

# GENOVÉ TECHNOLOGIE

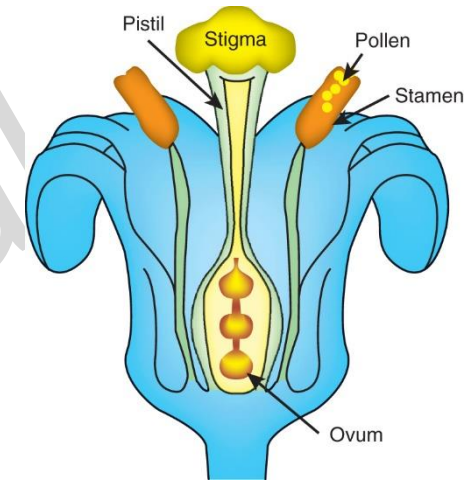
## Rostlinné biotechnologie

Tkáňové kultury, Ti Plasmid, GMO plodiny

Studijní materiál

# Historie šlechtění

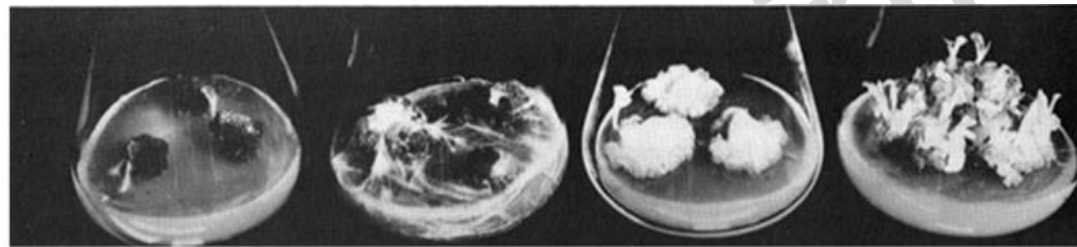
- Po tisíce let se lidstvo snaží zlepšit plodiny
- V minulosti většinou metoda pokus a omyl
- Metoda Křížového opylení (cross pollination)
- Metody klasického křížení jsou zdlouhavé
- V roce 1920 zavedení metod chemické nebo gamma/rtg záření
- Šlechtění mutagenezí populární především u květů
- V současné době strategie transgenních rostlin



# Rostlinné tkáňové kultury

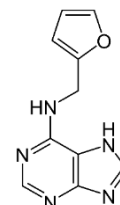


- Rostlinné buňky jsou totipotentní – nedělí se na zárodečné a somatické
- Mohou se vyskytovat ve formě kalusů nebo suspenzní kultury - rostlinné explantáty
- Buněčné suspenzní kultury = protoplasty bez buněčné stěny
- Pro kultivace používáno Murashige and Skoog (MS) médium

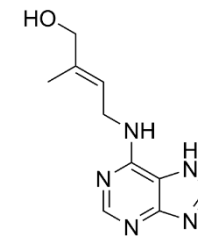


IAA:	2	2	2	2 mg/L
kinetin:	0	0.02	0.2	0.5 mg/L

## Cytokinin

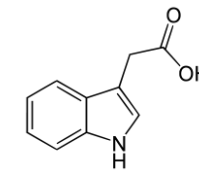


kinetin



zeatin

## Auxin

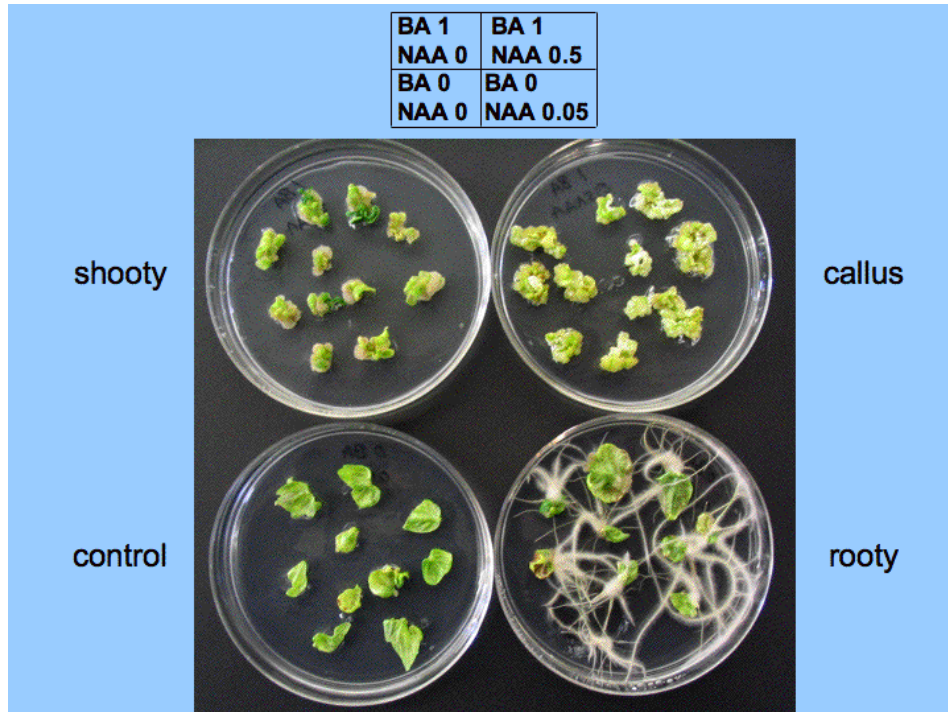


k. indol-3-octová

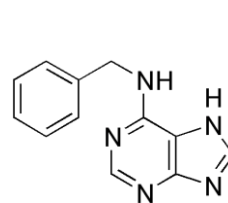
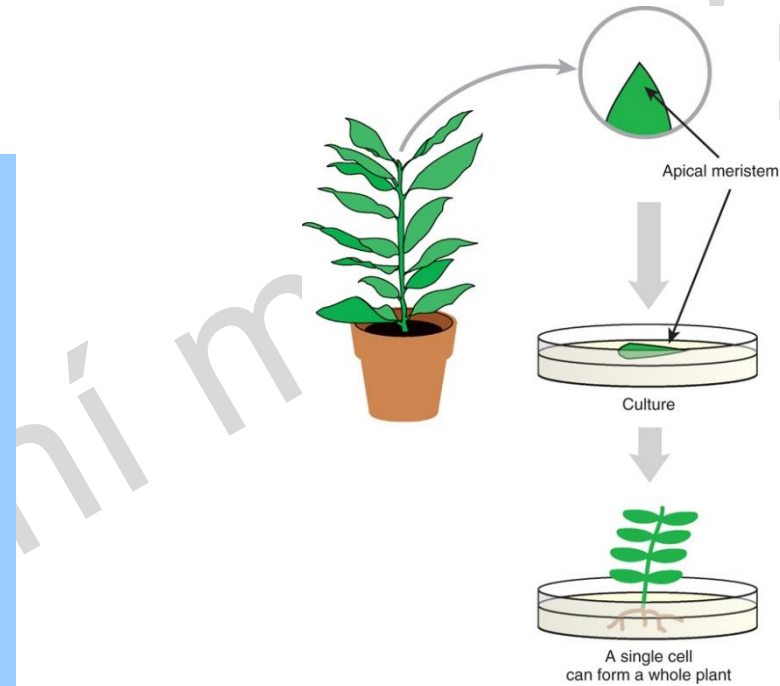
# Rostlinné tkáňové kultury

– Růst rostlin v tkáňových kulturách může způsobovat mutace

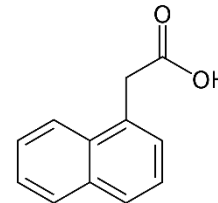
- záměna bazí
- epigenetické změny (vratné)



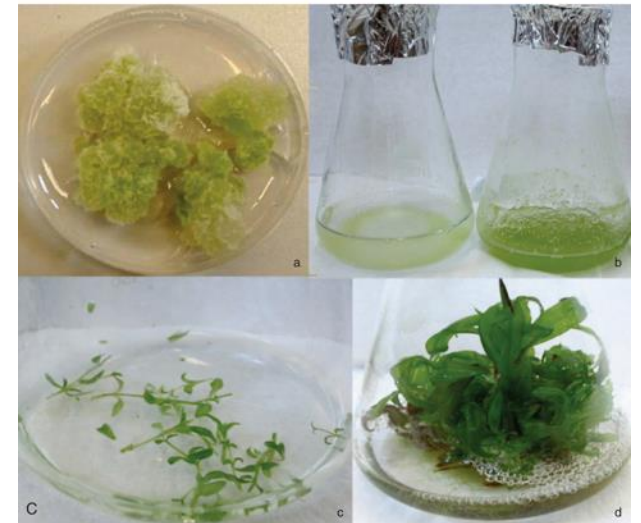
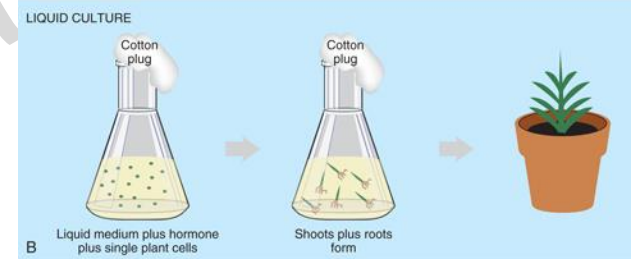
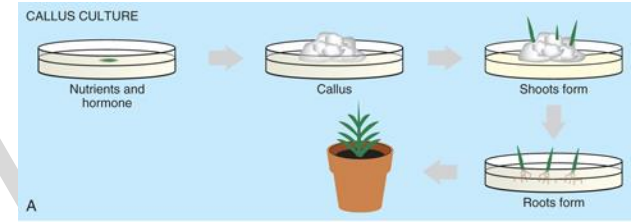
Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Second Edition. Edited by Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem, and Russell L. Jones.  
 © 2015 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2015 by John Wiley & Sons, Ltd.  
 Companion website: [www.wiley.com/go/buchanan/biochem](http://www.wiley.com/go/buchanan/biochem)



6-Benzylaminopurin (BA)

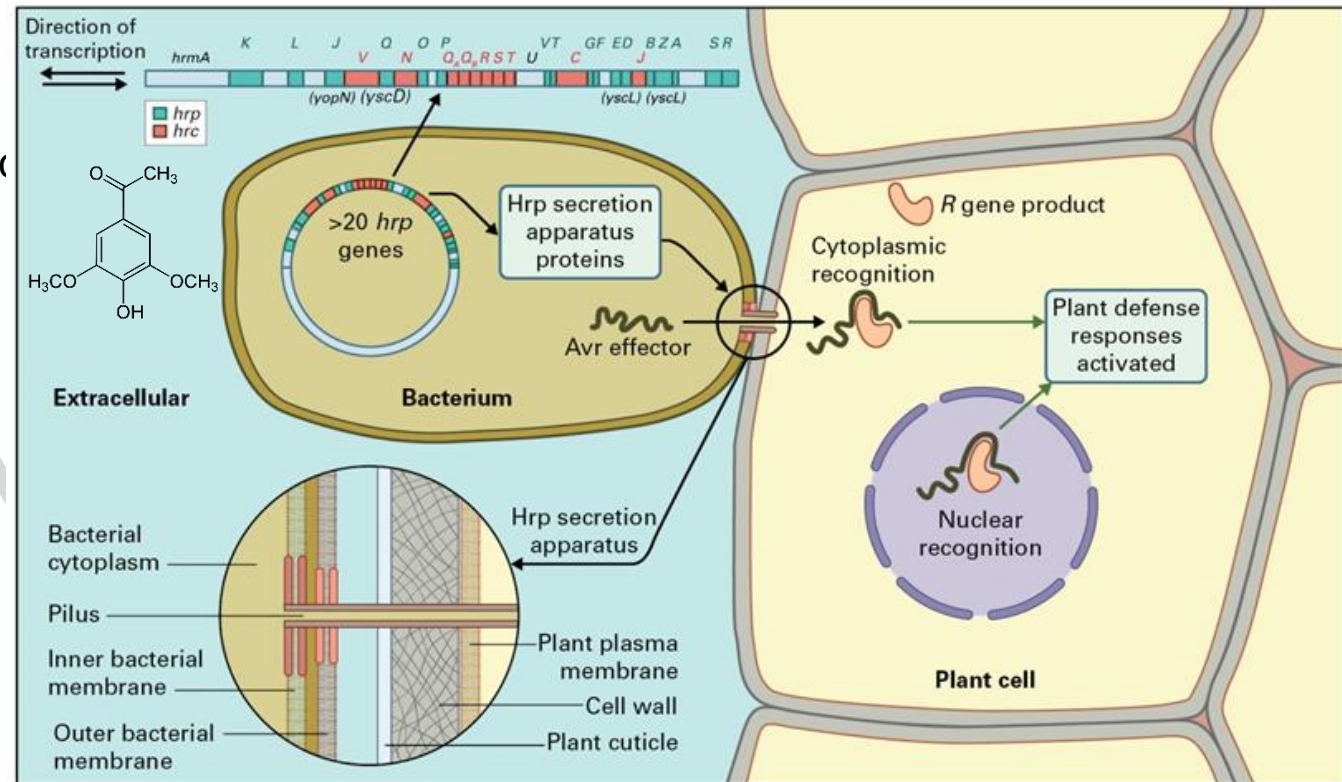
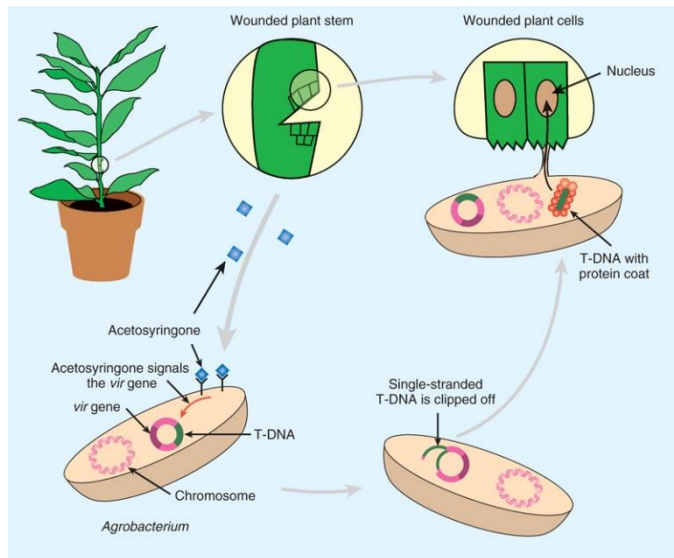


1-Naphthaleneacetic acid (NAA)



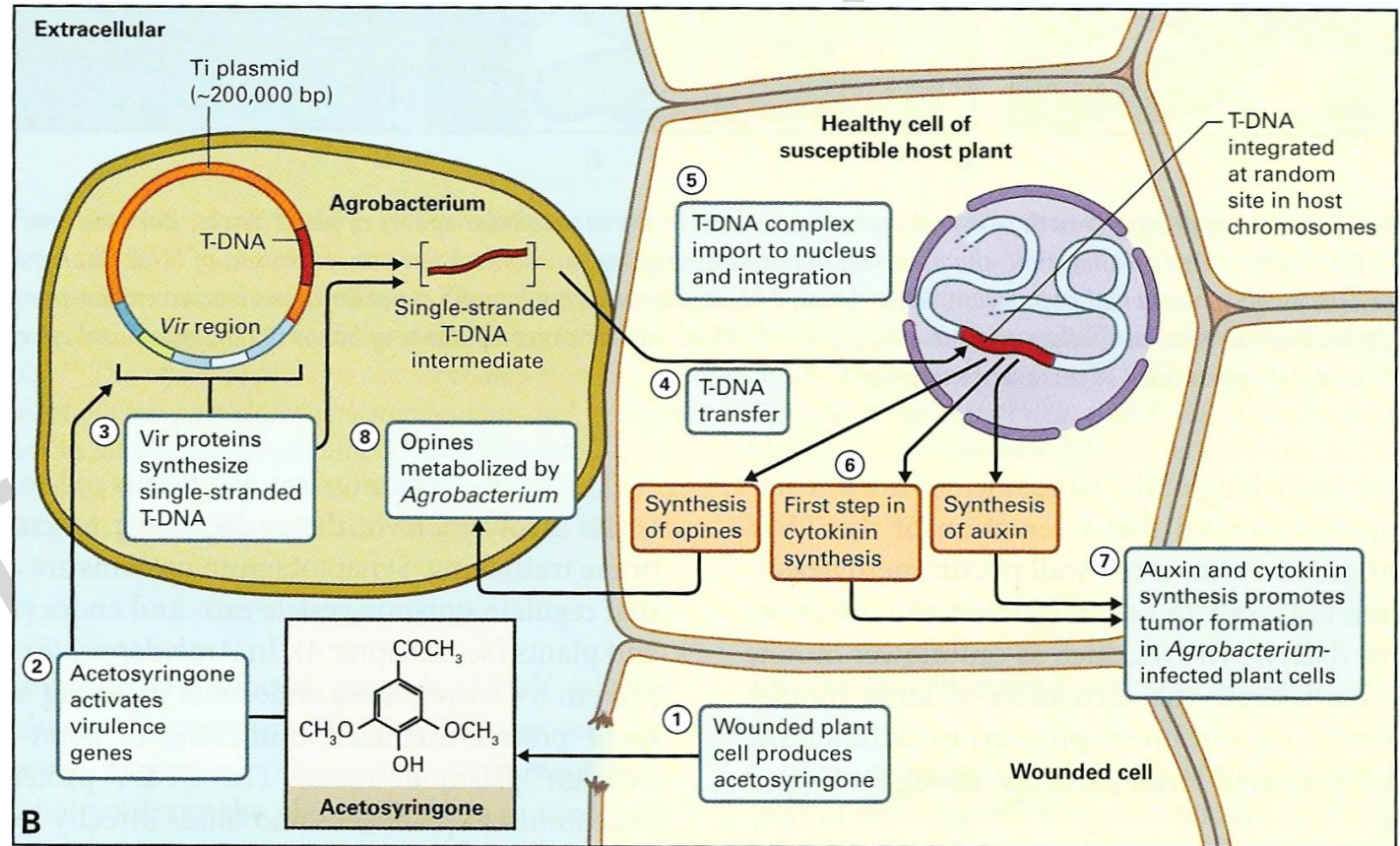
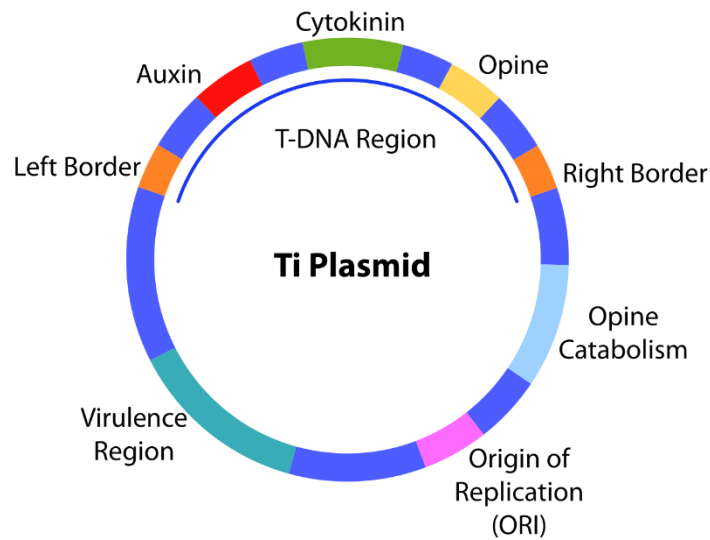
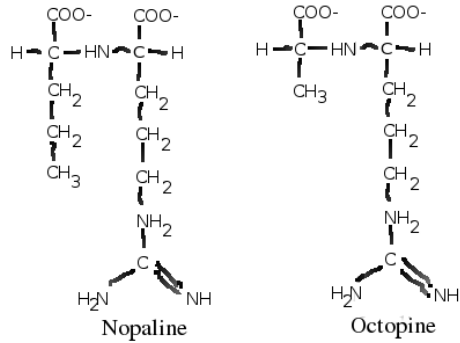
# Ti plazmid

- Tumor-inducing plasmid
- Obsahují ho půdní bakterie rodu *Agrobacterium*
- Bakterie je přitahována k poškozené rostlině pomocí fenolické látky acetosyringonu
- Acetosyringon aktivuje expresi *vir* genů



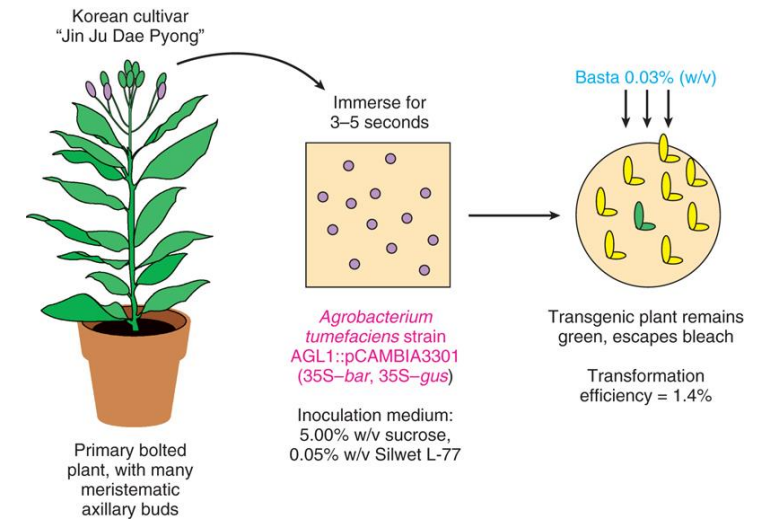
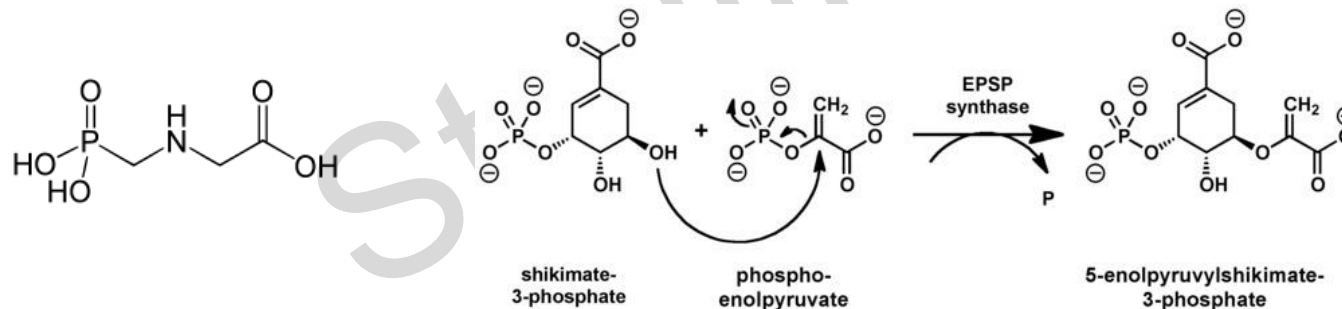
*Biochemistry & Molecular Biology of Plants*, Second Edition. Edited by Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem, and Russell L. Jones.  
© 2015 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2015 by John Wiley & Sons, Ltd.  
Companion website: [www.wiley.com/go/buchanan/biochem](http://www.wiley.com/go/buchanan/biochem)

# Ti plasmid



# Přenos Agrobacteria do rostliny

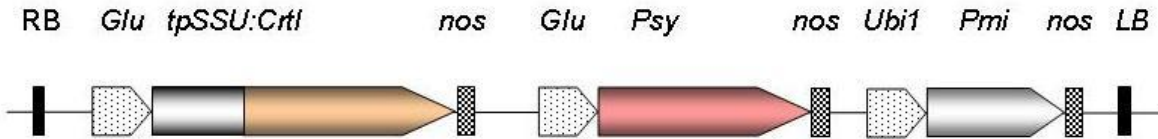
- Metoda přímé infiltrace do listů (*N. benthamiana*)
- Metoda Floral Dip
  - pěstování rostlin do objevení poupat
  - odstranění poupat
  - ponoření do suspence *Agrobakteria* – regenerace poupat
  - T-DNA se stává součástí zárodečných buněk
  - sklizení semen a selekce (BASTA - glufosinát, reportérový gen)



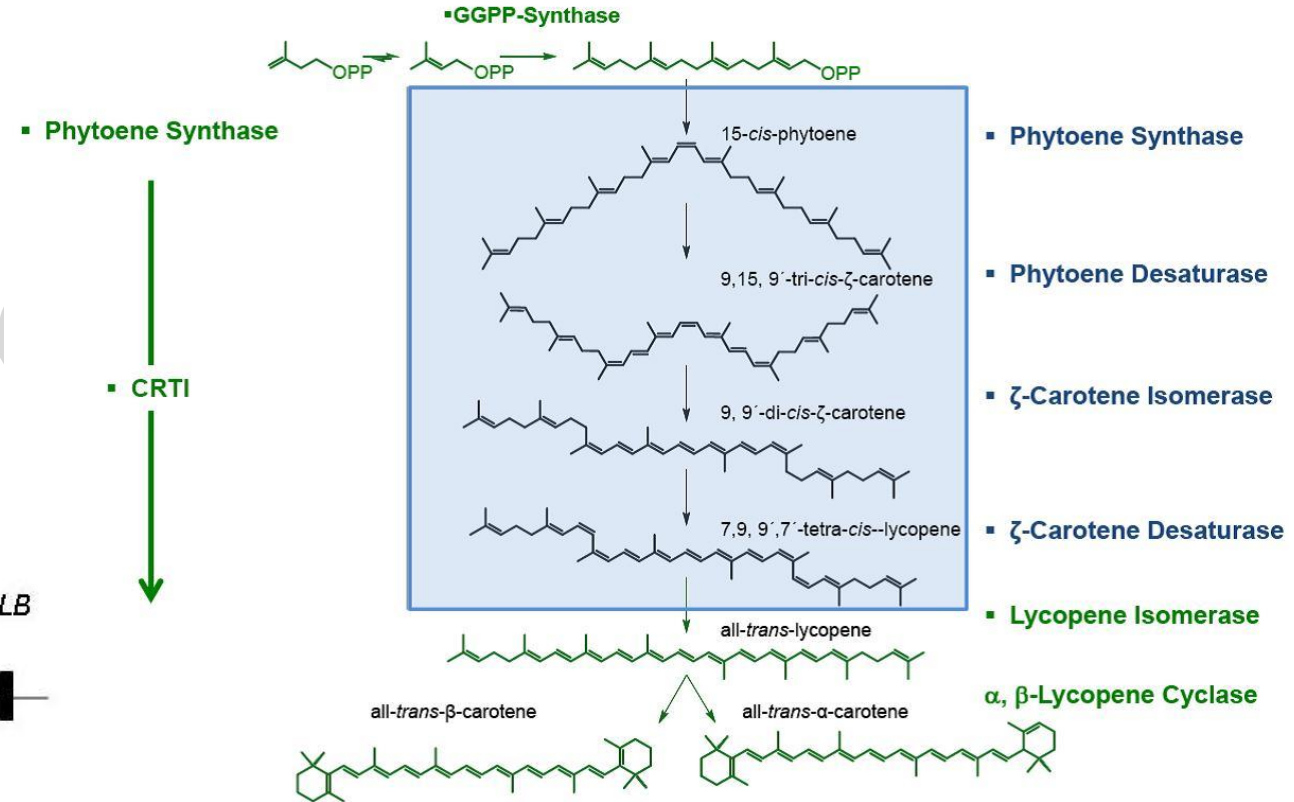
# Zlatá rýže



- Vyvinutá nejprve v 90. letech (GR1) a poté modifikovaná v roce 2004 s transgeny z kukuřice a běžnou půdní bakterií *Pantoea ananas* (GR2)
- geneticky modifikovaná rýže produkuje beta-karoten, prekurzor vitamínu A v bílém endospermu
- v červenci 2021 byla schválena pro pěstování na Filipínách



Ctrl, karoten desaturasa (*Pantoea ananas*); Psy, phytoene syntasa z *Narcissus pseudonarcissus* (GR1) nebo kukuřice (GR2); Pmi, phosphomanoza isomerasa (*E. coli*) pro selekci





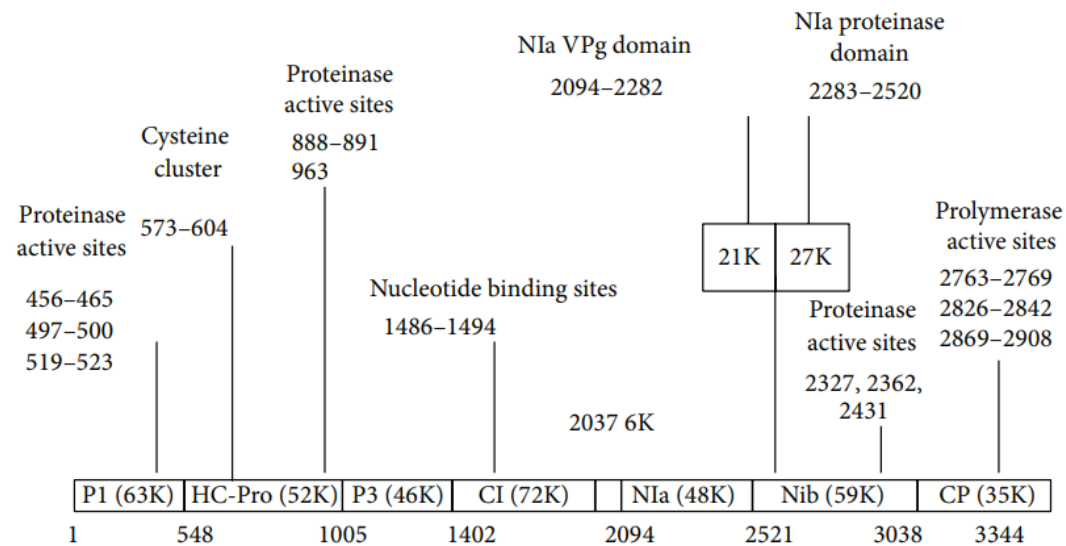
# GMO papája



- Papája je druhou nejdůležitější havajskou ovocnou plodinou
- Papaya Ringspot Virus (PRSV) byl poprvé detekován ve 40. letech 20. století
- Koncem 90. let zasáhl virus každou oblast produkující papáju, což vedlo k poklesu produkce o více než 50 % mezi lety 1993 a 2006.
- Tyto drastické okolnosti vedly ke spolupráci mezi státními úředníky v oblasti zemědělství a pěstiteli papáji ve snaze zvládnout šíření viru (mšicemi)
- Součástí strategie bylo financování havajského ministerstva zemědělství na vývoj transgenní odrůdy papáje.
- v roce 1995 předložení regulačního povolení ke komerční produkci GMO papáje:
  - USA schválily GMO papáju v roce 1998
  - Kanada schválila GMO papáju v roce 2003
  - Japonsko schválila GMO papáju v roce 2011 (po 12 letech)

# GMO papaja

- transgenní papája byla vyvinuta prostřednictvím technologie obalového protein (CP), umlčování RNA a replikázových genů.



<https://youtu.be/2G-yUuiqIZ0>

