

# OBSAH

Předmluva . . . . .	9
<b>1 Obecná sekvenční charakteristika genů rostlinného genomu . . . . .</b>	<b>10</b>
1.1 Charakteristika rostlinných genů . . . . .	10
1.1.1 Promotor . . . . .	12
1.1.2 Zaváděcí sekvence . . . . .	15
1.1.3 Počátek translace . . . . .	15
1.1.4 Exony a introny . . . . .	15
1.1.5 Využití kodonů . . . . .	17
1.1.6 Polyadenylační a terminační signály na koncích genové sekvence DNA . . . . .	17
1.2 Genové rodiny . . . . .	18
<b>2 Jednotlivé typy genů rostlinného genomu . . . . .</b>	<b>19</b>
2.1 Geny složek genetického aparátu . . . . .	20
2.1.1 Geny kódující 25S — 18S rRNA . . . . .	20
2.1.2 Geny pro 5S rRNA . . . . .	24
2.1.3 Geny pro tRNA . . . . .	24
2.2 Geny kódující proteiny . . . . .	25
2.2.1 Geny zásobních proteinů semen a hlíz . . . . .	25
2.2.2 Geny pro leghemoglobiny . . . . .	34
2.2.3 Geny pro enzymy fotosyntézy . . . . .	39
2.2.4 Geny pro stresové proteiny . . . . .	44
<b>3 Regulace genů rostlinného genomu . . . . .</b>	<b>51</b>
3.1 Obecné poznatky z regulace jednotlivých genů . . . . .	51
3.2 Genové rodiny ve vztahu k monogenní a polygenní dědičnosti . . . . .	52
3.3 Hlavní faktory genové regulace . . . . .	52
3.3.1 Orgánově specifická regulace genové aktivity . . . . .	53
3.3.2 Regulace genové aktivity fytohormony . . . . .	55
3.3.3 Regulace genové aktivity světlem . . . . .	57
3.3.4 Regulace genové aktivity délkou dne . . . . .	58
<b>4 Transponovatelné elementy . . . . .</b>	<b>60</b>
4.1 Transponovatelné elementy kukuřice . . . . .	61
4.1.1 Transponovatelný element Cinteotl . . . . .	62
4.1.2 Systém Ac-Ds . . . . .	63

4.1.3	Systém Spm (En-I)	65
4.1.4	Transponovatelný element Mu	66
4.1.5	Další typy transponovatelných elementů kukuřice	67
4.2	Transponovatelné elementy dalších objektů	68
4.2.1	Hledík	68
4.2.2	Petúnie	71
4.2.3	Další objekty	71
4.3	Další změny genomu působené transponovatelnými elementy	71
4.3.1	Stopy po excizi rostlinných transponovatelných elementů	72
4.3.2	Transpozice velkých úseků genomu a chromozomální aberace	72
4.4	Mechanismy aktivity transponovatelných elementů	72
4.4.1	Lokalizace transponovatelných elementů ve struktuře genů	72
4.4.2	Homologie úseků různých typů transponovatelných elementů	73
4.4.3	Molekulární model excizní transpozice	74
4.4.4	Transponovatelné elementy v evoluci	77
4.4.5	Transponovatelné elementy jako nástroje klonování genů	79
<b>5</b>	<b>Repetitivní sekvence rostlinného genomu</b>	<b>80</b>
5.1	Struktura rostlinného genomu	80
5.2	Vysoce repetitivní DNA	82
5.3	Středně repetitivní sekvence	83
5.4	Nestabilita repetitivních sekvencí	84
<b>6</b>	<b>Detekce polymorfie délky restrikčních fragmentů jako spojovací článek mezi genovým inženýrstvím a šlechtěním</b>	<b>86</b>
6.1	Základní princip	86
6.2	Způsoby využití	88
<b>7</b>	<b>Mitochondriální genom</b>	<b>93</b>
7.1	Počet kopií mitochondriální DNA v rostlinných buňkách	93
7.2	Mitochondriální chromozomální DNA	94
7.3	Mitochondriální plazmidy a pylová sterilita	98
<b>8</b>	<b>Chloroplastová DNA</b>	<b>102</b>
8.1	Chloroplastová DNA tabáku	103
8.2	Introny genů chloroplastového genomu	107
8.3	Projev chloroplastových genů	107
8.4	Autonomní replikace úseků chloroplastové DNA v kvasinkách	108
8.5	Geny pro odolnost vůči herbicidům typu triazinu	108
8.6	Chloroplastový mutátor	109
8.7	Chloroplastová DNA při somatické a generativní hybridizaci	109
8.8	Vztahy jaderného a chloroplastového genomu	110
8.9	Sekvence chloroplastové DNA v jaderném genomu	110
<b>9</b>	<b>Transformace rostlinných buněk prostřednictvím bakterií rodu <i>Agrobacterium</i></b>	<b>111</b>
9.1	Bakterie rodu <i>Agrobacterium</i>	113
9.2	Plazmidy Ti <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	113
9.2.1	Detekce přenosu T-DNA do genomů rostlinných buněk	114



9.2.2	Geny T-DNA . . . . .	116
9.2.3	Hraniční sekvence T-DNA . . . . .	118
9.2.4	Úsek virulence . . . . .	119
9.2.5	Počátek replikace plazmidu Ti . . . . .	122
9.2.6	Geny pro degradaci opinů . . . . .	123
9.3	<i>Agrobacterium rhizogenes</i> . . . . .	123
9.4	Zvláštní typy plazmidů Ti . . . . .	128
9.5	Vlastnosti sekvencí T-DNA . . . . .	128
9.5.1	Geny pro syntézu opinů . . . . .	128
9.5.2	Geny pro syntézu fytohormonů . . . . .	129
9.6	Sekvenování T-DNA . . . . .	133
9.7	Mechanismus integrace T-DNA . . . . .	134
9.7.1	Mechanismus excize T-DNA . . . . .	137
9.7.2	Nepřavidelnosti při integraci T-DNA do rostlinného genomu . . . . .	139
9.7.3	T-DNA jako mutagen . . . . .	140
9.8	Dědičnost genů T-DNA . . . . .	141
9.9	Metylace cytosinu jako pravděpodobná příčina potlačení aktivity genů T-DNA . . . . .	144
9.10	Úseky T-DNA v netransformovaném genomu <i>Nicotiana</i> . . . . .	145
9.11	Modifikace T-DNA . . . . .	146
9.11.1	Transpozónová mutagenese . . . . .	146
9.11.2	Princip intermediárních vektorů . . . . .	147
9.11.3	Princip binárních vektorů . . . . .	147
9.11.4	Projev chimérických genů rezistence k antibiotikám . . . . .	148
9.11.5	Některé typy intermediárních vektorů . . . . .	150
9.11.6	Některé typy binárních vektorů . . . . .	153
9.12	Způsoby transformace rostlinných pletiv . . . . .	153
9.12.1	Inokulace . . . . .	153
9.12.2	Transformace rostlinných protoplastů kokultivací s bakteriemi rodu <i>Agrobacterium</i> . . . . .	153
9.12.3	Transformace protoplastů izolovaným plazmidem Ti . . . . .	156
9.12.4	Metody transformace rostlinných pletiv . . . . .	156
<b>10</b>	<b>Vnášení klonovaných genů do rostlinného genomu prostřednictvím bakterií rodu <i>Agrobacterium</i> . . . . .</b>	<b>158</b>
10.1	Selektovatelné geny . . . . .	158
10.2	Úrovně studia exprese transgenů . . . . .	159
10.3	Transgenóze jako nástroj studia genové regulace . . . . .	160
10.3.1	Kombinace úseků promotorů transgenů . . . . .	167
10.3.2	Směrování proteinů kódovaných transgeny do buněčných organel . . . . .	167
10.3.3	Vnášení transponovatelných elementů . . . . .	168
10.3.4	Geny, které kódují antisense RNA . . . . .	169
10.4	Využití transgenóze ve šlechtění rostlin . . . . .	170
10.4.1	Rezistence kulturních rostlin k herbicidům prostřednictvím transgenóze . . . . .	171
10.4.2	Odolnost rostlin k hmyzím škůdcům . . . . .	175
10.4.3	Projev některých dalších šlechtitelsky využitelných transgenů . . . . .	176
10.5	Šlechtitelské využití transgenů . . . . .	176
10.6	Využití genu 2 z T-DNA v systému jaderně podmíněné pylové sterility . . . . .	177
<b>11</b>	<b>Přímá transformace . . . . .</b>	<b>178</b>
11.1	Transformace protoplastů . . . . .	178

11.2 Dočasná exprese vnesených genů v protoplastech . . . . .	181
11.3 Dočasná exprese cizorodé mRNA . . . . .	181
11.4 Další metody přímé transformace především obilovin . . . . .	183
<b>12 Rostlinné viry v genovém inženýrství . . . . .</b>	<b>184</b>
12.1 Virus mozaiky tabáku (TMV) . . . . .	189
12.2 Virus ránových nádorů (WTV) . . . . .	192
12.3 Virus zlaté mozaiky rajčete (TGMV) . . . . .	193
12.4 Virus mozaiky kvěťáku (CaMV) . . . . .	198
12.5 Manipulace rostlinných genů pro rezistenci k virům . . . . .	205
12.6 Agroinfekce . . . . .	207
12.7 Viry jako vektory cizorodých genů . . . . .	207
<b>13 Viroidy . . . . .</b>	<b>209</b>
13.1 Typy viroidů . . . . .	209
13.2 Etiologie viroidů . . . . .	210
13.3 Primární struktura viroidů . . . . .	210
13.4 Mechanismus vzniku symptomů infekce viroidy . . . . .	212
13.5 Využití vektorů obsahujících cDNA viroidů ke studiu mechanismu replikace viroidů . . . . .	214
13.6 Reprodukce viroidů . . . . .	215
13.7 Transformace a agroinfekce viroidy . . . . .	215
13.8 Diagnostika PSTV . . . . .	216
<b>SLOVNÍČEK OBECNÝCH TERMÍNŮ MOLEKULÁRNÍ GENETIKY A GENOVÉHO INŽENÝRSTVÍ . . . . .</b>	<b>217</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK . . . . .</b>	<b>223</b>
<b>LITERATURA . . . . .</b>	<b>224</b>