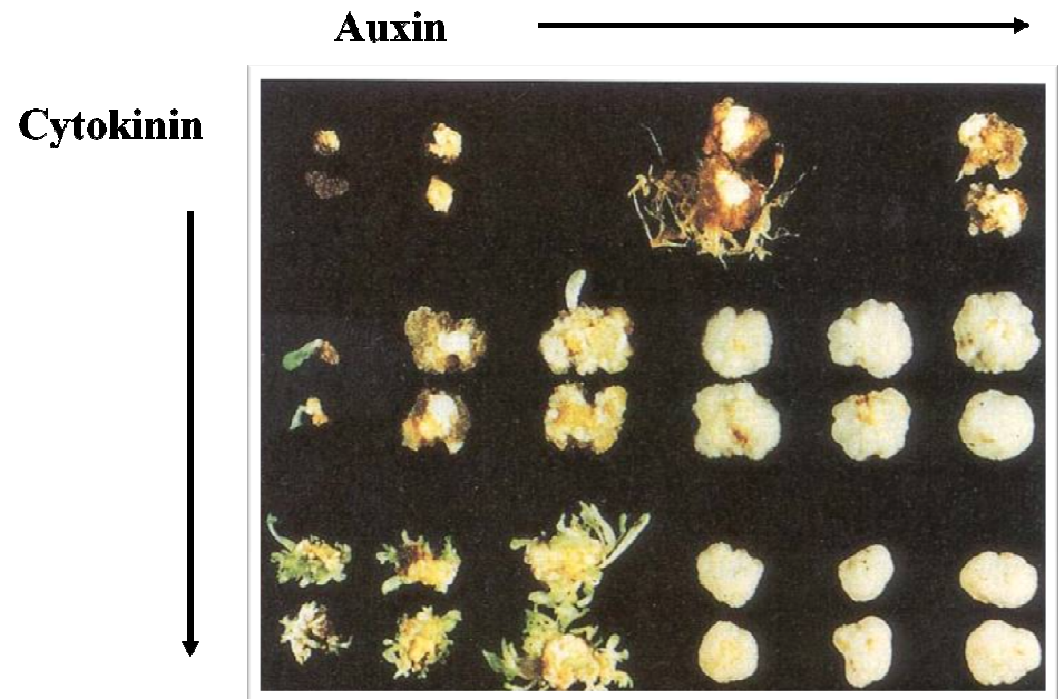
- Ne příliš malý kus mladé zdravé tkáně odebrané ideálně na jaře
- Výběr vhodného explantátu
- Pro množení postranní pupen
- Pro přípravu kalusové kultury nejčastěji děložní lístek nebo hypokotyl
- Pro izolaci protoplastů list



ISBN-13: 978-0124159204

# Kalusové kultury

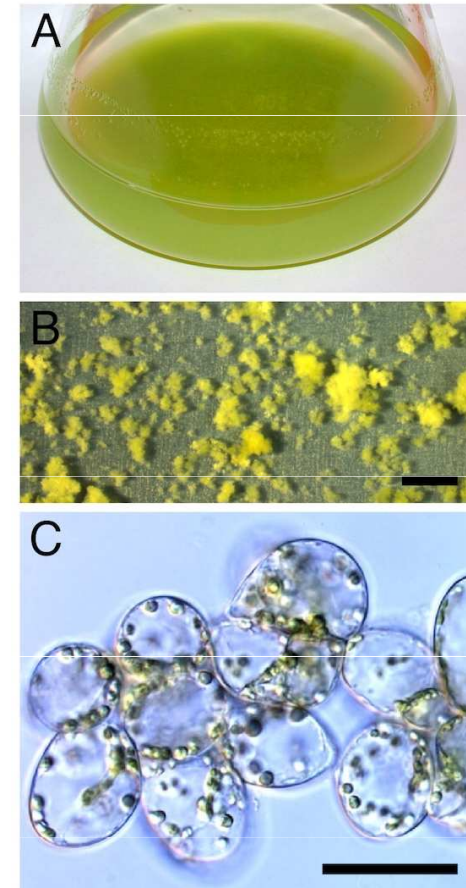
- V místě poranění tvoří rostlina hojivé pletivo (kalus)
- První úspěšně kultivovaná byla nediferencovaná meristematická tkáň
- Po objevu hormonů i (částečně) diferencované kalusové kultury



<http://www.plantphysiol.org/cgi/doi/10.1104/pp.104.900160>

# Buněčné suspenzní kultury

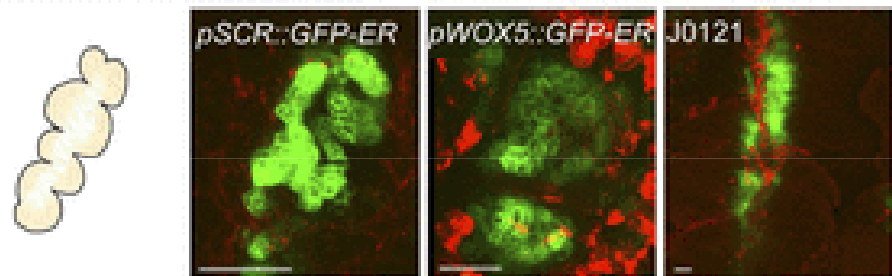
- Vznikají rozsuspendováním kousků kalusu v živném médiu
- Média obsahují zdroj uhlíku, dusičnany a amonné ionty, další soli obsahující všechny potřebné prvky, vitaminy a hormony
- Nejčastější média: Murashige and Skoog, Gamborg, Nitsch and Nitsch



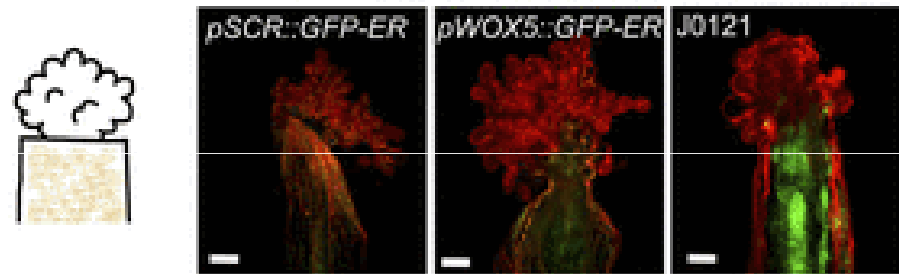
# Využití rostlinných tkáňových kultur v primárním výzkumu

- Studium primárního i sekundárního metabolismu
- Izolace organel
- Studium morfogeneze, organogeneze a embryogeneze
- Studium interakcí rostlin a mikrobů

CIM-induced callus



wound-induced callus



<https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>

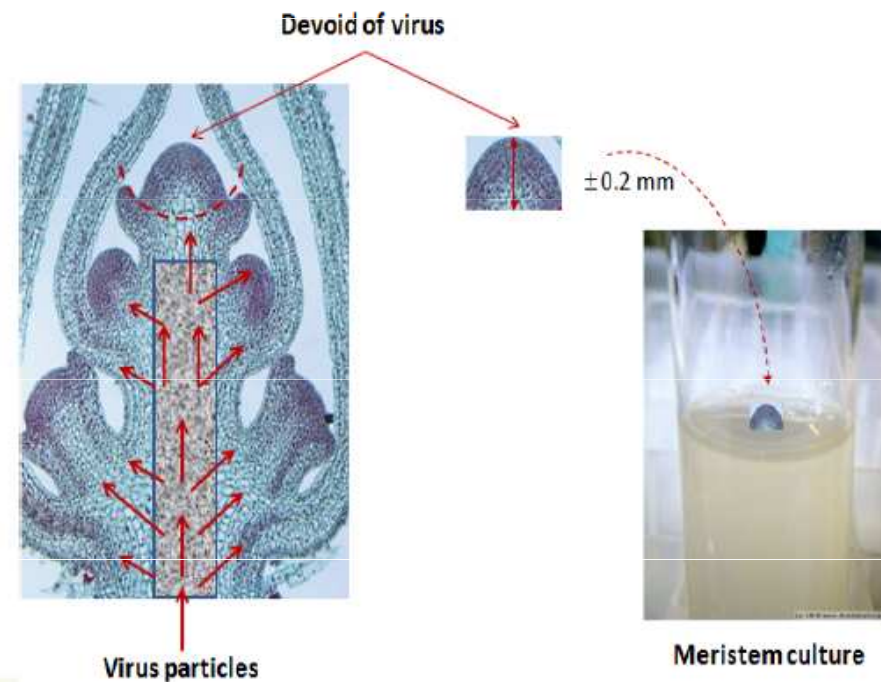
# Využití rostlinných tkáňových kultur pro mikropropagaci

- Množení in vitro
- Nejrozšířenější komerční aplikace
- Zkrácení cyklu, vysoký množitelský koeficient, možnost načasování, dobrý zdravotní stav
- Nutnost aklimatizace



# Využití rostlinných tkáňových kultur pro skladování a převoz

- Příprava rostlinného materiálu neobsahujícího mikroorganismy (především viry)
- Skladování
- Převoz přes hranice

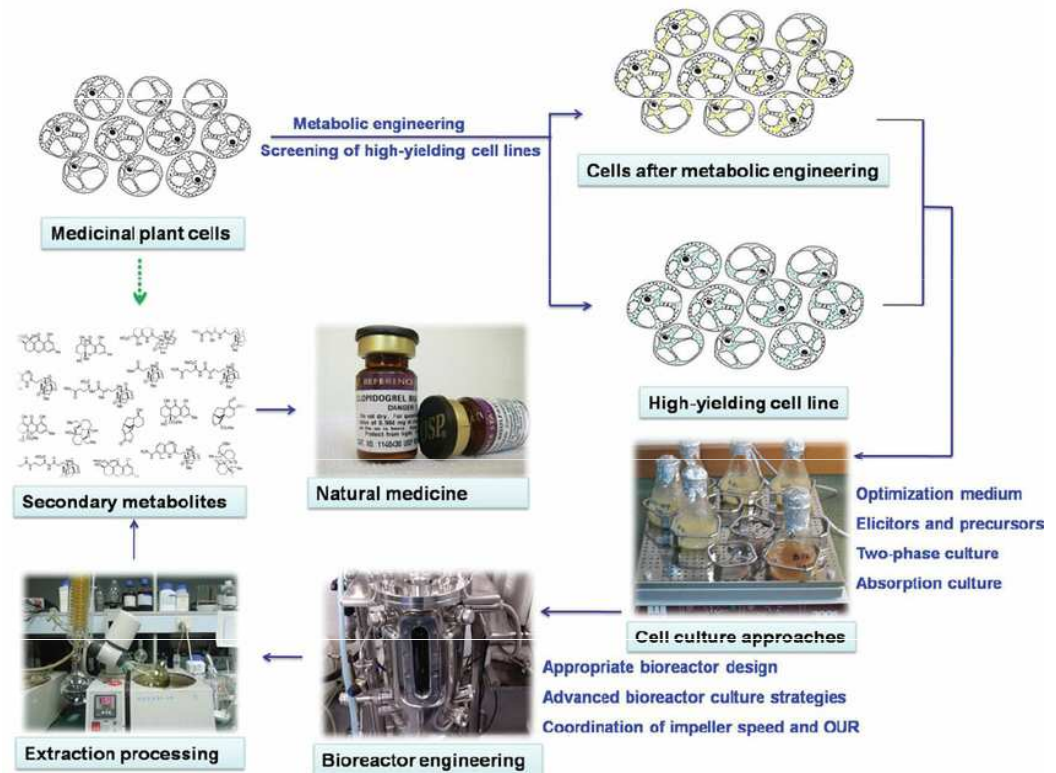


Retno Mastuti: Plant Physiology



# Využití rostlinných tkáňových kultur pro tvorbu produktů

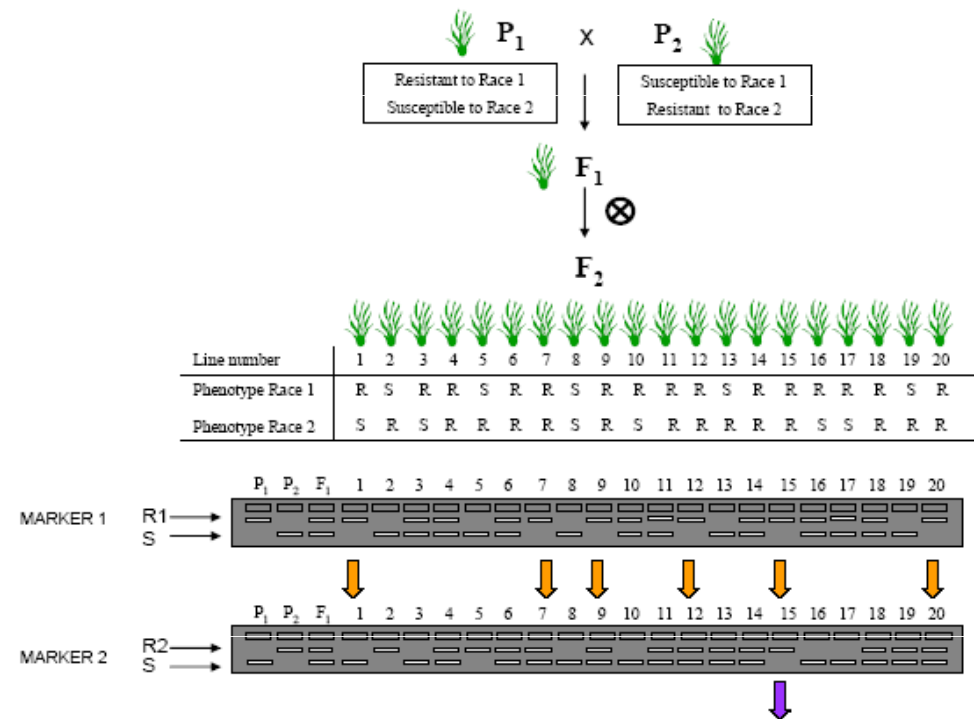
- Rostlinné sekundární metabolity s využitím ve farmacii nebo průmyslu
- Komerčně ve velkoobjemových reaktorech
- Využití vysoce výnosných kmenů/mutantů nebo stimulace



DOI: [10.3109/07388551.2014.923986](https://doi.org/10.3109/07388551.2014.923986)

# Selekce s využitím markerů

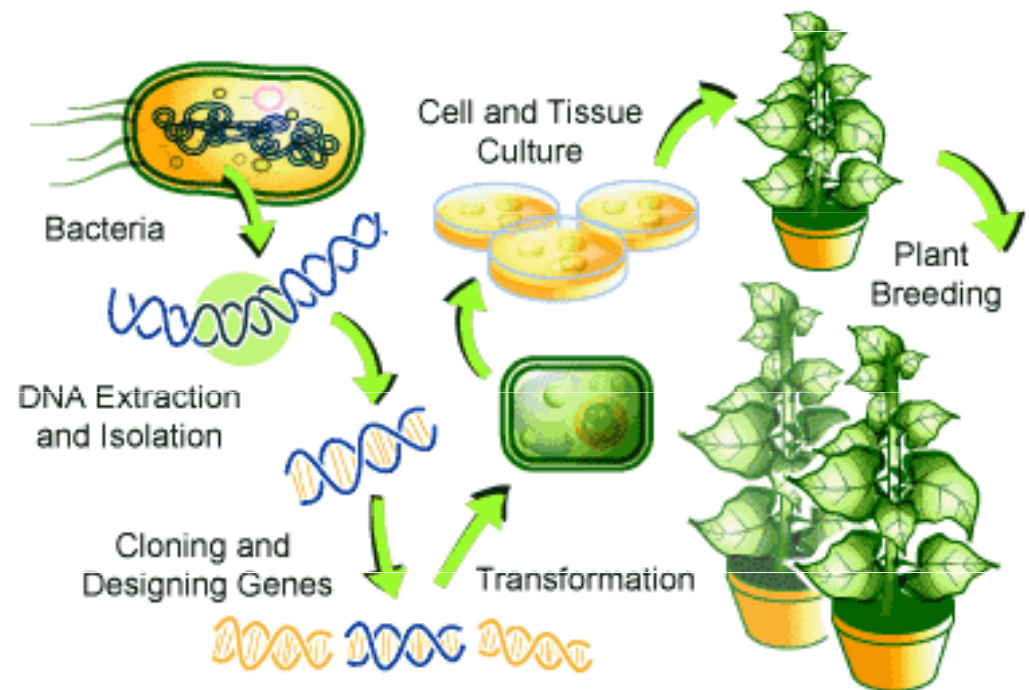
- Místo sledování fenotypu sledujeme při šlechtění přímo požadované geny nebo obecně sekvence spojené s daným znakem (markery)
- Vhodné pro fenotypové znaky kódované malým počtem genů (rezistence k patogenům)



<http://www.knowledgebank.irri.org/>

# Využití rostlinných tkáňových kultur pro genetickou modifikaci rostlin

- Genetické transformace buněk, tkání a orgánů
- Produkce cisgenních a transgenních rostlin (mezidruhových a mezirodových hybridů)



# Genetické modifikace rostlin

## WHERE GMO CROPS ARE GROWN

22 Crops in 41 Countries

The map shows where genetically engineered (GE) crops were approved, grown and commercialized at one time — 22 crops in 41 countries. Some cultivations have been suspended. The countries highlighted in gray no longer grow GE crops.

- |          |              |
|----------|--------------|
| Alfalfa  | Potato       |
| Apple    | Potato       |
| Canola   | Rice         |
| Corn     | Soybean      |
| Cotton   | Soybean Oil  |
| Cowpea   | Squash       |
| Eggplant | Sugar Cane   |
| Flax     | Sugar Beet   |
| Heme     | Sweet Potato |
| Papaya   | Tobacco      |
| Poplar   | Tomato       |

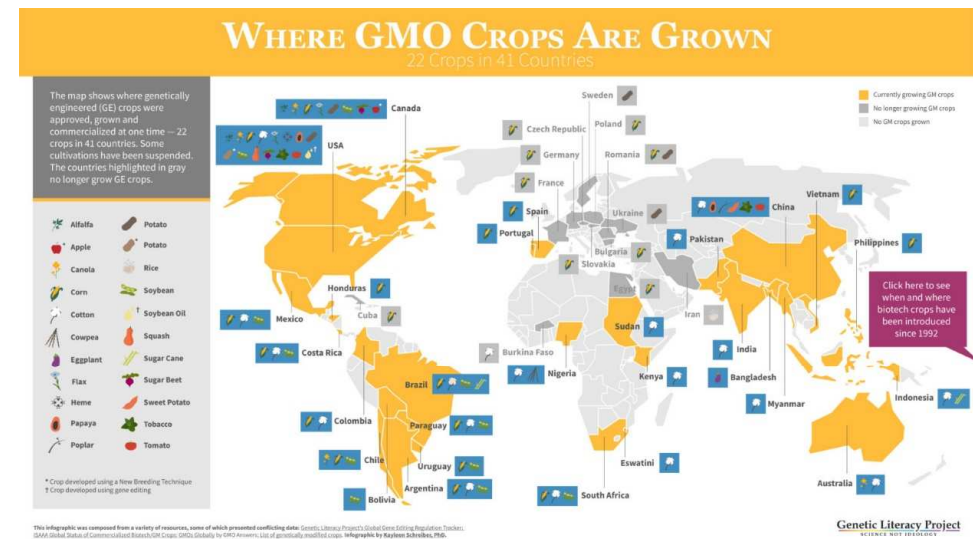
\* Crop developed using a New Breeding Technique  
† Crop developed using gene editing



This infographic was composed from a variety of resources, some of which presented conflicting data: Genetic Literacy Project's Global Gene Editing Regulation Tracker; ISAAA Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops; GMOs Globally by GMO Answers; List of genetically modified crops. Infographic by Kayleen Schreiber, PhD.

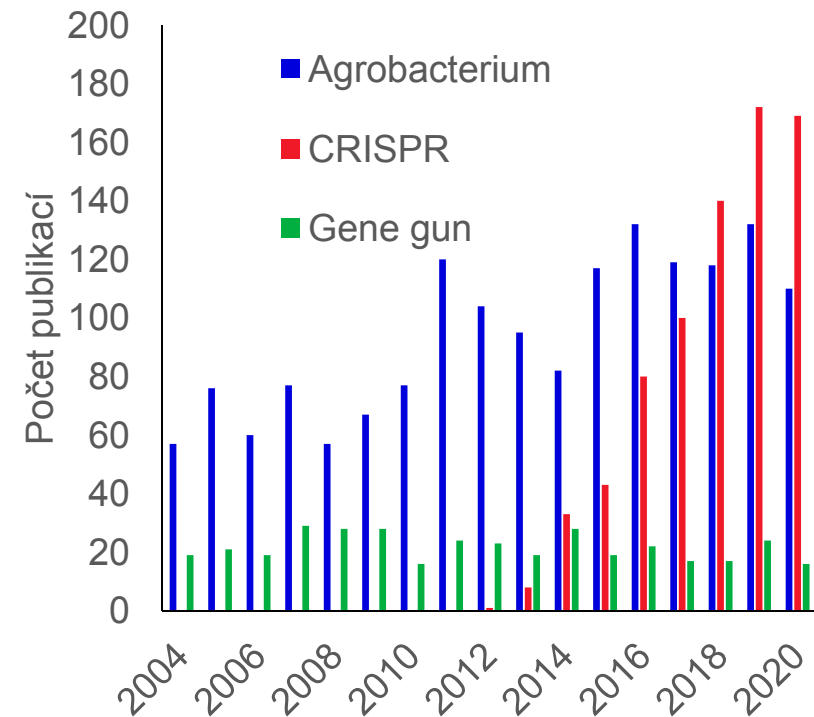
# Genetické modifikace rostlin

- Rekombinantní DNA (z více zdrojových organismů)
- Bakteriální geny kódující proteiny rezistence (insekticidní proteiny, chaperony, enzymy degradující herbicidy) vložené do DNA plodin
- Využití RNA interference expresí fragmentů viru hostitelskou rostlinou



# Technologické přístupy

- Tzv. gene gun (DNA navázaná na částice kovu)
- Transformace pomocí agrobakterií (přírodně schopné přenášet genetický materiál)
- CRISPR/Cas (využití bakteriálního antivirového systému)



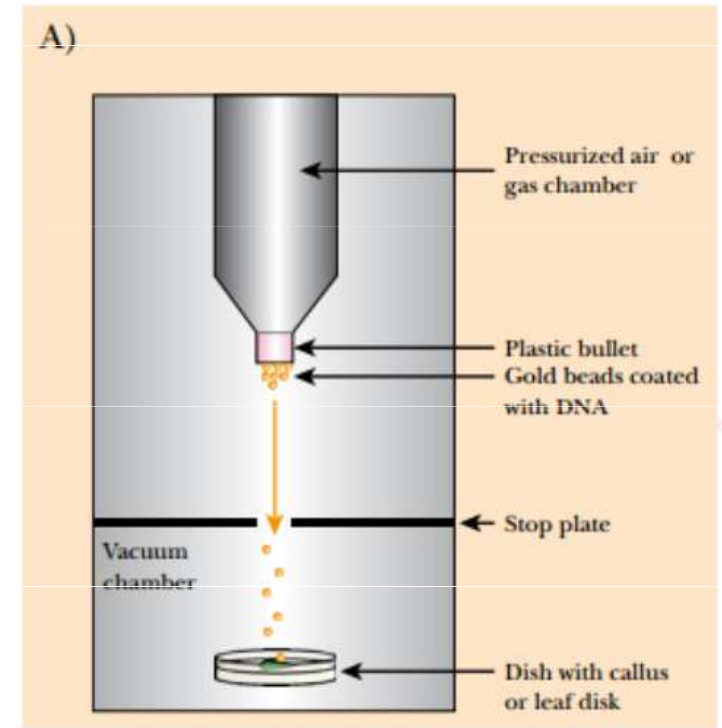
# Gene gun

- Izolace požadovaného genu ze zdrojového organismu, sestavení funkčního konstruktu (promotor, gen, markerové geny atp.)
- Inkorporace konstruktu do vhodného plazmidu
- Pokrytí kovových (zlato, wolfram) částic plazmidem



# Gene gun

- Částice urychlené stlačeným vzduchem pronikají buněčnou stěnou i plasmatickou membránou buněk (obvykle kalus)
- Náhodná inkorporace transgenu do chromosomové nebo plastidové DNA u některých buněk
- Selektce transformovaných buněk, regenerace rostlin



<https://istudy.pk>



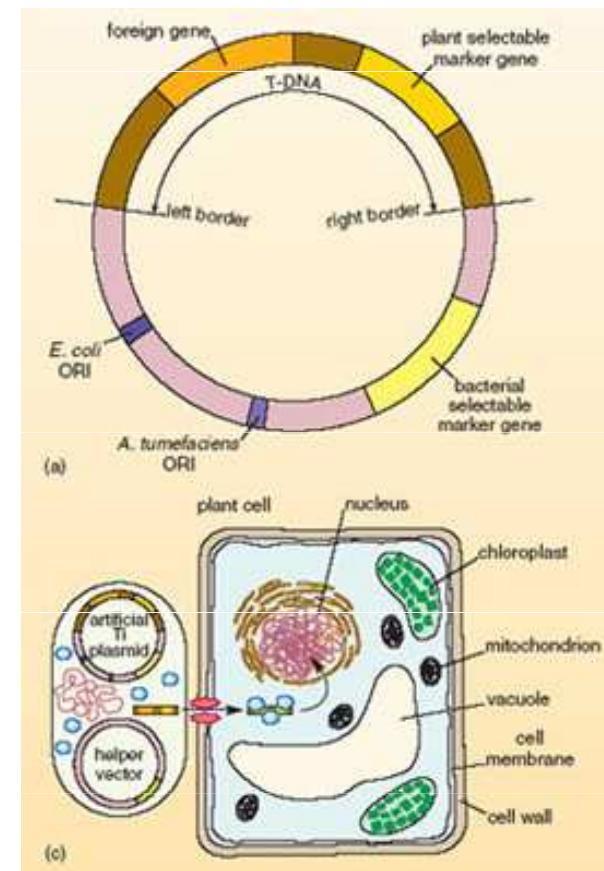
# Transformace pomocí agrobakterií

- *Agrobacterium tumefaciens* je fytopatogenní bakterie (nádorová onemocnění)
- Ti plazmid obsahuje T-DNA, schopnou začlenit se do genomu rostlin



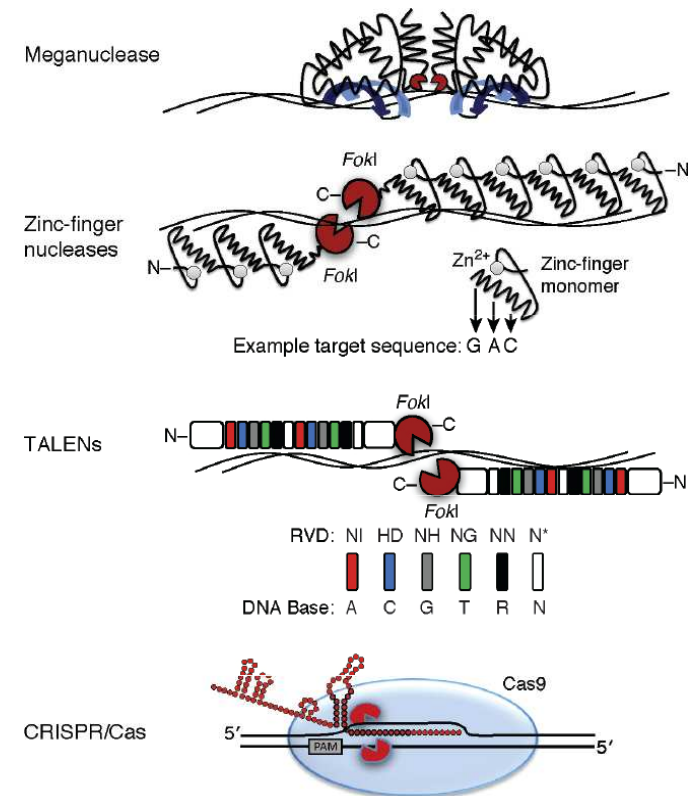
# Transformace pomocí agrobakterií

- Umělé Ti plazmidy s požadovaným genem a markerovými geny jsou namnoženy v *E. coli* a vloženy do *A. tumefaciens*
- Tzv. helper vector kóduje proteiny, které umožní přenos T-DNA
- Infekce rostlinných buněk, selekce, regenerace



# Editace genomu

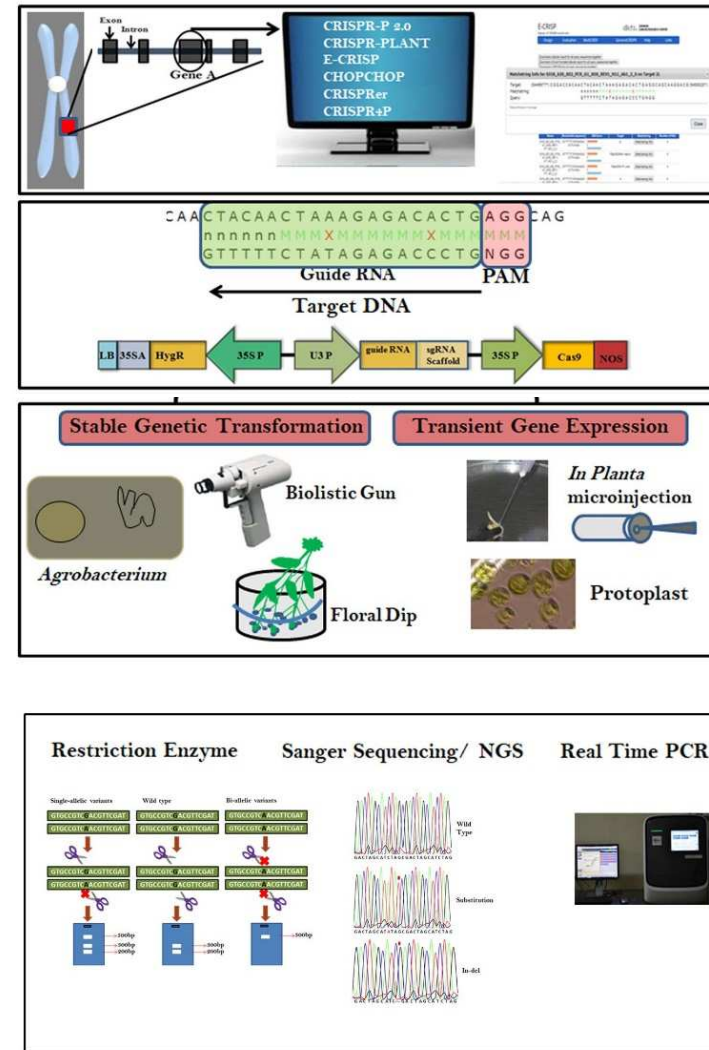
- Využívá nukleasy specifické pro určité sekvence (např. CRISPR/Cas9)
- Změna konkrétního lokusu DNA – knockout konkrétního genu nebo začlenění transgenu
- První plodiny s editovaným genomem se objevují na trhu v USA a v Kanadě (řepka, sója)



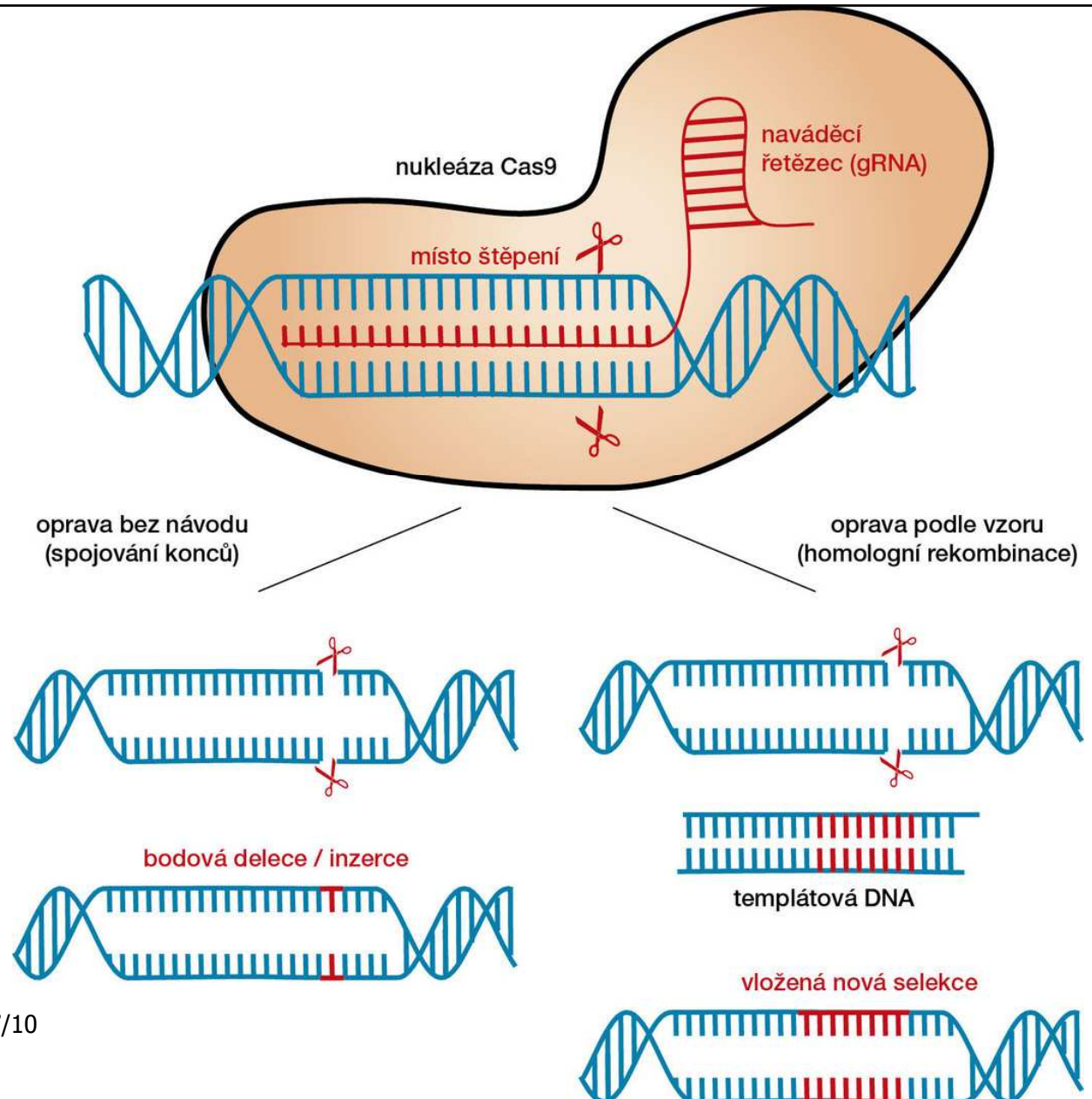
<https://www.nap.edu>

# CRISPR/Cas

- CRISPR/Cas nejméně komplikovaná (stejná nukleasa pro editaci různých sekvencí)
- Výběr genu a návrh gRNA
- Klonování gRNA do vhodného vektoru (obsahuje i sekvenci pro Cas9)
- Vložení do cílové rostliny a selekce

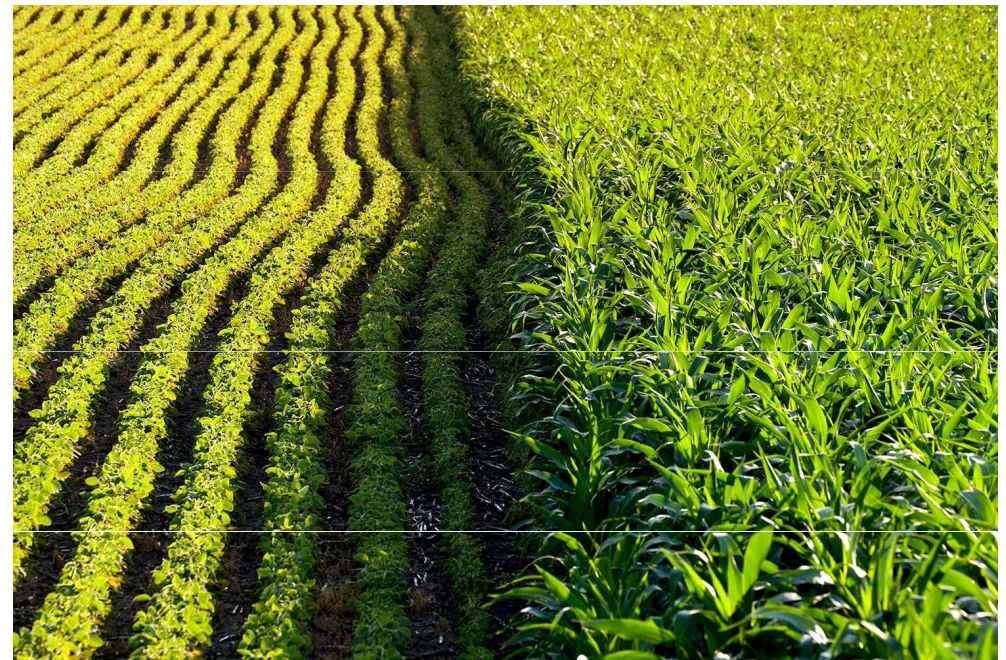


# CRISPR/Cas



# Přínosy rostlinných biotechnologií

- Zvýšení produkce plodin
- Omezení použití pesticidů a umělých hnojiv
- Zvýšení výživové hodnoty potravin (vitaminy, minerály)
- Podpora ekonomiky chudých zemí



# Rizika rostlinných biotechnologií

- Ztráta biodiverzity (preference monokulturního pěstování vysoce výnosných odrůd, migrace genů opylením příbuzných druhů)
- Rozšíření geneticky zvýhodněných invazivních druhů
- Zdravotní riziko (alergeny)



# Další možnosti rostlinných biotechnologií...

- [https://www.ted.com/talks/joanne\\_chory\\_how\\_supercharged\\_plants\\_could\\_slow\\_climate\\_change?utm\\_campaign=tedsread&utm\\_medium=referral&utm\\_source=tedcomshare](https://www.ted.com/talks/joanne_chory_how_supercharged_plants_could_slow_climate_change?utm_campaign=tedsread&utm_medium=referral&utm_source=tedcomshare)