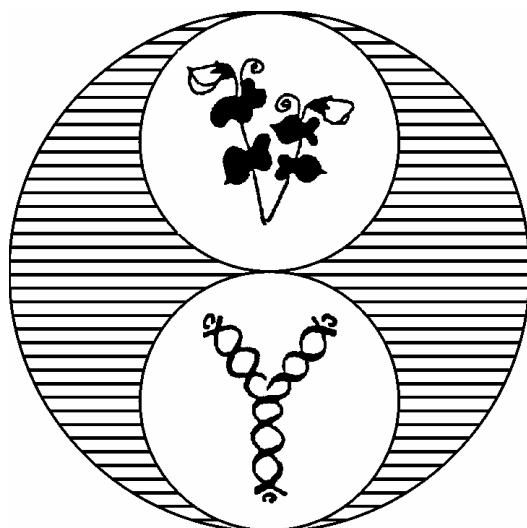


GENETICKÁ SPOLEČNOST GREGORA MENDELA

INFORMAČNÍ LISTY



Číslo 27

Červenec 2004

OBSAH

Zápis ze schůze výboru GSGM konané dne 12. 6. 2003	1
Zápis ze schůze výboru GSGM konané dne 20. 1. 2004	2
Vyúčtování hospodaření GSGM za rok 2003	4
Vyhlášení nového kola soutěže o Cenu GSGM	6
Co nového v genetice	
M. Slaninová, M. Fuseková: Rekombinácia DNA v rôznych bunkových procesoch.....	7
M. Ondřej: Geneticky modifikované odrůdy rostlin	24
S. Zadražil: RNA klub.....	36
Představujeme genetická pracoviště	
Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR	38

Informační listy

číslo 27, červenec 2004

Vydává Genetická společnost Gregora Mendela

Redakční rada - Výbor GSGM

Výkonný redaktor - Prof. RNDr. Jiří Doškař, CSc.

Katedra genetiky a molekulární biologie

Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity v Brně

Kotlářská 2, 611 37 Brno

ISSN 1210-6267

Vážení členové GSGM,

prosíme Vás o uhrazení členského příspěvku za rok 2004, který činí 150 Kč (důchodci a studenti 75 Kč). Členský příspěvek uhrad'te buď přiloženou poštovní poukázkou, nebo v kterékoliv pobočce Komerční banky na účet číslo: **199096530217/0100**, který je veden u KB v Brně. V případě úhrady prostřednictvím poboček Komerční banky uveďte prosím též Váš variabilní symbol, který je uveden v příslušné rubrice na poukázce.

Děkujeme

Výbor GSGM

Zápis ze schůze výboru GSGM konané dne 12. června 2003

Přítomni: S. Zadražil, P. Pikálek, D. Vlček, J. Fajkus, J. Relichová, M. Vojtíšková, J. Doškař, J. Šmarda, E. Miadoková, J. Dvořák, S. Rosypal
Omluveni: M. Ondřej, A. Kormuťák, M. Slaninová, P. Ráb

Program:

1. Zhodnocení IL č. 26 a plánovaný obsah IL č. 27

Obsah IL 26 odpovídá záměru. Trvá snaha o získání historických materiálů o činnosti GSGM (prof. Zadražil bude kontaktovat pracovníky Mendeliana). V rubrice „Představujeme genetická pracoviště“ je informace o BFÚ velmi stručná – je to z toho důvodu, že BFÚ má velmi rozsáhlé aktivity v dané oblasti, proto se autorka omezila pouze na odkazy. Při rozesílání bude připojena informace o placení členských příspěvků a dále vyhlášení Ceny GSGM za vědecký přínos v oblasti molekulární biologie a genetiky.

V IL č. 27 se plánuje a) článek dr. Vojtíškové „Současné znalosti o struktuře DNA“, b) upoutávka na příští genetickou konferenci, c) informace o dalších seminářích a konferencích – Nitra, Košice, Olomouc, d) informace o aktivitách členů GSGM v genetice.

2. Příští genetická konference

Plánované datum – konání konference v únoru v Praze nevyhovuje, proto byl podán návrh na odsunutí na podzim 2004 v Praze nebo v únoru v Českých Budějovicích, kde dle sdělení je možnost zadat organizaci konference profesionální firmě - domluví členové GSGM z Prahy včetně možnosti připojení se Mikrobiologické společnosti jako spolupřátel. Přednášky na téma virologie, sekce plakátových sdělení z celé oblasti genetiky.

3. Podpora aktivit pre- a postgraduálních studentů

Konference studentů 3. ročníku na UK – možnost rozšíření i pro diplomanty a zájemce z jiných pracovišť.

Vyhradit jeden den na genetické konferenci krátkým presentacím prací doktorandů a burze témat vypisovaných pro doktorská studia v oblasti genetiky .

4. Různé

prof. Relichová informovala o současném stavu formování FEGSu – podle sdělení presidenta FEGSu prof. Coveho je malý zájem o aktivní účast v této federaci.

Byl diskutován stav placení členských příspěvků se závěrem, kdo neplatí tři roky, nebude dále veden jako člen GSGM.

Zapsala: *J. Relichová*

Zápis ze schůze výboru GSGM konané dne 20.1.2004

Přítomni: S. Zadražil, P. Pikálek, A. Kormuťák, J. Šmarda, D. Vlček, J. Fajkus, J. Dvořák, J. Relichová, J. Doškař, M. Slaninová, M. Ondřej, E. Miadoková, S. Rosypal

Omluveni: P. Ráb, M. Vojtíšková

- 1) **Konání příští genetické konference.** S. Zadražil informoval, že se mu nepodařilo zajistit spolupráci s pražskými virology ke konání konference. Doporučil, aby se konání konference posunulo na únor 2005. Konference by měla stejné zaměření jak bylo původně plánováno, tj. na virologii, včetně rostlinné virologie ve spolupráci s pracovníky z Č. Budějovic. Bude zachována sekce obecných genetických témat prezentovaných formou plakátových sdělení.
- 2) **Cena GSGM.** J. Fajkus informoval o uchazečích o tuto cenu. Celkem se přihlásilo 5 uchazečů se šesti návrhy: Peter Chrenek (2krát), Miroslav Chovanec, Katarína Vašíčková – Starčeková, Aleš Knoll a Barbara Sviežená – Nagyová. Výbor pověřil tři své členy (Fajkuse, Kormuťáka a Šmardu), aby návrhy prostudovali a posoudili. Poté výbor schválil jejich návrh, aby cena v tomto kole nebyla udělena; přihlášené práce byly kvalitní, avšak žádný z uchazečů se svou prací (pracemi) nevymykal natolik, aby mohl cenu obdržet. Toto kolo se tak uzavírá a vyhlašuje se nové kolo soutěže o Cenu GSGM, jehož uzávěrka bude 31. října 2004. Podrobnější informace bude zveřejněna v příštích IL a na web stránkách GSGM.
- 3) **Náplň příštího čísla Informačních listů.** (Uzávěrka 30. 4. 2004 – J. Doškař).
 - Představení dalšího pracoviště: Ústav živočišné fyziologie AV ČR Liběchov
 - Článek: M. Slaninová – Rekombinácia
 - Článek: M. Ondřej - O GMO v EU
 - Stav členské základny – noví členové (aktualizace bude provedena na web stránkách)
 - Výzva k přípravě nových voleb do výboru GSGM
 - Hospodaření za rok 2003
 - Záписy z posledních dvou schůzí výboru
 - Vyhlášení druhého kola soutěže o Cenu GSGM
 - Zpráva o RNA klubu (S. Zadražil)
- 4) **Informace o konaných a chystaných akcích.**
 - S. Zadražil, P. Pikálek – na PřF UK se konala konference studentů Bc. a Mgr. studia, byla zdařilá, proto bude v příštím roce rozšířena i pro studenty jiných VŠ a GSGM bude jako spoluorganizátor.
 - S. Zadražil – Klub RNA, který se konal v Praze a o kterém byli členové GSGM informováni měl dobrou úroveň a byl o něj velký zájem. Proto by bylo dobré uspořádat tuto akci i další rok za spoluorganizátorství GSGM.
 - D. Vlček – GSGM je spoluorganizátorem tradiční mezinárodní akce DNA – Repair Workshop, kterou organizuje Ústav experimentální onkologie SAV koncem května ve Smolenicích.
- 5) **Hospodaření.** J. Dvořák a M. Slaninová seznámili výbor s hospodařením GSGM a stavem účtu v ČR (20.357,-Kč) a SR (16.173,-Sk) a předložili vyúčtování. Bylo konstatováno, že ne všichni členové platí příspěvky. J. Dvořák dodá podrobnější zprávu o platících/neplatících členech v ČR. U členů ze Slovenska to zatím nelze přesně dohledat.

- 6) **Příprava nových voleb.** Členové společnosti budou vyzváni, aby do 31. října podávali návrhy na členy výboru (navrhovaný s tím musí předem souhlasit). V listopadu budou rozeslány volební lístky a dokonce roku budou volby uzavřeny.
- 7) **Různé.**
- Bude navázán kontakt s IGF (International Genetic Federation) – J. Relichová, J. Fajkus.
 - Na web stránky společnosti budou doplněny samostatné zápisy ze schůzí (dosud tam byly jako součást IL) – zajistí J. Doškař.

Zapsala: *J. Relichová*

Vyúčtování hospodaření GSGM za rok 2003

Zůstatek ke 31.12. 2002 **12 191,10 Kč**

z toho:

na účtu KB	12 163,30 Kč
v pokladně	30,80 Kč

Příjmy v roce 2003 **21 177,94 Kč**

Z toho

1. úroky z účtu u KB	17,64 Kč
2. Genetická spol. Roslin institut	15 510,30 Kč
3. členské příspěvky:	5 650,- Kč

Z toho

placené na účet KB	5 100,- Kč
placené hotově	550,- Kč

Výdaje v roce 2003 **13 011,75 Kč**

Z toho

1. poštovné za IL 2003:	1 274,- Kč
2. tvorba www stránek společnosti	3 000,- Kč
3. program Optimal	2 226,80 Kč
4. registrace domény	3 100,- Kč
5. občerstvení pro výbor	550,60 Kč
6. poukázky A – Česká pošta	164,70 Kč
7. poplatky KB:	2 695,65 Kč

Z toho

za vedení účtu	1 560,- Kč
za položky	1 135,65

Zůstatek ke dni 31.12.2003 **20 357,29 Kč**

z toho:

na účtu KB	19 366,88 Kč
v pokladně	990,40 Kč

Vyúčtoval J. Dvořák, pokladník

Vyúčtovanie hospodárenia slovenskej časti GSGM k 31.12. 2003

<u>Zostatok k 31.12.2002</u>	A- konto	9371,68 SK
	B- hotovosť	5342,10 SK
A		
Bankové operácie (dok.1)		- 744,39 SK
Príjmy z členských poplatkov k 31.12. 2003 (dok.1)		+ 1 100,00 SK
<hr/>		
Zostatok na účte k 31.12.2003 (dok.1)		9 727,29 SK
B		
Členské príspevky (dok.2)		+ 1 900,00 SK
Príspevok na ŠVK (dok.3)		- 796,20 SK
<hr/>		
Zostatok hotovosti k 31.12. 2003		+ 6 445,90 SK
Celkový finančný stav k 31. 12. 2003		+ 16 173,19 SK

Bratislava, 19. 1. 2004

Vyúčtovala: M. Slaninová

Vyhlášení nového kola soutěže o cenu Genetické společnosti Gregora Mendela

Výbor GSGM vyhlašuje nové kolo soutěže o cenu Genetické společnosti Gregora Mendela.

Statut ceny GSGM

1. Cena je udělována Genetickou společností Gregora Mendela a sponzorována firmou Genetica, s.r.o.
2. Cena ve výši 1 500 EUR se uděluje za práci nebo soubor prací, které představují význačný přínos v oboru a byly publikovány v období nejvýše tří let před podáním návrhu (včetně ročníku podání návrhu). Cena kromě finančního ohodnocení zahrnuje plenární přednášku na Konferenci GSGM
- 3.
4. Cení není omezena speciálními kvalifikačními požadavky. Oceněný musí být občanem České nebo Slovenské republiky ve věku do 35 let a členem GSGM v době podání přihlášky do soutěže.
5. Přihláška se podává na formuláři, k němuž se jako příloha předkládá stručný vědecký životopis a po jednom výtisku publikací (včetně krátkého abstraktu max. 1 strana A4) vydaných v posuzovaném období, z nichž je zřejmý zásadní přínos předkladatele k publikovaným výsledkům (zpravidla první autor).
6. O udělení ceny rozhoduje výbor GSGM nebo jím ustavená odborná komise.
7. Anotace vítězného souboru prací bude otištěna jako příspěvek ve sborníku příspěvků z Konference GSGM.
8. Udělují se nejvýše dvě ceny jednou za dva roky.
9. Cenu není možno získat opakovaně.

Uzávěrka přijímání přihlášek je 31. října 2004.

Formulář přihlášky je umístěn na adrese:
http://orion.sci.muni.cz/gsgm/cena__GSGM.htm

Výbor GSGM

CO NOVÉHO V GENETICE

Rekombinácia DNA v rôznych bunkových procesoch

*Miroslava Slaninová a Monika Fuseková
Katedra genetiky PriFUK, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava*

Rekombinačné systémy sa v bunke zúčastňujú celého radu indukovaných procesov vyžadujúcich výmenu a prenos DNA ako aj bežného metabolizmu DNA. K dôkazu ich nesmiernej dôležitosti môže poslúžiť fakt, že každú hodinu prejde cez každého z nás 200 miliónov gama lúčov z rozpadu prirodzene sa vyskytujúcich rádionuklidov (Natl. Rad. Protect. Board, 1986). Jedno percento kyslíka, ktorý dýchame je premenené na 3×10^{22} voľných radikálov na jedného človeka za jednu hodinu (Chance a kol., 1979). To je len malá časť procesov, ktoré spôsobujú vznik dvojláknových zlomov v DNA. Množstvo zlomov vznikajúcich v DNA jedného človeka počas jeho života je nepredstaviteľné a tiež efektivita systému, ktorý napriek tomu dokáže zreštaurovať chromozómy a udržať integritu genómu. Neustále sa objavuje množstvo nových informácií o rekombinačných procesoch, množstvo nových génov a ich produktov a informácie o ich prepojení so sieťou regulátorov bunkového cyklu. Pri možnostiach dnešnej techniky je možné stanoviť štruktúru proteínov a *in vivo* ich lokalizovať v bunke, to však stále nestačí na objasnenie kompletného mechanizmu rekombinačných procesov.

Všeobecne je rekombinácia charakterizovaná ako výmena alebo prenos genetickej informácie medzi dvoma molekulami. Základné typy rekombinácie sú:

Homologická rekombinácia, ktorá prebieha formou zložitej interakcie medzi molekulami DNA s úplnou, alebo takmer úplnou homológiou. Informácia, ktorá sa stratí pri vzniku a úprave zlomov je s vysokou presnosťou nahradená sekvenciou intaktnej homologickej molekuly DNA, a preto je tento proces veľmi presný. Hrá významnú úlohu v meiotickom a mitotickom cykle väčšiny eukaryotických buniek. V meióze k jej základným úlohám patrí fyzický kontakt medzi homologickými chromozómami a zabezpečenie ich správneho rozdelenia v prvom meiotickom delení. Okrem toho prispieva aj k diverzite genómu. Hlavnou úlohou homologickej rekombinácie v mitotickom procese je oprava dvojreťazcových zlomov, ktoré vznikajú po kolapsoch replikačnej vidlice, po úprave spontánných poškodení a po pôsobení vonkajších faktorov spôsobujúcich poškodenia DNA. Okrem toho je potrebná aj pre špeciálne procesy ako je napríklad prepínanie párovacieho typu u kvasiniek (Egel a kol. 1984).

Nehomologická rekombinácia nazývaná aj nehomologické spojenie koncov DNA (NHEJ) je na prvý pohľad jednoduché spojenie koncov DNA s malou alebo žiadnou homológiou. Proces

je tiež pomerne zložitý, nie je však presný a môže viesť k strate informácie. Je známa najmä u vyšších eukaryotov, kde je veľmi bežným procesom pri včleňovaní cudzorodej DNA do chromozómov. Je však veľmi dôležitá pri opravách zlomov najmä v cicavčích bunkách a samozrejme v životne dôležitom procese programovaného preusporiadania chromozómu ako je VDJ rekombinácia ľudských imunoglobulínových génov.

Homologická rekombinácia

Homologická rekombinácia bola prvýkrát popísaná v 40. rokoch Lederbergom (1947) a ešte mnoho rokov potom bola považovaná len za sexuálny proces analogický eukaryotickej meióze. Až v polovici 60. rokov keď boli objavené prvé rekombinačné mutanty, ktoré boli zároveň citlivé na poškodenia DNA, objavila sa možná súvislosť rekombinácie s opravou DNA (Clark a Margulies, 1965; Howard-Flanders a Theriot, 1966).

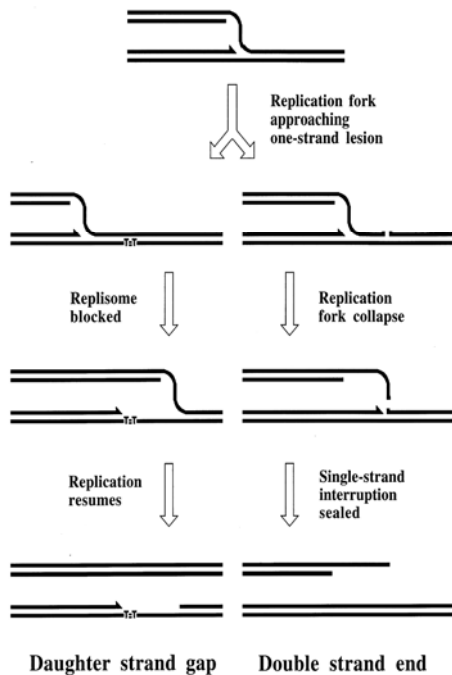
Keďže prvé rekombinačné mutanty boli známe u baktérií *E. coli*, najviac informácií máme o rekombinačných procesoch práve v tejto baktérii. Poškodenia ako pyrimidínové diméry, alkylačné poškodenia a jednoreťazcové zlomy sú u *E. coli* efektívne opravované nerekombinačným typom opravy, dvojreťazcové poškodenia sú najčastejším poškodením, ktoré je opravované v baktériách homologickou rekombináciou (Kuzminov, 1999). Dvojreťazcové poškodenia vznikajú vplyvom X žiarenia a úpravy niektorých aduktov ako sú medzireťazcové väzby, ale aj pri replikačných poruchách. Deje sa to v dôsledku:

1. obídienia poškodenia pri replikácii, výsledkom ktorého je medzera v dcérskom reťazci (DSG).
2. replikačného kolapsu, keď je replizóm doslova vyhodенý z reťazca následkom medzery v DNA. Výsledkom druhého procesu je voľný dvojreťazcový koniec (DSE) (obr. 1) (Kuzminov, 1999).

E. coli je extrémne citlivá hlavne na dvojreťazcové zlomy, je schopná prežiť vyše 70 vnútreťazcových väzieb (*cross-links*), 100-200 medzier v dcérskom reťazci, prežije však len 2-3 dvojreťazcové zlomy, pretože ak vzniknú v nezreplikovanej časti, nemôže ich presne opraviť. Nie všetky baktérie sú také citlivé na tento typ poškodenia, je aj extrém v bakteriálnej ríši *Deinococcus radiodurans*, ktorý je schopný opraviť viac ako 100 DSB v jednom chromozóme (Kuzminov, 1999).

Replikácia chromozómu *E. coli* v kompletnom médiu trvá asi 24 minút takže pri jednoúrovňovej replikácii by musela replikačná vidlica syntetizovať asi rýchlosťou 800 bp/s. *E. coli* nedisponuje stratégiou zastavenia replikácie po poškodení DNA v kontrolnom bode

bunkového cyklu ako eukaryotické bunky, vytvorila si však efektívny systém pre opravu poškodení bez zastavenia viacúrovňovej replikácie.

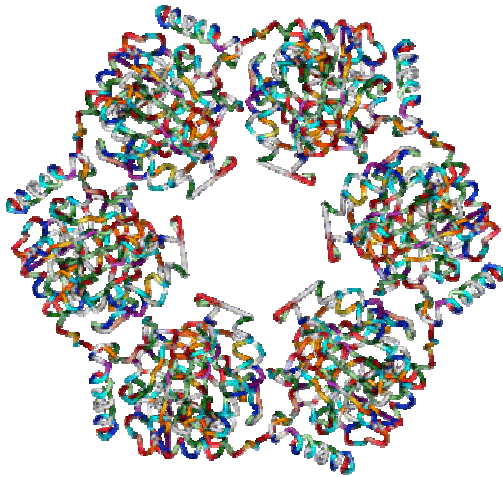


Obr. 1. Dva základné, od replikácie závislé, spôsoby vzniku dvojreťazcových poškodení. Replikačná vidlica sa pohybuje zľava doprava, pozdĺž templátu, ktorý obsahuje neopravené jednoreťazcové poškodenia. Vľavo, z týmínového diméru vzniká replikáciou medzera v dcérskom reťazci - DSG. Vpravo, prerušenie jedného reťazca dáva vznik voľnému dvojreťazcovému koncu - DSE (Kuzminov, 1999).

Systém na zvládnutie potenciálne veľkého množstva poškodení je veľká mašinéria trojstupňového SOS systému. Expresia génov SOS operónu je reprimovaná LexA represorom, ktorý sa viaže k SOS boxom. Rekombinačne aktívna forma RecA katalyzuje inaktiváciu (štiepenie) voľných LexA, čiže afinita LexA k SOS-boxu je zodpovedná za dĺžku trvania expresie daného génu počas SOS-indukcie. Podľa trvania a intenzity indukcie môžu byť SOS gény rozdelené do troch skupín. Prvé sa exprimujú gény excíznej opravy, LexA represor a gény pre syntézu DNA cez abázické miesta. Ak je to nepostačujúce, nastáva expresia RecA a RecN pre rekombinačné deje a to až do 50-násobku ich koncentrácie. Ak ani rekombinácia nezvládne opraviť všetky poškodenia, exprimujú sa *sfiA* na pozastavenie bunkového delenia a *umuD*, *umuC* pre syntézu cez poškodenie (transléznu syntézu) a to až 100-násobne. V extrémnom prípade bunka zlyhuje aktiváciou profágov alebo kolicinogénnych plazmidov, za čo je tiež zodpovedný RecA (podľa review Kuzminov, 1999).

recA+ bol prvý objavený rekombinačný reparačný gén. Je najdôležitejším proteínom v rekombinačnej oprave, *recA* mutant neprežije ani jeden „cross-link“. *recA* mutanty sú defektné vo všetkých typoch chromozómovej rekombinácie (Mahajan, 1988) a extrémne senzitivne na DNA poškodenie (Clark a Margulies, 1965). V bunke sa bežne nachádza 1 000-10 000 monomérov RecA. SOS indukciou po poškodení DNA sa expresia RecA zvýši až 50-krát (Karu a Belk, 1982; Salles a Paoletti, 1983; Sassanfar a Roberts, 1990).

RecA proteín sa stáva funkčným vo forme dlhého špirálovitého polyméru, zloženého zo stoviek monomérov, ktorý sa obtáča okolo DNA. Tento pravotočivý filament, zložený z DNA a RecA proteínu, sa nazýva helikálny filament. Jeden RecA monomér viaže 3 nukleotidy



Obr. 2. RecA filament

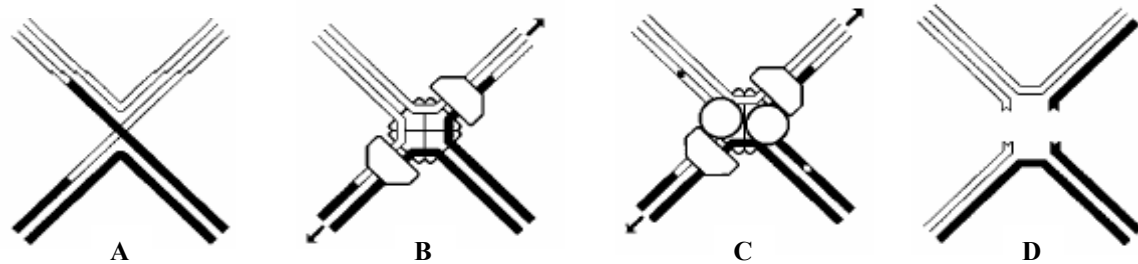
<http://www.web-books.com/MoBio>

ssDNA, pričom 6 monomérov RecA a 18 nukleotidov tvorí jednu otáčku dlhú 95 Å (Koller a kol., 1983) (obr. 2). Reťazec dsDNA vo vnútri filamentu sa predĺži až 1,5-krát oproti normálnej dĺžke, čo je blízko maxima (1,7 x) (Stasiak a kol., 1981). Tento stav pravdepodobne uľahčuje hľadanie homológie medzi dvoma molekulami DNA, lebo bázy sa stanú prístupnejšie. RecA filament má vo vnútri primárne DNA-väzbové miesto, ktoré môže viazať dve molekuly DNA. Sekundárne väzbové miesto je na povrchu filamentu a dočasne viaže jednu molekulu DNA (Kubista

a kol., 1990). Nukleoproteínový ssDNA-RecA filament sa stáva sekvenčne špecifickým vďaka sekvencii naviazanej ssDNA (Roca a Cox, 1997). Vyhľadávanie homologickej sekvencie prebieha pravdepodobne opakovaným prirovnávaním krátkych segmentov ssDNA so segmentmi duplexu DNA rýchlosťou 10^2 až 10^3 segmentov za sekundu. Táto vysoká frekvencia opakovania predpokladá len slabé interakcie medzi ssDNA a dsDNA (Rould a kol., 1992). Po nájdení homógu pre ssDNA, katalyzuje RecA filament výmenu reťazcov medzi dvoma DNA molekulami. ssDNA vytvára vodíkové väzby s komplementárnym reťazcom dsDNA a identický reťazec je vytlačený do sekundárneho väzbového miesta filamentu, odkiaľ ho neskôr odstránia SSB proteíny (Lavery a Kowalczykowski, 1992; Mazin a Kowalczykowski, 1998). Dĺžka vymenených reťazcov môže byť aj niekoľko kilobáz a výmena sa môže presunúť až do pôvodne dvojreťazcovej oblasti (Kuzminov, 1999). *In vivo* sa ssDNA okamžite viaže s SSB proteínmi (ssDNA-viažúce proteíny). Vytváranie ssDNA-SSB komplexu pomáha aj pri tvorbe helikálneho filamentu. SSB zabraňujú formovaniu sekundárnych štruktúr, ktoré by brzdili polymerizáciu RecA na ssDNA. Ďalej chránia RecA filament od prebytku voľnej ssDNA, pretože ak RecA filament stabilne viaže dve nehomologické ssDNA, nehľadá homologický duplex a stáva sa nefunkčným. (Muniyappa a kol., 1984, Mazin a Kowalczykowski, 1998).

Pri výmene reťazcov vznikajú DNA prekríženia. Ak je jedna z molekúl ssDNA, vznikne trojreťazcové prekríženie, ak sú obidve molekuly duplexy, prekríženie je štvorreťazcové

a nazýva sa Hollidayovo spojenie (*Holliday junction* - HJ) (Holliday, 1964). Po skončení výmeny musia byť všetky prekríženia a RecA filament odstránené. Jednou z možností je odstránenie spojenia posunom prekríženia v opačnom smere ako prebehla výmena (Nasmyth,



Obr. 3. Rozštiepenie prekríženia RuvABC komplexom. (A) HJ v tzv. uzavretej konformácii. (B) Tetramér RuvA (štvorlístok) rozvinie prekríženie do planárnej konformácie. Hexaméry RuvB (lichobežníky) sú prstence, ktoré ťahajú duplex DNA cez svoje otvory, čím sa prekríženie (HJ) posúva („*branch migration*“). (C) Dimér RuvC (krúžky) štípe reťazce s rovnakou polaritou, čím sa duplexy oddelia (D) (Kuzminov, 1999)

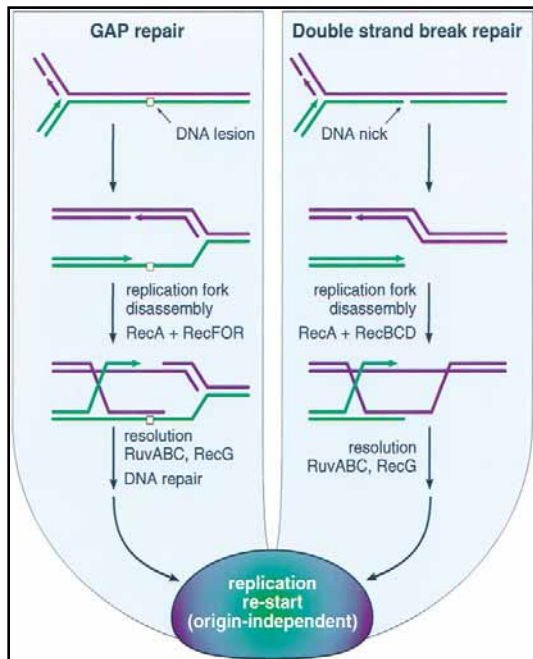
1982). Ďalší spôsob je rozštiepenie prekríženia prestrihnutím reťazcov DNA (Holliday, 1964, Fox, 1966). U *E. coli* boli identifikované najmenej dve nezávislé enzymatické dráhy na rozštiepenie DNA prekríženia: RuvABC rezolvazóm (obr. 3) a RecG helikáza. Tetraméry RuvA a hexaméry RuvB sa viažu na HJ a zabezpečujú posun prekríženia a predĺženie úseku homologického párovania reťazcov. Dimér RuvC prestrihne reťazce s rovnakou polaritou a v rovnakej vzdialenosti od prekríženia. Vzniknuté medzery sú ligované DNA ligázou. Zatiaľ čo RuvABC je špecifický pre HJ, RecG helikáza štípe trojvláknové prekríženia.

Do SOS reparačnej mašinerie *E. coli* patrí aj aktivácia dvoch hlavných rekombinačných dráh RecBC a RecF. Oba tieto procesy sú rovnako dôležité a oba sú závislé od RecA proteínu, ktorý je jedným z najkonzervatívnejších proteínov vôbec. RecF dráha sa uplatňuje prevažne pri medzerách v dcérskom reťazci a RecBCD pri dvojreťazcových zlomoch (obr.4).

Rekombinačné modely

Na základe spomínaných "*Holliday junction*" vznikol prvý model, ktorý vysvetľoval vznik rekombinačných produktov. Bol zostavený Hollidayom v roku 1964 a vysvetľoval vznik rekombinantov v meióze. (obr. 5). Tento model bol založený na vzniku rekombinácie sprostredkovanvej dvoma protiahlými zlomami v DNA. V roku 1975 bol tento model

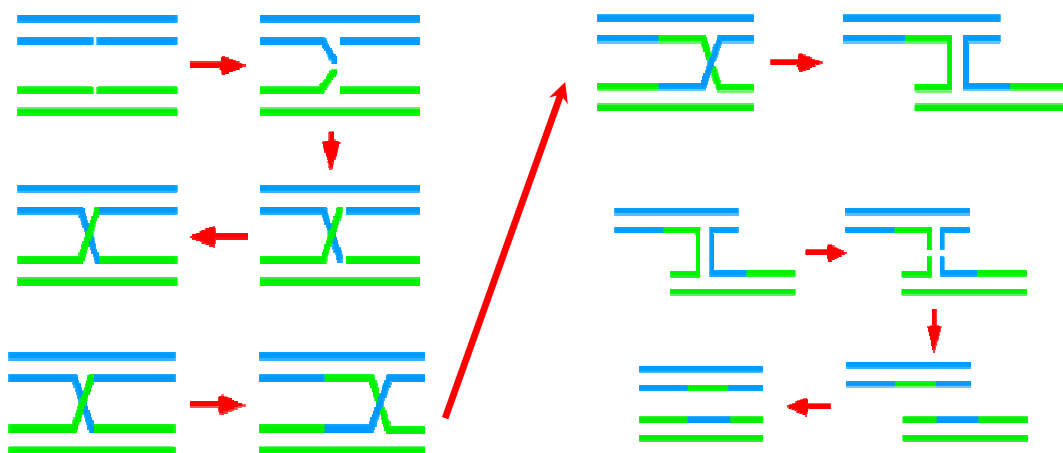
doplnený Meselsonom a Raddingom o rekombináciu sprostredkovanú len jednoreťazcovým zlomom.



Obr. 4. Dve základné dráhy rekombinačnej opravy u *E. coli*. Vznik a oprava medzery v dcérskom reťazci (vľavo, GAP repair). Vznik a oprava dvojreťazcového zlomu (vpravo). (Cox, 1997)

Mechanizmus homologickej rekombinácie u eukaryotov najviac podhalilo sledovanie redukčného delenia *S. cerevisiae*, kde sa všetky produkty meiózy, haploidné spóry v asku, môžu vyhodnotiť tetrádovou analýzou. Na základe segregácie heterozygotných markerov počas meiózy boli pozorované a popísané dva javy.

1. **Crossing-over** medzi heterozygotnými markermi je definovaný ako reciproká výmena genetickej informácie. Výsledkom je zámena, nové usporiadanie aliél vo väzbe u dvoch spór v jednom asku, pričom markery vykazujú mendelovskú segregáciu.



Obr. 5. Hollidayov model rekombinácie. Vznik Hollidayovej štruktúry dostaneme pretočením spodného reťazca o 180° . (<http://www.mun.ca/biochem/courses/3107/images>)

2. **Génová konverzia** je definovaná ako nereciproká výmena informácie medzi dvoma homologickými molekulami, väčšinou dvoma alelami jedného génu. V meióze ju môžeme detekovať ako nemendelovský segregáčny pomer v tetradách. Pri konverzii vzniká hybridná molekula DNA, ktorá je ďalším substrátom pre „*mismatch*“ opravu, ktorá hybridnú molekulu (heteroduplex) opraví na štandardnú, alebo mutantnú. Ak k oprave nedôjde, vznikajú po mitóze sektorované kolónie. Niekedy však génová konverzia zasahuje aj susedné gény dokonca aj do pomerne veľkých vzdialeností od opravovaného génu, dokonca aj celú distálnu časť ramena chromozómu.

Pri sledovaní meiotickej génovej konverzie určitého markera môžeme nájsť meiotické produkty, u ktorých došlo zároveň k rekombinácii susedných markerov, to znamená, že došlo zároveň ku *crossing-overu* (Mortimer a Fogel, 1969). Je známe, že oba tieto deje v meióze vznikajú najčastejšie v miestach nazvaných ako rekombinačné „*hot spots*“, kde najčastejšie vznikajú DSB. Frekvencia génovej konverzie a *crossing-overu* klesá so stúpajúcou vzdialenosťou od miesta DSB, tento fenomén sa nazýva polarita. Preto ďalšie analýzy segregantov meiotických a mitotických dejov boli robené v snahe zistiť ako je viazaný *crossing-over* s génovou konverziou. Z výsledkov vyplýva, že meiotická rekombinácia je v základe podobná mitotickej, líši sa hlavne v percente väzby s *crossing-overom*. Frekvencia *crossing-overu* je oveľa nižšia v mitóze 10-20 % ako v meióze, kde to podľa Hollidayovho modelu bolo až 50% (Esposito, 1978; Haber a Hearn, 1985). Preto bolo nutné navrhnúť nové modely rekombinácie, ktoré by viac zodpovedali mitotickým rekombinačným dejom. Na vysvetlenie génovej konverzie boli navrhnuté dva nové modely.

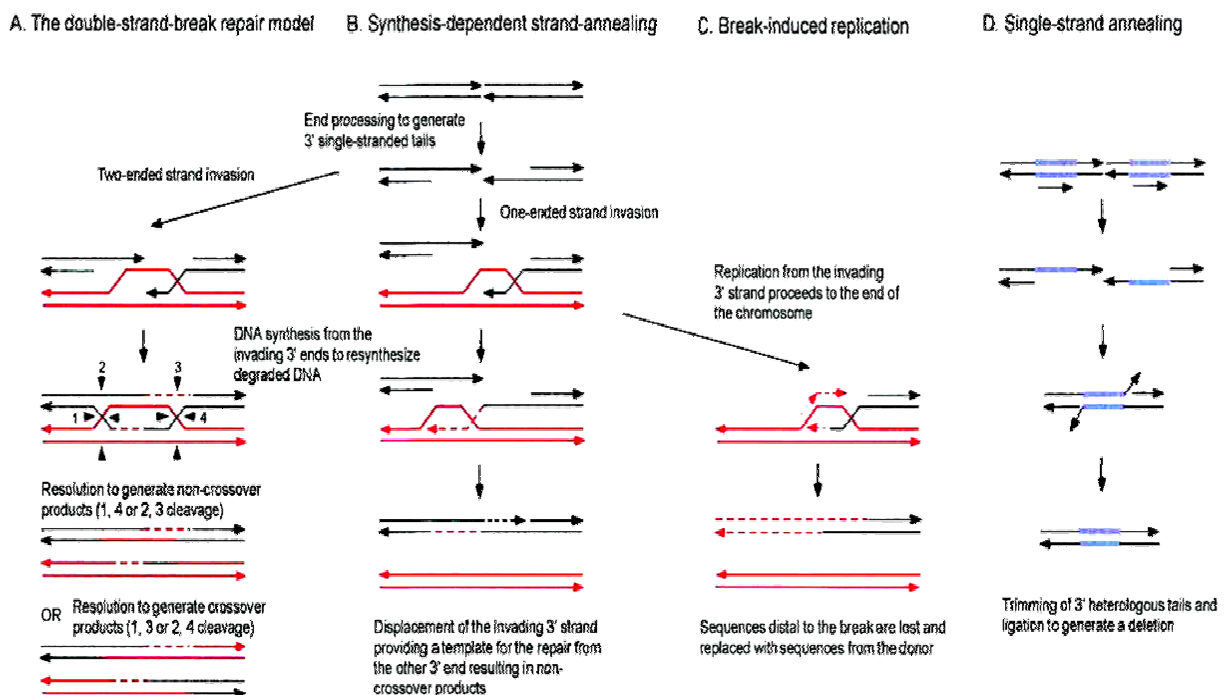
1. Szostak a Orr-Weaver model v roku 1983 (obr. 6A), ktorý bol už predtým predpokladaný Resnickom a Martinom v roku 1976. Tento vychádza z pôvodného modelu (Holliday a Meselson - Radding), nepredpokladá však inváziu jedného reťazca do donorovej molekuly, ale nezávislú inváziu oboch reťazcov, vytvorenie klasickej D štruktúry a dvoch prekrížení. Pri náhodnom a nezávislom rozpojení oboch prekrížení môže vzniknúť oveľa väčšie množstvo produktov, ktorých výsledkom je génová konverzia samotná, alebo spojená s *crossing-overom*.

2. Model tzv. SDSA (*synthesis-dependent strand annealing*) (obr. 6B) ešte lepšie vysvetľuje veľmi zriedkavé prepojenie génovej konverzie s *crossing-overom*. Názov pochádza z práce Nassif a kol. (1994) a na vypracovaní modelu sa podieľalo viac vedeckých tímov (Nasmyth, 1982; Thaler a Stahl, 1988; Hastings, 1988; McGill a kol., 1989). Vysvetľuje veľké množstvo dejov v rôznych organizmoch od *E. coli*, cez *Ustilago* (sneť na kukurici), rekombinácie P elementu u drozofily až po cicavčie bunky. Základná vlastnosť tohto modelu je, že obidva

novosyntetizované reťazce sú po syntéze DNA podľa donorových reťazcov vytlačené z donorovej molekuly. Zároveň sú tieto dva novosyntetizované reťazce pripojené k neporušeným častiam pôvodných reťazcov. Je to možné účinkom napr. topoizomeráz a helikáz, ktoré sú vždy prítomné pri replikačných dejoch. Tento model prvýkrát vysvetľuje vznik konverzie bez *crossing-overu*. Takže génová konverzia, ktorá vzniká spomínanými dvoma mechanizmami je jednou z možností opravy DSB homologickou rekombináciou.

Ďalšie dva mechanizmy opravy DSB homologickou rekombináciou sú:

1. BIR (*break induced replication*) (obr. 6C) na rozdiel od génovej konverzie, ktorá zahŕňa pomerne krátke úseky, je možné nájsť konverziu veľmi dlhých oblastí, ktoré vôbec už nezahŕňali poškodenie a sú vzdialené aj niekoľko stoviek kb. Niekedy syntéza pokračuje až na koniec chromozómu (Esposito, 1978). Navrhli ho Voelkel-Meiman a Roeder (1990) a je analogický rekombinačne-indukovanej replikácii fága T4 alebo *E. coli* nukleoidu. Tento mechanizmus sa pokladá za dôležitý pri oprave koncov chromozómov, kde pri dvojreťazcovom konci chýba partner pre iný homologický typ opravy. Predpokladá sa aj jej význam pri reštaurovaní telomér ak majú bunky defektnú telomerázu.
2. SSA (*single strand annealing*) (obr. 6D), ktorý je charakterizovaný vždy deléciami na oboch stranách homologického úseku. Prvýkrát bol predpokladaný pri oprave DSB v cicavčích bunkách, na miestach, kde sa nachádzali priame repetície (Lin a kol., 1984).



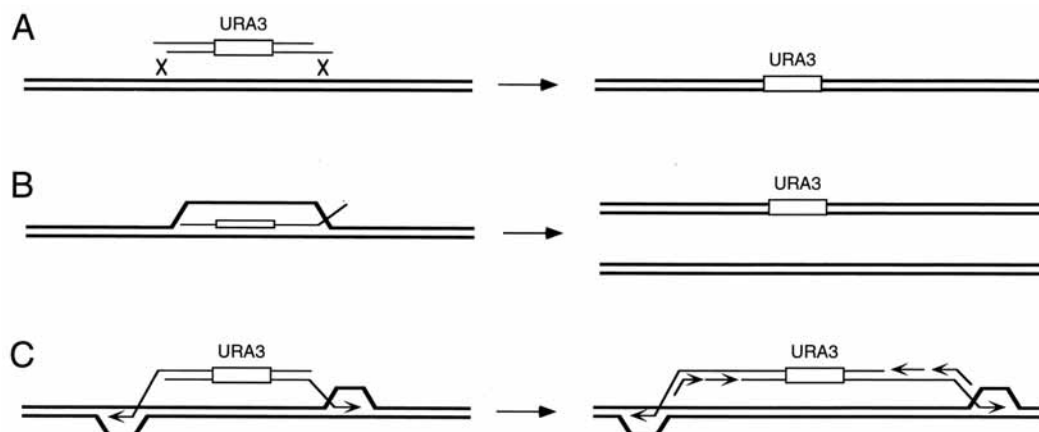
Obr. 6. Modely opravy dvojreťazcových zlomov (Symington, 2002).

Bol však zistený aj pri niektorých fágoch, ktoré môžu byť v genóme vo viacerých kópiách. Jeho základom je vyhľadanie homologickej sekvencie, ktorá je pripojená k sebe, okraje ktoré nie sú homologické sú odstránené, čo znamená vždy stratu informácie, ktorá však nemusí byť nebezpečná hlavne v genóme cicavčích buniek, kde je množstvo repetícií. Proces je frekventovanejší, čím je väčšia časť homológie a môže prebiehať aj keď sú homologické miesta vzdialené niekoľko desiatok kb. Takto môže byť vysvetľované napr. množstvo delécií medzi Alu sekvenciami v ľudskom genóme.

Homologická rekombinácia v molekulárno-biologických technikách

Pre molekulárno-biologické štúdie organizmov je homologická rekombinácia dôležitá pri cielej disrupcii a modifikácii génov (*gene knockout*, *gene targeting*). Môže prebiehať dvoma spôsobmi:

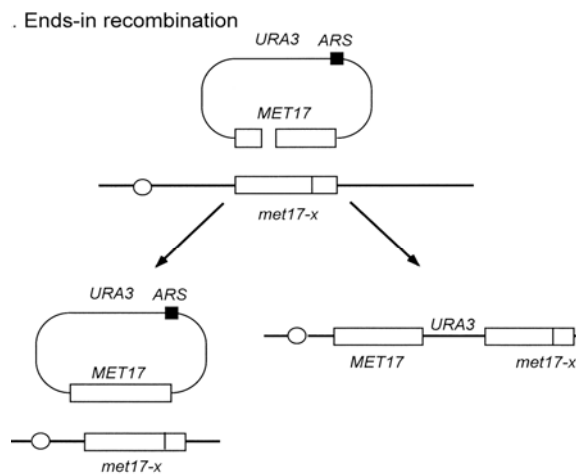
1. „*Ends out*“ rekombináciou (obr. 7) - kde sú krajné sekvencie homologické s génom, ktorý chceme prerušiť. Najčastejšie sa preruší iným génom, ktorý slúži zároveň ako selekčný marker. Zvyčajne sa predpokladalo, že tento prebieha dvoma *crossing-overmi* na koncoch transformovaného fragmentu, výsledky však tomu nezodpovedajú. Také transformačné deje zvyčajne končia sektorovými kolóniami a to hlavne v mutantoch pre *mismatch* opravu. Týmto spôsobom by mali byť oba reťazce v strede integrované naraz a to nie je pravdepodobný proces. Predpokladá sa asimilácia jedného reťazca do homologickej sekvencie a vznik intermediátu s dlhým heteroduplexom.



Obr. 7. Modely cielej disrupcie génov prostredníctvom „*ends-out*“ rekombinácie. (A) V minulosti uprednostňovaný model integrácie dvojitým *crossing-overom*. (B) (C) Nové modely integrácie (Paques a Haber, 1999).

Tento je buď vyhodенý alebo opravený *mismatch* reparačným systémom, ktorý samozrejme preferuje neporušený templát a preto len zhruba 5% korekcií je v prospech transformovaného fragmentu. Tretí model predpokladá podobný proces ako je BIR (Morrow a kol., 1997) a to inváziu 3' koncov reťazcov do chromozómu, ktoré vyvolajú novú syntézu DNA, pretože jej môžu slúžiť ako primery. Môže takto dokonca dôjsť až k duplikácii chromozómu už s integrovanou transformovanou sekvenciou.

2. „*Ends in*“ rekombinácia (obr. 8) - predstavuje inváziu len jedného 3' konca, pričom druhý koniec sa naviaže na D-sľučku, alebo na novo nasyntetizovaný reťazec. Invazívny koniec je primerom pre DNA syntézu k druhému koncu plazmidu so zlomom, podobne ako je to pri oprave chromozómového zlomu (Leung a kol., 1997).



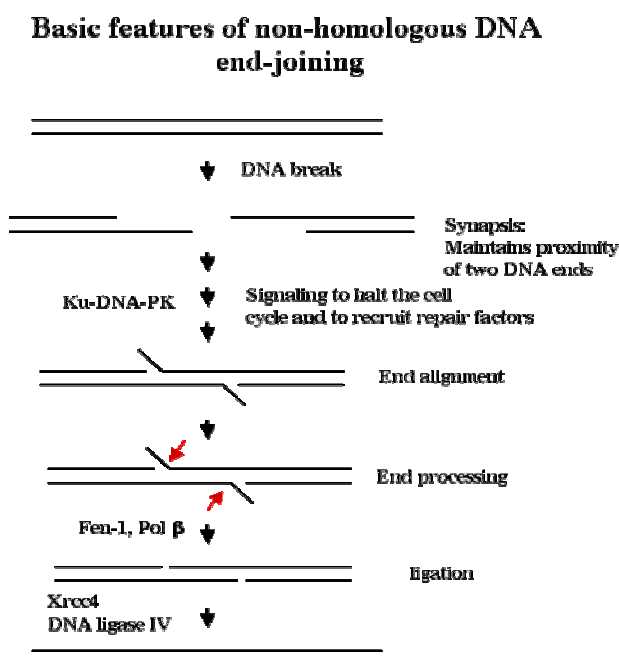
Obr. 8. Predpokladaný model „*ends-in*“ rekombinácie (Symington, 2002).

Nehomologická rekombinácia

Ďalším typom rekombinačného deja je nehomologická rekombinácia nazývaná aj ilegálna rekombinácia alebo nehomologické spojenie koncov (NHEJ). Je to bežne pozorovateľný jav vo všetkých eukaryotických organizmoch nielen pri oprave DSB, ale aj pri integrácii DNA do genómu. Dokázaná je už však prítomnosť génov NHEJ a ich účasť na nehomologickej rekombinácii aj u baktérií (Aravind a Koonin, 2001). NHEJ zahŕňa modifikáciu oboch koncov poškodenej DNA, aby boli upravené na pripojenie. Nehomologická rekombinácia je nedokonalý spôsob „záchrany genetickej informácie“, pretože informácia, ktorá sa nachádza medzi dvoma koncami sa stratí. U cicavcov je dokázané, že NHEJ je najviac funkčná v G1 a na začiatku S fázy, keď je minimálna možnosť homologickej rekombinácie (Hendrickson, 1997). Kvasinky sú schopné bez väčšej ujmy prežiť X žiarenie aj po disrupcii génov zodpovedných za NHEJ (Siede a kol., 1996). Predpokladá sa, že pri mnohobunkových organizmoch, kde je väčšinou genetická informácia

diploidná a teda nedostatok homológie by nemal byť problémom pre rekombináciu, je nehomologické spojenie koncov uprednostňované pre veľké množstvo repetitívnych sekvencií a pseudogénov v genóme. V takých prípadoch je vyhľadávanie homológie pri rozsiahlosti genómu neefektívne a okrem toho nevhodná homologická rekombinácia napr. s pseudogénom môže spôsobovať chromozomálne translokácie.

Podmienkou NHEJ je prítomnosť oboch koncov zlomu. Mechanizmus NHEJ musí zabezpečiť fyzickú blízkosť a ochranu oboch koncov počas celého procesu. Konce sa na základe mikrohomológie pripoja, prebytočná DNA sa odstráni, medzery sa dosyntetizujú a celá oprava je ukončená ligáciou. Nevýhodou NHEJ je, že je to veľmi nepresná oprava a často vedie k strate informácie. V bunkových líniiach cicavcov boli charakterizované dva proteínové komplexy dôležité v NHEJ. Prvý komplex je DNA-závislá proteínkináza (DNA-PK). Skladá sa z heterodiméru Ku70/Ku80 a katalytickej podjednotky DNA-PK_{CS}. Druhý komplex je tiež heterodimér obsahujúci DNA ligázu IV a produkt génu *XRCC4* (Tsukamoto a Ikeda, 1998; Critchlow a Jackson, 1998). Ku70/Ku80 viaže konce DNA zlomu, chráni ich pred nešpecifickými nukleázami. Pritáhuje DNA-PK_{CS} a aktivuje jeho kinázovú aktivitu. Zatiaľ nie je jasné, akú funkciu má DNA-PK. Pravdepodobne priamo stimuluje ligázu, a tým uľahčuje spájanie koncov (Ramsden a Gellert, 1998). Xrcc4 je jadrový fosfoproteín, ktorý je substrátom pre DNA-PK *in vitro*. Xrcc4 v komplexe s DNA ligázou IV pravdepodobne slúži na nasmerovanie ligázy k DNA-PK komplexu (Critchlow a kol., 1997; Leber a kol., 1998). Ľudský Rad50/Mre11 komplex je pravdepodobne tiež veľmi dôležitý, pretože purifikovaný Mre11 v prítomnosti DNA ligázy IV a Xrcc4 sám stimuluje ligáciu nehomologických koncov DNA molekúl (Paull a Gellert, 2000).



Obr. 9. Model NHEJ u cicavcov. Neporušená DNA; Synapsia v mieste zlomu DNA je dôležitá pre udržanie koncov v tesnej blízkosti; Konce sa k sebe priblížia na základe mikrohomológie; úprava koncov, sprevádzaná stratou DNA sekvencií; ligácia; opravená DNA (Lieber, 1999).

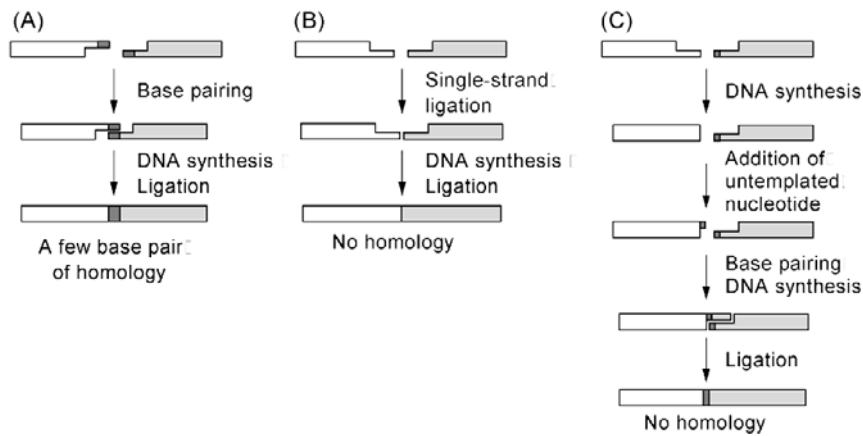
Aj keď u kvasiniek *S. cerevisiae* je dominantná dráha homologickej rekombinácie, boli u nich nájdené homológy Ku70/Ku80 (Hdf1/Hdf2, označované aj Yku70/Yku80) a komplexu DNA ligáza IV/XRCC4 (Dnl4/Lif1) (Boulton a Jackson, 1996; Milne a kol., 1996). Dosiaľ nebol u *S. cerevisiae* identifikovaný homológ DNA-PK_{CS}. MRX nukleázový komplex je vhodným kandidátom pre zabezpečenie úpravy koncov DNA. Ligácia koncov je katalyzovaná ligázou Dnl4 za podpory Lif1 (Critchlow a Jackson, 1998). Veľmi významne k pochopeniu NHEJ prispelo zistenie, že aj „*silencing factors*“ (Sir2, Sir3 a Sir4) sa zúčastňujú tohto procesu, čo naznačuje vytváranie kondenzovaného chromatínu na koncoch DSB. Tento proces bol zistený v kvasinkách a to v HM lokusoch, na telomérach a v oblasti rRNA. Kondenzovaný chromatín je analogický heterochromatínu vo vyšších eukaryotoch. Najvýznamnejšia úloha tohto komplexu je ochrana koncov DNA pred degradáciou nukleázami a možno formovanie tzv. mostíka medzi DNA molekulami a ich stabilizácia kým dôjde k pripojeniu koncov. O mechanizme NHEJ u kvasinky *S. cerevisiae* sa predpokladá, že Ku patria medzi prvé proteíny prítomné pri DNA zlome. Ku by mohli priťahovať proteínový komplex Sir, ktorý by indukoval kondenzáciu chromatínu. U cicavčích buniek je zrejme dôležitá úloha nukleozómovej štruktúry. Zistená je interakcia medzi hlavným aktérom NHEJ Ku proteínom a histónacetyltransferázou GCN5, ktorá uvoľňuje väzbu DNA v nukleozómoch.

Komponenty NHEJ sú pravdepodobne konzervované od baktérií až po človeka. NHEJ používajú na opravu DSB hlavne vyššie eukaryoty, najmä počas G1 fázy bunkového cyklu, alebo v situáciách, keď v genóme nie sú prítomné sesterské chromatídy (napr. v bunkách, ktoré sa už nedelia) (Hendrickson, 1997). NHEJ sa využíva aj pri niektorých špecifických dejoch (napr. VDJ rekombinácia). Cudzorodá DNA po vnesení do bunky je veľmi často začlenená do chromozómov práve nehomologickou rekombináciou, čo vedie k náhodnej integrácii fragmentu aj vo viacerých kópiách.

Existujú už aj predpokladané modely pre NHEJ (obr. 10). Zaujímavý je tretí model , ktorý predpokladá pridanie nukleotidu na tupý koniec, čím sa umožní opäť jednoduché spárovanie. Vychádza z reálnych výsledkov, keď je pri spojení koncov pozorovaný neznámy krátky úsek nazývaný „*filler*“ (výplň, vložka, tmel) (Tsukamoto a Ikeda, 1998; Lieber, 1999).

NHEJ v molekulárno-biologických technikách

Keďže bola spomenutá integrácia fragmentov do genómu homologickou rekombináciou, je nutné podotknúť, že fragmenty sa oveľa častejšie integrujú do genómu



Obr. 10. Predpokladané modely NHEJ (Roth a Wilson, 1986; Thode a kol., 1990).

práve nehomologickou rekombináciou. Deje sa to bežne aj v organizmoch, kde prevažuje homologická rekombinácia ako sú napr. kvasinky, pokiaľ nie je prítomná homológia v chromozómoch, alebo sú nefunkčné gény zodpovedné za homologickú rekombináciu a vieme takýto dej detekovať. Väčšinou takýto dej nie náhodný, fragment sa integruje do miesta s homológiou 4 bp na konci rozštiepeného fragmentu, alebo do miesta, ktoré je štiepené DNA topoizomerázou I. Je veľmi zaujímavé, že integrácia je veľmi zvýšená dodaním restriktčného enzýmu, ktorým bol fragment štiepený. Takto bolo možné zaviesť transformačné techniky do rôznych organizmov, kde to bolo veľmi ťažké doceliť homologickou rekombináciou. Veľmi zaujímavou vlastnosťou týchto dejov je, že spolu s integrovaným fragmentom sú pozorované aj integrácie susedných sekvencií napr. z mitochondriálnej DNA a niekedy časti transpozónov. Opäť je týmto možné vysvetliť inzerciu Alu sekvencií alebo pseudogénov. Veľmi často je pozorovaná tzv. homologicko-nehomologická integrácia, keď správne homologicky integrované fragmenty majú delécie na jednom alebo druhom konci. (Roth a Wilson, 1986; Thode a kol., 1990; Tsukamoto a Ikeda, 1998; Lieber, 1999)

Účasť rekombinačných dejov v rôznych druhoch organizmov

Účasť rekombinačných mechanizmov na oprave DSB sa výrazne líši v závislosti od druhu organizmu a u mnohobunkového organizmu aj od štádia vývinu a typu bunky. Doposiaľ nie je jasné ako bunky kontrolujú výber medzi HR a NHEJ.

Pri oprave DSB hrá hlavnú úlohu u prokaryotov a u mnohých druhov nižších eukaryotov homologická rekombinácia. Hoci NHEJ komponenty boli nájdené u nižších eukaryotov ako kvasinky *S. cerevisiae* a *S. pombe* (Feldmann a kol., 1996, Wilson a kol., 1999) a nedávno aj u baktérií (Aravind a Koonin, 2001), predpokladá sa, že NHEJ tu slúži len

ako rezervný mechanizmus opravy. U *S. cerevisiae* je HR uprednostňovaná pred NHEJ pri oprave DSB. Aktivita NHEJ sa dá dokázať len pri absencii HR, preto sa predpokladá, že NHEJ u kvasinky slúži ako záložný systém (Siede a kol., 1996).

V somatických bunkách vyšších eukaryotov sa pri oprave DNA uplatňuje HR vzácné. DSB sú tu opravované prednostne NHEJ (Critchlow a Jackson, 1998). Tento fakt je jedným z dôvodov, prečo bola HR u eukaryotov mnoho rokov považovaná za vedľajšiu dráhu na opravu zlomov. Ďalším dôvodom bolo, že u bunkových línií, ktoré boli citlivé na ionizačné žiarenie a defektné v DSB oprave, neboli identifikované žiadne mutantné gény pre HR. Len nedávno bolo dokázané, že sa HR významne zúčastňuje DSB reparácie u buniek stavovcov (Johnson a Jasin, 2001). Dôkazy boli získané komplementačnými experimentmi, vyhľadávaním homológií a generovaním „knockout“ mutantov myší, myších zárodočných kmeňových buniek a bunkových línií kurčiat v génoch homologickej rekombinácie. Pokusy s knokautovaním myší potvrdili, že disrupcia napr. *rad51* génu (významný gén v HR), i keď má niekoľko homológov v genóme, je pre embryá vysoko letálna (Lim a Hasty, 1996). Zdá sa teda, že preferencie sa líšia aj podľa typu bunky. Zatiaľ čo pre tkanivové kultúry je charakteristické, že blokovanie génov HR nie je letálne, u buniek embrya je presná oprava na základe homológie pravdepodobne kritická. Porovnávaním citlivosti myší, knokautovaných v *rad54*, *ku70* a dvojitéch mutantov *rad54 ku70* na ionizačné žiarenie preukázalo, že dráhy NHEJ a HR sa dopĺňajú. NHEJ hrá hlavnú úlohu v oprave zlomov počas G1 až skoršej S fázy, pričom HR sa využíva v neskoršej S a G2 fáze (Takata a kol., 1998).

Rekombinačné dráhy sú evolučne konzervované od fágov cez baktérie a kvasinky až po cicavce. Na vznik diverzity reparačných mechanizmov malo vplyv vonkajšie prostredie, ako napr. patogénny, či voľný spôsob života baktérií, alebo vnútorné prostredie, ako napr. históny a vyššia organizácia chromatínu u eukaryotov. Ďalším faktorom bola mnohobunkovosť a horizontálny génový transfer, najmä invázia organelových génov do jadrového genómu eukaryotov. Z dnešnej úrovne poznatkov je pravdepodobné, že evolúcia reparačných systémov prebiehala oveľa dramatickejšie ako napr. evolúcia transkripcie.

Zoznam literatúry

- Aravind, L., Koonin, E.V. 2001. Prokaryotic homologs of the eukaryotic DNA-end-binding protein domains in the Ku protein and prediction of the prokaryotic double-strand repair system. *Genome Res.*, 8, 1365-1374
- Boulton, S.J., Jackson, S.P. 1996. Identification of a *Saccharomyces cerevisiae* Ku80 homologue: roles in DNA double strand break rejoining and in telomeric maintenance. *Nucleic Acids Res.*, 24, 4639-4648

- Clark, A.J., Margulies, A.D. 1965. Isolation and characterization of recombination-deficient mutants of *Escherichia coli* K-12. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 53, 451–459
- Cox, M.M 1997. Recombinational crossroads: Eukaryotic enzymes and the limits of bacterial precedents. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 11764–11766
- Critchlow, S.E., Bowater, R.P., Jackson, S.P. 1997. Mammalian DNA double-strand break repair protein XRCC4 interacts with DNA ligase IV. Curr Biol., 7, 588-598
- Critchlow, S.E., Jackson, S.P. 1998. DNA end-joining: from yeast to man. Trends Biochem. Sci., 23, 394–398
- Egel, R., Beach, D.H., Klar, A.J. 1984. Genes required for initiation and resolution steps of mating-type switching in fission yeast. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 3481-3485
- Esposito, M.S. 1978. Evidence that spontaneous mitotic recombination occurs at the two-strand stage. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 4436–4440
- Feldmann, H., Driller, L., Meier, B., Mages, G., Kellermann, J., Winnacker, E.L. 1996. HDF2, the second subunit of the Ku homologue from *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biol. Chem., 271, 27765–27769
- Haber, J.E., Hearn, M. 1985. RAD52-independent mitotic gene conversion in *Saccharomyces cerevisiae* frequently results in chromosomal loss. Genetics, 111, 7–22
- Hastings, P.J. 1988. Recombination in the eukaryotic nucleus. Bioessays, 9, 61–64
- Hendrickson, E.A. 1997. Cell-cycle regulation of mammalian DNA double-strand break repair. Am. J. Hum. Genet., 61, 795-800
- Holliday, R. 1964. A mechanism for gene conversion in fungi. Genet. Res., 5, 282–304
- Howard-Flanders, P., Theriot, L. 1966. Mutants of *Escherichia coli* K-12 defective in DNA repair and in genetic recombination. Genetics, 53, 1137–1150
- Chance, B., Sies, H., Boveris, A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. Physiol. Rev., 59, 527-603
- Johnson, R.D., Jasin, M. 2001. Double-strand-break-induced homologous recombination in mammalian cells. Biochem. Soc. Trans., 29, 196–201
- Karu, A.E., Belk, E.D. 1982. Induction of *E. coli* recA protein via recBC and alternative pathways: quantitation by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Mol. Gen. Genet., 185, 275–282
- Koller, T., Di Capua, E., Stasiak, A. 1983. Complexes of RecA with single-stranded DNA, p. 723–729. In N. Cozzarelli (ed.), Mechanisms of DNA replication and recombination. Alan R. Liss, Inc., New York, N.Y
- Kubista, M., Takahashi, M., Norden, B. 1990. Stoichiometry, base orientation and nuclease accessibility of RecA-DNA complexes seen by polarized light in flow-oriented solution. Implications for the mechanism of genetic recombination. J. Biol. Chem., 265, 18891–18897
- Kuzminov, A. 1999. Recombinational repair of DNA damage in *Escherichia coli* and bacteriophage λ . Microbiol. Mol. Biol. Rev., 63, 751–813
- Lavery, P.E., Kowalczykowski, S.C. 1992. A postsynaptic role for single-stranded DNA-binding protein in RecA protein-promoted DNA strand exchange. J. Biol. Chem., 267, 9315–9320
- Leber, R., Wise, T.W., Mizuta, R., Meek, K. 1998. The XRCC4 gene product is a target for and interacts with the DNA-dependent protein kinase. J. Biol. Chem., 273, 1794-1801
- Lederberg, J. 1947. Gene recombination and linked segregations in *Escherichia coli*. Genetics, 32, 505–525
- Leung, W., Malkova, A., Haber, J.E. 1997. Gene targeting by linear duplex DNA frequently occurs by assimilation of a single strand that is subject to preferential mismatch correction. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 6851–6856

- Lieber, M.R. 1999, The biochemistry and biological significance of nonhomologous DNA end joining: an essential repair process in multicellular eukaryotes. *Genes to Cells*, 4, 77-85
- Lin, F.L., Sperle, K., Sternberg, N. 1984. Model for homologous recombination during transfer of DNA into mouse L cells: role for DNA ends in the recombination process. *Mol. Cell. Biol.*, 4, 1020-1034
- Mahajan, S.K. 1988. Pathways of homologous recombination in *Escherichia coli*, p. 87-140. In R. Kucherlapati and G. R. Smith (ed.), *Genetic recombination*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Mazin, A.V., Kowalczykowski, S.C. 1998. The function of the secondary DNA-binding site of RecA protein during DNA strand exchange. *EMBO J.*, 17, 1161-1168
- McGill, C., Shafer, B., Strathern, J. 1989. Coconversion of flanking sequences with homothallic switching. *Cell*, 57, 459-467
- Meselson, M.M., Radding, C.M. 1975. A general model for genetic recombination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 358-361
- Milne, G.T., Jin, S., Shannon, K.B., Weaver, D.T. 1996. Mutations in two Ku homologs define a DNA end-joining repair pathway in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Cell. Biol.*, 16, 4189-4198
- Minton, K.W. 1996. Repair of ionizing radiation damage in the radiation resistant bacterium *Deinococcus radiodurans*. *Mutat. Res.* 363, 1-7
- Mortimer, R.K., Fogel, S. 1969. Genetical interference and gene conversion, p. 263-275. In R. F. Grell (ed.), *Mechanisms in recombination*. Plenum Press, New York, N.Y.
- Muniyappa, K., Shaner, S.L., Tsang, S.S., Radding, C.M. 1984. Mechanism of the concerted action of RecA protein and helix-destabilizing proteins in homologous recombination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 2757-2761
- Nasmyth, K.A. 1982. Molecular genetics of yeast mating type. *Annu. Rev. Genet.*, 16, 439-500
- Nassif, N., Penney, J., Pal, S., Engels, W.R., Gloor, G.B. 1994. Efficient copying of nonhomologous sequences from ectopic sites via P-element induced gap repair. *Mol. Cell. Biol.*, 14, 1613-1625
- National Radiation Protection Board 1986. *Living with radiation*. Reading, UK
- Paques, F., Haber J.E. 1999. Multiple pathways of recombination induced by double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 63, 349-404
- Paull, T.T., Gellert, M. 2000. A mechanistic basis for Mre11-directed DNA joining at microhomologies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 6409-6414
- Ramsden, D.A., Gellert, M. 1998. Ku protein stimulates DNA end joining by mammalian DNA ligases: a direct role for Ku in repair of DNA double-strand breaks. *EMBO J.*, 15, 609-614
- Resnick, M.A., Martin, P. 1976. The repair of double-stranded breaks in the nuclear DNA of *Saccharomyces cerevisiae* and its genetic control. *Mol. Gen. Genet.*, 143, 119-145
- Roca, A.I., Cox, M.M. 1997 RecA protein: structure, function, and role in recombinational DNA repair. *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 56, 129-223
- Roth, D.B., Wilson, J.H. 1986, Nonhomologous recombination in mammalian cells: role for short sequence homologies in the joining reaction. *Mol. Cell. Biol.*, 6, 4295-4304
- Rould, E., Muniyappa, K., Radding, C.M. 1992. Unwinding of heterologous DNA by RecA protein during the search for homologous sequences. *J. Mol. Biol.*, 226, 127-139
- Salles, B., Paoletti, C. 1983. Control of UV induction of RecA protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80, 65-69
- Sassanfar, M., Roberts, J.W. 1990. Nature of the SOS-inducing signal in *Escherichia coli*. The involvement of DNA replication. *J. Mol. Biol.*, 212, 79-96

- Siede, W., Friedl, A.A., Dianova, I., Eckardt-Schupp, F., Friedberg, E.C. 1996. The *Saccharomyces cerevisiae* Ku autoantigen homologue affects radiosensitivity only in the absence of homologous recombination. *Genetics*, 142, 91–102
- Stasiak, A., DiCapua, E., Koller, T. 1981. The elongation of duplex DNA by RecA protein. *J. Mol. Biol.*, 151, 557–564
- Szostak, J.W., Orr-Weaver, T.L., Rothstein, R.J., Stahl, F.W. 1983. The double-strand-break repair model for recombination. *Cell*, 33, 25–35
- Thode, S., Schafer, A., Pfeiffer, P., Vielmetter, W. 1990. A novel pathway of DNA end-to-end joining. *Cell*, 60, 921–928
- Takata, M., Sasaki, M.S., Sonoda, E., Morrison, C., Hashimoto, M., Utsumi, H., Yamaguchi, Y., Shinohara, A., Takeda, S. 1998. Homologous recombination and non-homologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells. *EMBO J.*, 17, 5497–5508
- Tsukamoto, Y., Ikeda, H. 1998. Double-strand break repair mediated by end-joining. *Genes Cells*, 3, 135–144
- Thaler, D.S., Stahl, F.W. 1988. DNA double-chain breaks in recombination of phage lambda and of yeast. *Annu. Rev. Genet.*, 22, 169–197
- Voelkel-Meiman, K., Roeder, G.S. 1990. A chromosome containing *HOT1* preferentially receives information during mitotic interchromosomal gene conversion. *Genetics*, 124, 561–572
- Wilson, S., Warr, N., Taylor, D.L., Watts, F.Z. 1999. The role of *Schizosaccharomyces pombe* Rad32, the Mre11 homologue, and other DNA damage response proteins in nonhomologous end joining and telomere length maintenance. *Nucleic Acids Res.*, 27, 2655–2661

Web stránky

<http://www.web-books.com/MoBio>

<http://www.mun.ca/biochem/courses/3107/images>

GENETICKY MODIFIKOVANÉ ODRŮDY ROSTLIN

Miloš Ondřej

Biologická fakulta JU, České Budějovice, Branišovská 31, 370 05

ondrej@umbr.cas.cz

Podstatou transgenose je vnesení jednoho nebo malé skupiny (zpravidla dvou až tří) klonovaných genů metodami genového inženýrství do genomu. U rostlin se tento přenos zpravidla provádí prostřednictvím bakterií *Agrobacterium tumefaciens*. U jednoděložných a některých dvouděložných rostlin se častěji využívá přímého vnášení klonované DNA do buněčných jader biolistickou metodou nebo dalšími způsoby. Ve vědě transgenose umožňuje získávat celou řadu nových typů výsledků molekulární genetiky, souvisejících s poznáním funkce genů a jejich regulace. To se týká nejen rostlinných genů, ale i genů rostlinných virů a bakteriálních nebo živočišných genů. Byly získány tisíce typů transgenních rostlin. Část jich má praktické využití při tvorbě nových transgenních (geneticky modifikovaných, GM) odrůd, kterých jsou dnes již stovky.

V roce 2004 uplynulo první desetiletí využívání GM odrůd rostlin. První odrůdou, která se objevila na trhu v USA, bylo rajče FlavrSavr firmy Calgene s prodlouženou dobou skladování. Vzápětí bylo následováno velkým množstvím odrůd soji, kukuřice, bavlníku, řepky a dalších rostlin tolerantních k novým typům herbicidů, odolných ke škůdcům a s dalšími užitkovými vlastnostmi, které byly vneseny transgeny. Pravděpodobně nikdy dříve se ale neobjevil žádný jiný vědecký objev, který by byl přijímán tak rozporuplně, přestože k tomu nejsou žádné faktické důvody.

Tato záležitost se nás velice týká v souvislosti s našim vstupem do Evropské unie. Vstupem do EU se otevírají hranice ČR pro dovoz těch geneticky modifikovaných odrůd a produktů, které jsou již povoleny v EU. Je tedy dobrý důvod k poskytnutí informací o současném stavu této problematiky.

1. Současný stav využívání GM odrůd rostlin

Celková plocha transgenních rostlin ve světě v r. 2003 činila přes 60 milionů ha a transgenní rostliny pěstovalo asi 6 milionů rolníků. V období let 1996-2003 vzrostla plocha transgenních rostlin 35x. Vzrůst je v současné době hlavně v rozvojových zemích. Čtyři největší producenti GMO jsou : USA 390 milionů ha, Argentina 13,5, Kanada 3,5, Čína 2,1 (4% celkové světové produkce). Hlavní GM plodiny jsou: soja 36,5 mil. ha (62% světové produkce), kukuřice 12,4 (21%), bavlník 6,8 mil (12%) řepka 3 miliony (5%). Další plodiny, od kterých existují geneticky modifikované odrůdy, jsou tyto: brambor, cukrovka, čekanka, karafiát, len, meloun, papaja, rajče, rýže, slunečnice, tabák a tykev. Experimentálně byly transformovány téměř všechny druhy kulturních rostlin, i když zatím nebyly přihlášeny jako transgenní odrůdy. Od r. 2002 více než polovina světové populace žije v zemích, kde jsou GM odrůdy povoleny a uzákoněny.

Do současné doby bylo snědno a zkrmeno ve světě celkem 300 000 tun geneticky manipulovaných rostlinných produktů, aniž by byly prokázány zdravotní nepříznivé účinky. Nebyly dokázány ani nepříznivé účinky GM rostlin na životní prostředí. Přesto v EU i u nás je povinnost výrobců a distributorů značit potraviny, pokud obsahují více než 0,9% příměsí transgenního materiálu.

Rozhodnutí Komise o uvádění jednotlivých GMO na trh vydaná podle směrnice 90/220/EEC

393D0572 93/572/EEC	Rozhodnutí Komise ze dne 19. října 1993 týkající se uvedení na trh produktu obsahujícího geneticky modifikované organismy podle článku 13 Směrnice Rady 90/220/EEC Veterinární vakcína - virus vakcínie (kravských neštovic) modifikovaný na účinnost proti vzteklině - podávaná liškám
394D0385 94/385/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 8. června 1994 týkající se uvedení na trh produktu skládajícího se z geneticky modifikovaného organismu - semen tabáku odrůdy ITB 1000 OX, odolné proti herbicidu, podle článku 13 Směrnice Rady 90/220/EEC
294D0505 94/505/EC	Rozhodnutí Komise z 18. července 1994, kterým se mění Rozhodnutí z 18. prosince 1992 týkající se uvádění na trh produktu, obsahujícího geneticky modifikovaný organismus, živou vakcínu Nobi-Porvac Aujeszky (gI, tk) podle článku 13 Směrnice Rady 90/220/EEC
396D0158 96/158/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 6. února 1996, týkající se uvádění na trh produktu, skládajícího se z geneticky modifikovaného organismu, osiva hybridní řepky (<i>Brassica napus L. oleifera</i> Metzq. MS1Bn x RF1Bn) tolerantní k herbicidu, podle Směrnice Rady 90/220/EEC
396D0281 96/281/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 3. dubna 1996, týkající se uvádění na trh geneticky modifikovaných sojových bobů (<i>Glycine max L.</i>) se zvýšenou tolerancí k herbicidu glyfosátu podle Směrnice Rady 90/220/EEC
396D0424 96/424/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 20. května 1996, týkající se uvádění na trh geneticky modifikované sterilní čekanky (<i>Cichorium intybus L.</i>), s částečnou tolerancí k herbicidnímu glufosinátu amonnému podle Směrnice Rady 90/220/EEC
397D0098 97/98/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 23. ledna 1997 týkající se uvádění na trh geneticky modifikované kukuřice (<i>Zea mays L.</i>) s kombinovanou modifikací pro insekticidní vlastnosti, které jí propůjčuje gen pro Bt-endotoxin a zvýšenou tolerancí k herbicidnímu glufosinátu amonnému podle Směrnice Rady 90/220/EEC
397D0392 97/392/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 6. června 1997 týkající se uvedení na trh geneticky modifikované řepky olejné (<i>Brassica napus L. oleifera</i> Metzq. MS1, RF1) podle Směrnice Rady 90/220/EEC Tolerantní k herbicidu glufosinátu amonnému
397D0393 97/393/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 6. června 1997, týkající se uvedení na trh geneticky modifikované řepky olejné (<i>Brassica napus L. oleifera</i> Metzq. MS1, RF2) podle Směrnice Rady 90/220/EEC Tolerantní k herbicidu glufosinátu amonnému
397D0549 97/549/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 14. června 1997 týkající se uvedení na trh testu T102 (<i>Streptococcus termophilus</i>) podle Směrnice Rady 90/220/EEC Test na stanovení reziduí antibiotik v mléce
398D0291 98/291/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 22. dubna 1998 týkající se uvedení na trh geneticky modifikované jarní řepky olejné (<i>Brassica napus L. ssp. oleifera</i>) podle Směrnice Rady 90/220/EEC Schválení pro dovoz a zpracování
398D0292 98/292/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 22. dubna 1998 týkající se uvedení na trh geneticky modifikované kukuřice (<i>Zea mays L. line Bt-11</i>) podle Směrnice Rady 90/220/EEC. Kukuřice rezistentní vůči zavíječi kukuřičnému, rozhodnutí se vztahuje na dovoz, nikoli pěstování

398D0293 98/293/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 22. dubna 1998 týkající se uvedení na trh geneticky modifikované kukuřice (<i>Zea mays L.</i> T25) podle Směrnice Rady 90/220/EEC Tolerantní vůči herbicidu glufosinátu amonnému, pro pěstování
398D0294 98/294/EC	Rozhodnutí Komise ze dne 22. dubna 1998 týkající se uvedení na trh geneticky modifikované kukuřice (<i>Zea mays L.</i> line MON 810) podle Směrnice Rady 90/220/EEC. Kukuřice rezistentní vůči zavíječi kukuřičnému, pro pěstování

V současné době se je v EU povoleno celkem 14 typů GMO. Poslední odrůdy byly povoleny před vyhlášením moratoria v r. 1998. Jedním účelem moratoria bylo v té době vědecky zhodnotit bezpečnost pěstování transgenních rostlin z hlediska přírodního prostředí a zdraví člověka i zvířat. Intenzivní vědecký výzkum, který stále pokračuje, nezjistil žádné negativní jevy.

Na vědeckých a výzkumných pracovištích existují geneticky modifikované typy téměř všech kulturních rostlin a dále tzv. modelových rostlin. Hlavní nové znaky, které využívají transgenní odrůdy, jsou především: tolerance k některým typům herbicidů nové generace, které jsou méně toxické a přátelštější k životnímu prostředí, dále odolnost ke škůdcům nebo pylová sterilita ve spojení s tolerancí k herbicidům. Méně významné další znaky, vnesené transgenosí do některých odrůd jsou odolnost k určitým typům virů, delší skladovatelnost plodů nebo delší životnost řezaných květů, změna barvy květů nebo změna spektra mastných kyselin v olejích semen. Připravované nové transgenní rostlinné materiály mají stovky nových zajímavých znaků, které se netýkají jen využívání v potravinářství a krmivářství, ale také ve farmakologii a různých průmyslových odvětvích.

2. Nové typy transgenních rostlin

V roce 2003 byla nově získána celá řada nových typů perspektivních transgenních rostlin a u jiných byly nalezeny další možnosti jejich praktického uplatnění.

2.1. Transgenní rostliny s odolností proti škůdcům

Zde se jedná o výsledky zásadního významu na starém systému. Stále se využívají především transgeny pro Bt-toxiny *Bacillus thuringiensis*, které působí specificky na určité skupiny hmyzu. V letošním roce však byly zjištěny dvě základní nové zajímavé pozitivní skutečnosti. Nejpodstatnější se týká použití transgenních Bt-bavlníku.

Protože byl pozorován vznik jedinců škůdce, odolných k Bt-toxinu, byly obavy ze vzniku bt-rezistentních populací škůdce. Ten má odvrátit nebo oddálit systém refugií. Spočívá v tom, že v sousedství pole s transgenní odrůdou musí být políčko s odrůdou netransgenní, ale jinak shodnou. Citlivost k Bt-toxinu je dominantní a vznikající mutace na rezistenci jsou recesivní. Na políčku refugia s netransgenní odrůdou se množí populace citlivého škůdce. Samečci z refugia oplodní ojedinělé homozygotně recesivní samičky na poli s transgenní odrůdou. Další generace bude heterozygotní a tedy citlivá na Bt-toxin. První pozitivní fakt je ten, že vyhodnocení výsledků desetiletého pěstování nyní ukázalo, že opravdu nedochází ke vzniku rezistentních populací nejdůležitějšího škůdce bavlníku. Došlo naopak ke snížení celkové hladiny výskytu škůdce, což nikdy nebylo pozorováno při použití insekticidů. Lze tedy předpokládat že podobně účinně bude systém refugií fungovat i u dalších druhů kulturních rostlin, především kukuřice.

Druhým novým pozitivním zjištěním je, že Bt-toxin *B. thuringiensis* Cry6A a Cry 14A působí proti hád'átkům a gen, který tento protein kóduje je k tomuto účelu jako transgen uplatnitelný u kukuřice, soji, brambor a rajčat.

2.2. Transgenní rostliny s přidanou hodnotou

Nejdůležitějším výsledkem roku 2003 je patrně možnost zvýšení obsahu vitamínu C v rostlinách a jejich produktech prostřednictvím transgenose. Transgen, který podmiňuje zvýšenou syntézu vitamínu C, kóduje D-galakturonát reduktasu. Transgen byl klonován z jahod a přenesen do genomu *Arabidopsis thaliana*, kde působí 2x až 3x zvýšený obsah vitamínu C.

V Indii byly získány transgenní brambory, které mají o 1/3 více proteinů, než běžné. Do jejich genomu byl vnesen gen pro zásobní protein z *Amaranthus*. Do komerčního pěstování v Indii se zanedlouho dostanou pod názvem protato.

2.3. Farmakologicky využitelné transgenní rostliny

Byl vyšlechtěn geneticky modifikovaný špenát pro produkci vakciny proti anthraxu. Využívá se geneticky změněný virus tabákové mozaiky, kterým se infikují rostliny špenátu. Nový je transgen pro protektivní antigen *Bacillus anthracis*. Je to jedna ze tří komponent toxinu anthraxu. Byla získána GM vojtěška, která kóduje antigen proti „shipping fever“ hovězího dobytka. Hlavní příčinou nemoci je *Mannheimia haemolytica*, která sídlí u dobytka trvale v jeho krčních mandlích a při snížené imunitě způsobuje chorobu.

Dále se podařilo vyvinout transgenní rostliny a technologii pro získávání protilátek proti vzteklině ve velkém. Jde o transgen pro lidský lehký řetězec imunoglobulinu G. Protein je produkován transgenním tabákem.

2.4. Transgenní rostliny se zvýšenou odolností k biologickým a abiotickým faktorům

Byla získána rýže odolná k suchu, zasolení půdy a nízkým teplotám, a to vnesením modifikovaného genu pro syntézu trehalosy. K syntéze dochází při abiotických stresech. Trehalosa je rostlinný zásobní cukr. Zvyšuje obsah vody v rostlině a chrání tak před nadměrným zaschnutím. Také nová geneticky modifikovaná pšenice s genem pro produkci manitolu má zvýšenou odolnost k suchu a k solím a dává lepší výnosy. Transgenní rostliny, odolné k mnoha typům fyzikálních stresů, byly získány vnesením genu pro nukleosiddifosfát-kinázu (NDPK), ovlivňujícího působení reaktivního kyslík (ROS) u *Arabidopsis thaliana*. Exprese tohoto genu zvyšuje toleranci k chladu, solím a superperoxidům.

Gen proti rakovině bramboru *Phytophthora infestans* byl zjištěn u *Solanum bulbocastaneum*, klonován a přenesen do genomu bramboru, kde působil dostatečnou rezistenci proti této chorobě. Již bylo vypočteno, že pokud by odrůdy s tímto transgenem byly v budoucnosti všeobecně používány, vedlo by to k úspoře 7 500 tun fungicidů ročně, což představuje ušetření 375 milionů Euro a zvýšení produkce o 858 tisíc tun v hodnotě dalších 99 milionů Euro.

2.5. Transgenní rostliny s vývojovými změnami rostlin

Genů, které ovládají vývoj, byla zjištěna, především u *Arabidopsis thaliana*, celá řada. Definitivní průkaz jejich funkce je obvykle založen na tom, že takovýto gen je využit jako transgen u genomu, obsahujícího mutaci tohoto genu. Pokud transgenosí dojde k alespoň částečné obnově funkce, je to potvrzení předpokládaného mechanismu funkce testovaného

transgenů. V loňském roce se objevily některé nové možnosti praktického využití transgenů, které regulují vývoj rostlin. Uvedeme alespoň tři příklady, které by se brzy mohly uplatnit v nových odrůdách, protože zřejmě nejsou spojeny s ekologickými problémy:

- Listy salátu po utržení poměrně rychle hnědnou. Lze tomu zabránit transgenem, který ovládá senescenci.

- Trpasličí topoly, produkované transgenosí, mají zkrácené a ztlustlé kmeny a produkují lepší dřevo. V přírodě nemohou konkurovat stromům běžné velikosti, jsou tedy neškodné pro životní prostředí.

- Orchideje *Dendrobium*, které jsou sezonní, kvetou po celý rok, jestliže je do nich vnesen gen, který reguluje dobu kvetení. Orchideje se rozmnožují pouze vegetativně, takže nemohou být ekologické námitky proti jejich využívání.

3. Rozšíření pěstování GM rostlin

Zemědělské pěstování transgenních odrůd plodin slaví své desetileté výročí. Od prvního uvedení GM odrůdy do oběhu v r. 1994 do současnosti dochází v každém roce k rozšiřování plochy pěstování transgenních rostlin. V posledních třech letech, kdy celková zemědělská plocha GM odrůd se pohybuje kolem půl milionu km², se již rozšiřování zpomaluje. Zatímco v prvních letech se dělo převážně rozšiřováním plochy v průmyslově vyspělých státech, v posledních letech dochází k rozšiřování plochy především v rozvojových zemích. Další jevy ukazují, že tyto státy mají stále velký potenciál rozšiřování plochy GM rostlin do budoucna.

Firma The UK PG Exconomics Ltd. předpověděla rozšiřování GMO po odstranění moratoria. Podle ní je pravděpodobné, že GM kukuřice se začne ve velkém pěstovat během 2-3 let a během 3-4 let další geneticky modifikované plodiny, jako řepka a cukrovka (pokud ovšem nedojde ke stažení typů GM odrůd tolerantních k herbicidům na základě britských dlouhodobých ekologických pokusů, viz dále). Nicméně v dalších pěti letech není u žádné plodiny pravděpodobné, že plocha osetá transgenními odrůdami přesáhne 10% celkové plochy výsevu této plodiny. Rozšíření GM odrůdy bude ovšem závislé na rychlosti šíření škůdců a plevelů a potřebě jeho eradikace neklasickými prostředky.

4. Ekologická hlediska

V letošním roce byly zveřejněny výsledky dlouhodobých pokusů ve Velké Británii, zaměřených na studium ekologických vlivů transgenních rostlin, které jsou vzhledem k jejich závažnosti v dalším textu popsány podrobněji.

4.1. Vyhodnocení dlouhodobých ekologických pokusů ve Velké Británii.

V letech 2000-2002 probíhaly ve Velké Británii pokusy s pěstováním transgenních rostlin, tolerantních k herbicidům a komplexnímu vyhodnocování jejich vlivu na množství plevelů a jejich biodiverzitu a na bezobratlé živočichy na polích. Byly studovány tři plodiny: kukuřice, řepa (cukrová i krmná) a jarní řepka. Bylo třeba ověřit, zda transgenní rostliny s těmito transgeny mají samy nějaké vedlejší účinky na přírodu, např. bezobratlé živočichy. Dále bylo cílem zjistit, zda konkrétní herbicidy, používané k ošetřování geneticky modifikovaných rostlin, tolerantních k herbicidům, nemají specifické nepříznivé účinky na přírodu. V neposlední řadě bylo třeba získat další obecné poznatky o vztazích mezi organismy v přírodě. Například v posledních čtyřiceti letech se zaznamenává úbytek ptactva. Předpokládá se, že úbytek ptactva je spojen s používáním herbicidů a úbytkem plevelů. Některé druhy ptáků se převážně živí semeny plevelů a další hmyzem, který se vyskytuje

nejčastěji na planých druzích rostlin. Četné druhy hmyzu (motýli, včely, ale i dvojkřídli) se živí nektarem z květů. Zatímco kulturní plodiny (řepka) kvetou synchronně po krátké období, plané druhy kvetou postupně po celý rok a proto mají pro rozšíření těchto typů hmyzu mnohem větší význam, než kulturní rostliny a jejich podstatné snížení na velkém území (případně globálně) by mohlo mít nepříznivé důsledky pro rovnováhu v přírodě.

Pokusy byly uspořádány na řadě zemědělských hospodářství v celé Velké Británii. Každé pokusné pole bylo rozděleno na dvě stejně velké a souměrné části: a) část osetá modifikovanou plodinou a b) část osetá klasickou plodinou. První část byla ošetřována podle doporučení semenářské firmy, která prodává GMO, druhá část byla ošetřována konvenčním způsobem, s využitím běžných agrochemikálií. Každý ze statků průběžně navštěvovala skupina vědeckých pracovníků, kteří prováděli potřebné odběry a měření. Ve Velké Británii bylo několik skupin pracujících nezávisle. Na počátku práce bylo domluveno, že jednotlivé skupiny si nebudou vzájemně průběžně sdělovat výsledky, aby se neovlivňovaly. O výsledcích nebude průběžně referováno ani na veřejnosti a teprve po skončení a vyhodnocení pokusů budou vyhodnoceny celkově a k dohodnutému datu publikovány. K publikaci došlo v časopise *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 358 (1439). Datum vydání, uvedené na tomto čísle je sice 29.11.03, ale ve skutečnosti se dostalo do oběhu již v říjnu. Tam bylo publikováno celkem 8 studií k jednotlivým aspektům problematiky (Brooks et al. 2003, Champion et al. 2003, Haughton et al. 2003, Hawes et al. 2003, Heard et al. 2003 a,b, Roy et al. 2003, Squire et al. 2003). Devátá, shrnující publikace (Firbank et al. 2003) byla vydána samostatně společně s brožurkou a komentářem k celé sérii pokusů a celá uvedená série článků byla distribuována britským vládním institucím po celé Evropě k rychlému šíření objektivních informací.

Experimentální práce hodnotí rozdíl mezi transgenními a netransgenními odrůdami v řadě ukazatelů. Šlo pravděpodobně o dosud největší a nejdražší série experimentů sledující, jak zemědělská výroba působí na životní prostředí. Celá série pokusů byla financována britskou vládou a stála 5 milionů liber. Projekt byl plánován a řízen vědeckým řídicím výborem a zahrnoval celkem 273 polních pokusů. Někteří zemědělci však v průběhu tříletého období od smlouvy odstoupili a jejich pole pak nebyla do souhrnných výsledků zahrnuta. Bylo hodnoceno 68 polí kukuřice, 67 polí jarní řepky a 66 polí řepy. Plodiny rotovaly, takže geneticky modifikované plodiny se pěstovaly každý rok na jiném pozemku. Další pokusy s ozimou řepkou stále pokračují a pokračuje i vyhodnocování biodiversity na polích dva roky po pěstování transgenních rostlin. Transgenní kukuřice a jarní řepka měly vnesen transgen pro toleranci k herbicidu Liberty (*glufosinate-ammonium*) firmy Bayer Crop Science a transgenní řepa měla transgen pro rezistenci k herbicidu Roundup (glyfosát) firmy Monsanto. Tyto plodiny byly doporučeny britskou komisí (*Advisory Committee on Releases to the Environment* - ACRE, která zhruba odpovídá České komisi pro nakládání s GMO) s tím, že bylo prokázáno, že tyto plodiny neohrožují životní prostředí ani zdraví člověka a zvířat.

Výsledky v zásadě ukázaly, že čím více je na poli plevelů, tím více je tam i bezobratlých. Pole s konvenční řepkou vykazovalo nejbohatší výskyt plevelů i bezobratlých. Na polích s geneticky modifikovanou řepkou bylo o 80 procent méně semen plevelů a na polích s geneticky modifikovanou řepou o 60 procent méně. Nepodařilo se však zatím získat odpověď na otázku, do jaké míry tento vliv pokračuje ve dvou následujících letech, protože pokusy tohoto typu stále ještě probíhají. Na polích s geneticky modifikovanými plodinami bylo současně méně motýlů a včel, protože tam nalézaly méně plevelů a tedy méně nektaru v jejich květech. Existují však některé druhy členovců jako chvostoskoci, které byly početnější na plochách transgenních rostlin. Chvostoskoci žijí v půdě a živí se odumřelými částmi rostlin. Na polích s GM plodinami byly herbicidy používány později než na polích s konvenčními plodinami, takže v době působení byly plevely více vzrostlé a poskytovaly chvostoskokům více potravy. Početnější byli i brouci, kteří se živí chvostoskoky.

Pole osetá konvenční kukuřicí byla nejchudší na plevel i na členovce. Pole s geneticky modifikovanou kukuřicí měla více plevelů a bezobratlých, než pole s konvenční kukuřicí. Je to zřejmě způsobeno tím, že téměř polovina polí s konvenční kukuřicí byla ošetřována herbicidem atrazinem. Je to velmi účinný preemergentní (používaný před vzejitím) herbicid, který působí na plevely ještě účinněji než Roundup, používaný na polích transgenní kukuřice. Používání Atrazinu bude ale v EU zakázáno. Naopak herbicid Liberty, používaný u transgenní řepky a řepy byl účinnější, než preemergentní herbicidy, používané u konvenčních plodin stejných druhů. Tyto výsledky byly reprodukovatelné v jednotlivých letech i na různých územích. Současné se v hodnotách populace plevelů i bezobratlých lišily všechny tři netransgenní plodiny. Nejmenší biodiverzitu populace plevelů vykazovala kukuřice, větší řepa a největší řepka. Prozatím nejsou vyhodnoceny vlivy na množství plevelů v dalších letech. V zemi však zůstává značná část nevyklíčených semen z předchozích let a stále schopných klíčení. Předpokládá se, že to bude do značné míry vyrovnávat množství plevelů v dalších letech.

Rozdíly mezi GM a konvenčními plodinami v množství a druhové skladbě bezobratlých jsou přibližně stejné, jako rozdíly hodnot mezi jednotlivými plodinami. Pokud by tedy byla přijata strategie těch plodin, které zaručují co největší biodiverzitu na polích, bylo by třeba rozšířit pěstování řepky a omezit až zastavit pěstování řepy a kukuřice. Pokud se týká kukuřice, měla by se pěstovat jen geneticky modifikovaná, zatímco řepa a řepka geneticky nemodifikované. Lze však doufat, že podobné závěry zemědělství ukvapeně neučiní. Je pravděpodobné, že podobné diferenciální vlivy se objevovaly i dříve při každé změně zemědělské technologie a skladby pěstovaných plodin.

Z hlediska odpovědí na základní otázky, položené v úvodu, britské pokusy s transgenními plodinami tolerantními k herbicidům ukázaly, že:

1. Transgenní rostliny tolerantní k herbicidům samy o sobě nemají vedlejší účinky na přírodu. Vedlejší nepříznivé účinky jsou důsledkem účinku herbicidů. Ten je tím větší, čím je účinnější daný herbicid. Byl prokázán nový fakt, že biomasa a biodiverzita bezobratlých na dané lokalitě je v přímém vztahu k biomase a biodiverzitě planých rostlin na této lokalitě, bez ohledu na to, jakým herbicidem a zda s využitím konvenční nebo transgenní, k herbicidu tolerantní plodiny bylo snížení biomasy plevelných druhů dosaženo.

2. Herbicidy, ke kterým jsou tolerantní transgenní rostliny, nemají specifické nepříznivé účinky kromě těch, že jsou účinnější než většina herbicidů, užívaných k ošetřování konvenčních odrůd. Redukce plevelů a v souvislosti s tím i bezobratlých byla největší u konvenční kukuřice, kde se používal převážně preemergentní herbicid Atrazin, který má vysokou účinnost i dlouhou životnost.

Pro ostatní typy transgenních plodin (odolných k hmyzím škůdcům, odolných k virovým patogenům) z této studie žádné závěry nevyplývají.

Kdyby měl být učiněn okamžitý a radikální závěr, byl by jím zákaz všech typů herbicidů. To ovšem není dnes již možné. K omezení negativních vlivů herbicidů, používaných k ošetřování transgenních rostlin by silně přispělo, kdyby tyto herbicidy byly používány v pozdějších stadiích vegetace.

V souvislosti s britskými výsledky komplexního ekologického pokusu je zajímavé, že současně byl prováděn jiný, nezávislý výzkum *Broom Barn Research Station in Suffolk, UK*. Prováděl se na řepě s glyfosátem a bylo zjištěno, že plevely mohou být ponechány po delší období (herbicidy mohou být aplikovány později), aniž by to ovlivnilo výnos. Na polích pak bylo více bezobratlých s větší biodiverzitou. *Danish National Environmental Research Institute* zjistil totéž u krmné řepy. Když krmná řepa, tolerantní ke glyfosátu byla stříkána co

nejpozději, došlo k podstatnému zlepšení plevelné flory a fauny členovců v červnu až červenci ve srovnání s konvenčně ošetřovanými plochami.

Bylo by třeba provést obdobnou ekologickou studii také s genem *Bt* pro odolnost k hmyzím škůdcům. Obdobné, ale menší a méně komplexní studie, které se konají na Entomologickém ústavu AVČR, nepotvrzují obavy z toxického působení tohoto typu GM rostlin na necílové druhy hmyzu.

5. Legislativní hlediska

Jak je možno vidět z tabulky 1, od roku 1998 nebyly v EU žádné další GM odrůdy tržně uvolněny. Je to důsledek pětiletého moratoria na další tržní uvolňování GM odrůd, které bylo tehdy přijato. Základní charakteristikou vývoje legislativní situace v EU v roce 2003 je fakt, že končí pětileté faktické moratorium pro uvádění nových odrůd GM plodin do oběhu.

Moratorium však ve svých důsledcích vedlo k tomu, že množství pokusů s uváděním GM rostlin do prostředí se snížilo na zhruba 1/3. Snížila se i plocha komerčního pěstování GM rostlin v Evropě. Pouze ve Španělsku a ve Francii se tržně pěstuje geneticky modifikovaná kukuřice. Ve Španělsku její plocha v loňském roce činila asi 30 000 ha, ve Francii jen několik set ha. Jiné GM plodiny se v Evropě tržně nepěstují.

Moratorium je zakončeno přijetím nových direktiv, které řídí nejen uvádění nových GM plodin do oběhu, jejich sledovatelnost včetně přeshraničního pohybu, ale i jejich značení po celé cestě zpracování a obchodu, při čemž horní mez příměsí, nad kterou musí být materiál značen jako transgenní, je 0,9%. Nařízení jsou doplněna doporučením o koexistenci ekologického zemědělství, konvenčního zemědělství a zemědělství založeného na GMO. Legislativa EU by se tím měla stát moderní a stabilní legislativou, řešící komplexně problematiku GMO. Dává každému zemědělci právo rozhodnout se, zda bude pěstovat ekologické, konvenční nebo GM plodiny. Současně dává každému spotřebiteli právo svobodně se rozhodnout, zda bude nakupovat konvenční, ekologické nebo geneticky modifikované potraviny. Je však do značné míry poplatná nevědeckému pokroku, ale veřejnému mínění (většina veřejnosti má neopodstatněné obavy z GMO) a nutně povede k diskriminaci GMO produktů, ačkoliv se prokázaly jako zdravotně i ekologicky bezpečné.

Byly přijaty návrhy Evropské komise o GMO, které mají založit přehledný systém sledovatelnosti a značení GMO a regulovat jejich umístění na trhu. Sledovatelností se rozumí způsob sledování pohybu GM produktů v produkčním a distribučním řetězci. To také usnadní monitorování vlivů na prostředí. Budou značeny všechny potraviny a všechna krmiva vyrobená z GMO od výrobce ke spotřebiteli.

5.1. Doporučení o koexistenci konvenčního zemědělství, zemědělství založeného na GMO a ekologického zemědělství

Principem doporučení Evropské unie č. 2003/556/EEC o koexistenci konvenčního zemědělství, zemědělství založeného na GMO a ekologického zemědělství je konstatování, že zemědělci mají právo se svobodně rozhodnout pro tři základní typy výroby: ekologické zemědělství, konvenční zemědělství a zemědělství založené na GMO. Žádný z těchto tří typů nesmí být zvýhodněn nebo naopak potlačován. Pro ekologické zemědělství platí stejný limit příměsí, jako pro konvenční zemědělství, tj. při příměsí GMO menší než 0,9% není produkt považován za GMO. Na druhé straně ten zemědělec, který zavádí nový typ zemědělství (tedy zpravidla zemědělství založeném na GMO) nese případná rizika, spojená s tím, že by výsledný produkt obsahoval 0,9% nebo více příměsí GMO a musel by být považován za GMO (tedy ne již za produkt ekologického zemědělství) a prodán za nižší cenu.

Hlavní přijaté a v současnosti projednávané dokumenty Evropské komise o GMO

Číslo	Název, datum přijetí
98/81/ES	Směrnice Rady, kterou se mění směrnice 90/219/EHS o uzavřeném nakládání s geneticky modifikovanými mikroorganismy z 26 října 1998.
2000/608/ES	Rozhodnutí Komise o prováděcích pokynech pro hodnocení rizik, uvedených v příloze III směrnice 90/219/EHS o uzavřeném nakládání s geneticky modifikovanými mikroorganismy ze 27. září 2000.
2001/18/EC	Směrnice Evropského parlamentu a Rady o uvádění geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí a zrušení Direktivy 90/220/EC z 21. března 2001.
2001/811/EC	Rozhodnutí Rady, kterým se stanoví pokyny doplňující přílohu VII. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/18/ES o záměrném uvolňování geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí a o zrušení směrnice Rady 90/220/EHS ze 3. října 2002.
2001/812/EC	Rozhodnutí Rady, kterým se mění směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/18/ES stanoví formulář souhrnu informací k uvedení geneticky modifikovaných organismů nebo produktů obsahujících tyto organismy na trh ze 3. října 2002.
2002/813/ES	Rozhodnutí Rady, kterým se podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/18/ES stanoví formulář souhrnu informací obsažených v notifikacích záměrného uvolňování geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí pro jiné účely, než pro uvedení na trh ze 3. října 2002.
2002/623/ES	Rozhodnutí Komise, kterým se stanoví pokyny doplňující přílohu II směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/18/ES o záměrném uvolňování geneticky modifikovaných organismů do životního prostředí a zrušení směrnice Rady 90/220/EHS z 24. července 2002.
1829/2003	Nařízení Evropského Parlamentu a Rady z 22. září 2003 o geneticky modifikovaných potravinách a krmivech. z 22. září 2003.
1830/2003	Nařízení Evropského parlamentu a Rady o sledovatelnosti / dohledatelnosti původu a označování geneticky modifikovaných organismů a o sledovatelnosti / dohledatelnosti původu potravinářských a krmivářských výrobků z GMO a o změně Směrnice 2001/18/EC z 18. října 2003.
1946/2003	Nařízení Evropského Parlamentu a Rady o přeshraničních pohybech geneticky modifikovaných organismů z 15. července 2003.
2003/556/EC	Doporučení Komise o koexistenci zemědělství, využívajícího geneticky modifikovaných organismů s ekologickým a konvenčním zemědělstvím z 23. července 2003.
Prozatím v jednání	Rozhodnutí Komise, kterým se stanoví podrobná opatření k vedení registrů zřízených podle Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2001/18/EC o ukládání informací o genetických modifikacích v GMO. Připravováno.
Prozatím v jednání	Nařízení Komise, kterým se zřizuje systém vytváření a přidělování jednoznačných identifikačních kódů pro geneticky modifikované organismy. Připravováno.

Zbývala ale námitka ekologických zemědělců, že příměsi GM materiálu v pěstovaných produktech (např. kukuřici a řepce) činí jejich produkty neuplatnitelné na trhu ekologického zemědělství a vedou k ekonomickým ztrátám. Dne 23. 7. 2003 vydala Evropská komise Doporučení č. 2003/556/EC a vyjádřila jednoznačný požadavek, aby všechny členské státy zajistily koexistenci zemědělství využívajícího GMO, konvenčního zemědělství a

ekologického zemědělství a tím, že bude současně zajištěna nezávadnost zemědělství založeného na GMO i jeho produktů pro přírodu a pro člověka. Ve svém Doporučení Evropská komise uvádí jen obecné instrukce s dodatkem, že podmínky zemědělství jsou v různých státech Evropy různé a konkrétní předpisy v jednotlivých státech bude třeba přizpůsobit těmto variabilním podmínkám. Tím Evropská unie dává členským státům i kandidátským státům nemalý úkol - adaptovat tyto zásady na konkrétní podmínky a včlenit odpovídající změny do všech sfér od legislativy až po denní praxi. K vytvoření národních strategií jednotlivých států dává evropská unie dobu dva roky.

Pěstování GMO ve státech EU bude mít zpětný vliv na organizaci zemědělské výroby. Jednak zemědělci budou mít plnou volnost všech tří uvedených typů rostlinné výroby, ale současně i konzumenti budou mít plnou volnost volby. K tomu bude nutno vytvořit systém značení zemědělských produktů od pole až ke konzumentovi. Zemědělství současně bude paralelně nabízet výrobky, které jsou výsledkem všech tří typů zemědělské výroby. Tyto tři typy zemědělské výroby musí současně být od sebe rozumným způsobem odděleny. Není to v zásadě nic nového. Semenářství si již dávno vyvinulo systém k zajištění čistoty semenného materiálu.

Členské státy mají za úkol zajistit přiměřené rozšíření této informace. Je třeba, aby byly vyvinuty národní strategie koexistence. Opatření ke zvládnutí koexistence musí využívat současných vědeckých poznatků ke zjištění pravděpodobnosti a zdrojů příměsí GM a konvenčních odrůd plodin. Jeho úkolem bude zajistit, aby příměsí GM plodin v konvenčních odrůdách byly pod zákonem daným prahem značení s ohledem na geneticky modifikované potraviny a krmiva a semena, jak je definován legislativou EU. Opatření mají být účinná, ekonomická a přiměřená. Nemohou zacházet nad nutný rámec nutný k zajištění, že příměsí GMO budou pod prahem tolerance, stanoveným legislativou EU. Nemají představovat zbytečnou zátěž rolníků, semenářů, družstev a dalších činitelů zemědělské produkce.

5.2. Legislativa GMO u nás

Od 1. 1. 2001 do 22. 1. 2004 u nás platil Zákon č. 153/2000 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a produkty a o změně některých souvisejících zákonů. K uvedenému datu byl nahrazen Zákonem č. 78 Sb., který je plně kompatibilní se Směrnicí EU 2001/18/EC. Hlavní zásady zůstaly, ale přibyly některé nové. Zásady, které zůstaly, jsou především tyto: Zákon rozeznává tři typy nakládání s geneticky modifikovanými organismy: 1) uzavřené nakládání (v laboratoři, uzavřeném skleníku nebo zvěřinci) 2) uvádění do prostředí (pěstování, chování nebo kultivace GMO "pod širým nebem", při kterém je přenos transgenu omezen) a 3) tržní uvolnění, při kterém je možno GMO prodávat dalším osobám, které s GMO nakládají jako s jiným spotřebním zbožím. Z hlediska potenciální nebezpečnosti existují čtyři třídy nebezpečnosti, od A (bez nebezpečí nebo se zanedbatelným nebezpečím pro přírodu, přírodní prostředí a zdraví člověka) až k D), která představuje vysoké nebezpečí. K získání oprávnění pracovat s GMO je třeba podat žádost na Ministerstvo životního prostředí. (podle zákona 78 je to pro kategorii rizika A a B uzavřeného nakládání jen oznámení). Oddělní ekologických rizik žádost vyhodnotí na základě odborných posudků Komise GMO, která je složena z odborníků různých profesí a oborů, a ve spolupráci s odpovídajícími útvary Ministerstva zemědělství a Ministerstva zdravotnictví vydá rozhodnutí o zapsání příslušného právního subjektu do seznamu osob, pracujících s GMO, nebo si vyžádá další údaje ke zpřesnění žádosti. Žádosti jsou vlastně velmi podrobné dotazníkové formuláře, které podávají podrobnou charakteristiku geneticky modifikovaného organismu, pracoviště, na kterém s ním bude nakládáno i odborný profil osob, které s GMO budou nakládat. Oznámení jsou o něco stručnější. Jako přílohy musí obsahovat, mimo jiné, hodnocení rizika

GMO, dodatek k pracovnímu řádu pracoviště, týkající se práce s GMO, plán pracoviště, jeho havarijní plán a další.

Za dobu platnosti zákona č. 153/2000 Sb. do současnosti u nás bylo podáno 78 žádostí o registraci nakládání s GMO. V této době bylo u nás 37 organizací, které nakládají s GMO, celkem 33 organizací v uzavřeném nakládání, 7 uvádění do prostředí a 1 v uvádění do oběhu. Za dobu platnosti nového Zákona č. 78/2004 Sb. u nás bylo podáno přibližně 10 oznámení o uzavřeném nakládání. Co se týče uvádění do oběhu, existovala jediná registrace, kterou má firma Monsanto na GM soju, tolerantní k herbicidu glyfosátu. To se podstatně rozšířilo našim vstupem do EU. Rozšíření se však bude vztahovat jen na dovoz, ne na pěstování povolených odrůd. Každá nová odrůda, povolená v ČR, musí projít státními odrůdovými zkouškami, které trvají tři roky. Existuje ovšem registr EU odrůd kulturních rostlin. Odrůdy v něm uvedené se mohou pěstovat u nás i po našem vstupu do EU i bez státních odrůdových zkoušek, ale mezi nimi žádná GM odrůda není.

Od 15.10 2003 platí v EU nová Směrnice 2001/18/EC. Ta je do české legislativy transponována zákonem 78/2004 Sb., který zahrnuje zejména tyto nové přístupy:

- Nevztahuje se na geneticky modifikované mikroorganismy, které splňují kritéria bezpečnosti pro zdraví lidí a zvířat, pro složky životního prostředí a biologickou rozmanitost.
- Liší se poněkud průběh správního řízení o vydávání oprávnění k nakládání s GMO, včetně řešení různých změn v nakládání.
- Informování veřejnosti a možnost jejího zapojení do schvalovacího procesu je širší.
- Zjednodušení administrativního postupu při uzavřeném nakládání s GMO s nízkým stupněm rizika - v souladu s příslušnými předpisy EU stačí oznámení.
- Dopravu, dovoz a vývoz GMO. Označování GMO a produktů obsahujících GMO, zajištění sledovatelnosti při uvádění do oběhu - v této oblasti platí předpisy EU.
- Kompetence a spolupráce správních úřadů.
- Nápravná opatření a výši pokut pro neoprávněné nakládání s GMO - skutkové podstaty jsou uvedeny detailněji, pokuty více odstupňovány. Pokuty jsou až do výše 5 milionů Kč.
- Komunikaci s Evropskou komisí a členskými státy, schvalování uvádění GMO a produktů do oběhu na úrovni EK, zapojení do výměny informací a schvalovacích procedur. Jakákoli žádost o uvedení do oběhu, podaná ve kterékoli zemi EU, je totiž posuzována ve všech zemích EU a tedy i v ČR.

6. Závěr

Geneticky modifikované odrůdy rostlin se pěstují na celkové ploše přes 600 000 km². Bylo jich snědno a zkrmeno přes 300 000 tun, ale žádné nepříznivé zdravotní ani ekologické účinky nebyly zjištěny. Se vstupem do EU se k nám mohou dovážet (se zachováním postupů, daných zákonem a vyhláškami) všechny GM plodiny, povolené v EU: tolerantní k herbicidu glufosinátu amonnému (kukuřice, řepka, čekanka), tolerantní k herbicidu glyfosátu (kukuřice, soja, tabák), odolné k hmyzím škůdcům (kukuřice), ale nemohou se u nás produkčně pěstovat, pokud neprojdou státními odrůdovými zkouškami. Pokud by se k nám dovážely, musí být jak plodiny tak z nich vyrobené výrobky označeny nápisem "obsahuje GMO" nebo "vyrobeno z GMO".

7. Literatura

- Brooks, D.R. et al. (2003) Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops. I. Soil-surface-active interactions. - *Phil. Transact. Roy. Soc. B* 358: 1847-1863.
- Burke, M. (2003) GM crops. Effect on farmland wildlife.(summary of the scientific papers published in the Philosophical Transactions of the Royal Society. Published by Evaluation Research Team and the Scientific Steering Committee.
- Champion, G.T. et al. (2003) Crop management and agronomic context in the farm scale evaluation of genetically modified herbicide-tolerant crops. - *Phil. Transact. Roy. Soc. B* 358: 1801-1818, 2003.
- Firbank, L.G. et al. (2003) The implications of spring-sown genetically modified herbicide-tolerant crops for farmland biodiversity. A commentary on the farm scale evaluations of spring sown crops. 35 pp., brožura.
- Haughton, A.J. et al. (2003) Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops II. Within-field epigeal and aerial arthropods. - *Phil. Transact. Roy. Soc. B* 358: 1863-1878.
- Hawes, C. et al. (2003) Responses of plants and invertebrates trophic groups to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluation of genetically modified herbicide-tolerant crops. - *Phil. Transact. Roy. Soc. B* 358: 1899-1913.
- Heard, M.S. et al. (2003a) Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant crops. I. Effect of abundance and diversity. - *Phil. Transact. Roy. Soc. B* 358: 1819-1832.
- Heard, M.S. et al. (2003) Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide tolerance crops II. Effect of individual species. - *Phil. Transact. Roy. Soc. B* 358: 1833-1846.
- Roy, D.B. et al. (2003) Invertebrates and vegetation of field margins adjacent to crop subjects to contrasting herbicide regimes in the Farm Scale Evaluation of genetically modified herbicide-tolerant crops. - *Phil. Transact. Roy. Soc. B* 358: 1879-1898.
- Squire, G.R. et al. (2003) On the rationale and interpretation of the farm scale evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. - *Phil. Transact. Roy. Soc. B* 358: 1799-1800.

RNA klub

V září 2003 uspořádala aktivní skupina pracovníků z laboratoře RNDr. Martina Pospíška na katedře genetiky a mikrobiologie PřF UK v Praze jednodenní setkání zájemců o problematiku RNA, která je hlavním předmětem jejich současného experimentálního zaměření. Jistě to nebyla vzpoura proti populárnější genomice a jejímu centrálnímu objektu DNA, zvláště v roce 50. výročí objevení její struktury, ale naopak logické vyústění stále se zvyšujícího zájmu o druhý typ nukleové kyseliny, která již zdaleka není jen „pasivním intermediátem“ genové exprese. Dříve i nedávno objevené specifické vlastnosti strukturně i funkčně heterogenních RNA (kromě hlavních typů r-, m-, t- a virových RNA i sn-, sno-, g-, mi-, si- RNA, RNA_i, ribozymů, viroidů, virusoidů, atd. atd.) a stále trvající a v poslední době se stále rozšiřující jedinečné metodické přístupy, s nimi spojené, vyústily v představu rozhodujícího významu stavebních katalytických a regulačních funkcí RNA v molekulární evoluci (včetně „RNA světa“), které ji přibližují spíše k proteinům než k DNA.

Velmi případnou volbou názvu pro zamýšlené aktivity - RNA klub, navázali organizátoři, neuvědoměle a přes hranice století, na existenci prvního mezinárodního klubu RNA, založeného před 50. lety Gamowem v USA. Tento klub sdružoval, bezprostředně po objevu dvoušroubovice DNA, 24 „prominentních zájemců“ o řešení problému genetického kódu (4 podle počtu basí v DNA a 20 podle počtu proteinogenních aminokyselin), mezi nimiž nechyběli Crick a Watson, a později např. i Brenner. I úkolem tohoto historického klubu bylo vzájemně se informovat, na neformálních setkáních, o novinkách a názorech na řešení problematiky kódu a o případných hypotézách a jejich metodické přístupnosti a schůdnosti. I když nelze očekávat „jednoznačnou paralelu“ s touto historickou reminiscencí, vzbudil počín dnešních organizátorů zájem především mezi jejich mladšími a nastupujícími vrstevníky, tj. pracovníky VŠ, AV ČR a resortních ústavů (26 registrovaných účastníků a nespočet dalších zájemců, kteří "navštívili" některé části programu), kteří rovněž se značným entusiasmem předkládali své výsledky, názory a závěry a diskutovali vystoupení ostatních při stejně neformálním jednání.

V programu bylo zařazeno 16 sdělení z 11 pracovišť, které tématicky představovaly široký okruh zájmů od metod typu izolace RNA, molekulární hybridizace, RT-PCR, čipové technologie, analýzy polysomových profilů, použití GFP atd., jejich zajišťování, optimalizace, hodnocení a analytické a diagnostické využití (ÚHK, PaÚ a MBÚ AV ČR, Chmelařský

ústav s.r.o., PřF UK i presentace firem Roche, Genetica a KR D), přes velmi frekventované studium mechanismu a použitelnosti RNA interference a jejích komponent (ÚŽFG a ENTÚ AV ČR, FN Brno), až k různým problémům regulace genové exprese na úrovni iniciace translace (PřF UK, PaÚ AV ČR, BF JU), rozdílů ve složení transkriptomů a proteomů po působení různých intra- a extracelulárních vlivů (MBÚ a ÚEB AV ČR, PřF UK), interakce vazebných proteinů v editaci RNA (PaÚ AV ČR, BF JU) a strukturních a dynamických studií konformace RNA – K-ohyby a podobné motivy (PřF MU a Nár. centrum pro výzkum biomolekul v Brně). K velmi zajímavým příspěvkům, které vyvolaly živý zájem posluchačů, patřila i 2 vystoupení s tematikou viroidů, věnovaná "životní strategii" viroidních molekul, založené na *in silico* studiích sekundární struktury RNA (MBÚ AV ČR a PřF UK) a analýze viroidů parazitujících na chmelu, s "vysokým praktickým nábojem" (Chmelařský ústav s.r.o.). Velmi dobrá úroveň diskuse po každém vystoupení a její pokračování v kuloárech i při večerním, opět neformálním, ale velmi příjemném, přátelském posezení, ukázal, že zájem účastníků "klubu" byl skutečný a přirozený a že záměr organizátorů se vydařil.

Již tento pouhý výčet témat potvrzuje, že se u nás provádí i v problematice RNA moderní výzkum, spadající do velmi kompetitivní oblasti a využívající nejmodernějších metod odpovídajících současné světové a evropské úrovni. Je proto jistě velkou zásluhou organizátorů, že se snaží zaplnit mezeru, kterou lze mezi vědecko- organizačními aktivitami, vzhledem k výzkumu RNA a informací o něm, u nás pozorovat. Že svou snahu nerealizovali jen jednorázově, ale že v ní hodlají se stejným úsilím pokračovat, o tom svědčí oznámení, že 2. ročník RNA klubu se bude konat v prostorách PřF UK v Praze (Viničná 7, Praha 2) již 23. září tr. Jsem přesvědčen, že i on bude stejně úspěšný (podrobnosti viz www.natur.cuni.cz/~rna_club).

S. Zadražil

Představujeme genetická pracoviště

Ústav živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd České republiky

HISTORIE

Pracoviště v Liběchově vzniklo k 1. 11. 1954 rozhodnutím Československé akademie zemědělských věd (ČSAZV) jako Laboratoř biologie rozmnožování hospodářských zvířat. Mezi ústavy ČSAZV postupně získala relativně malá laboratoř v Liběchově uznávané postavení a současně se rozvíjely i velmi dobré vztahy s některými ústavu Československé akademie věd (ČSAV) v oblasti biologie rozmnožování a imunologie.

V prosinci 1960 byla uspořádána konference pro pracovníky plemenářské služby, na které prakticky skončil svazek Laboratoře biologie rozmnožování hospodářských zvířat s ČSAZV (tato organizace byla zrušena). Liběchovské pracoviště bylo poté organizačně začleněno pod Výzkumný ústav živočišné výroby v Uhříněvsi s tím, že všechny zemědělské ústavy byly začleněny pod odbor výzkumu ministerstva zemědělství.

Přelomovým rokem se pro liběchovské pracoviště stal rok 1962. ČSAV začlenila do svých organizačních struktur tři malá, vědecky nejúspěšnější pracoviště, a to Laboratoř biologie rozmnožování v Liběchově, Oddělení fyziologie zvířat Výzkumného ústavu živočišné výroby v Uhříněvsi a Laboratoř radiobiologie v Praze.

K 1. lednu 1963 zřídila ČSAV Laboratoř fyziologie a genetiky živočichů se dvěma pracovišti – v Uhříněvsi (Oddělení fyziologie) a v Liběchově (Oddělení genetiky). V roce 1969 se rozhodnutím prezidia ČSAV osamostatnilo Oddělení genetiky v Liběchově a vznikla Laboratoř genetiky živočichů ČSAV.

V roce 1972 se toto pracoviště opět sloučilo s Laboratoří fyziologie živočichů ČSAV v Uhříněvsi a tím byl vytvořen Ústav fyziologie a genetiky hospodářských zvířat ČSAV. K 1. 2. 1973 byla provedena změna názvu na Ústav fyziologie a genetiky živočichů ČSAV. Současná úprava názvu (Ústav živočišné fyziologie a genetiky Akademie věd České republiky – ÚŽFG AV ČR) byla přijata k 1. 1. 1993.

Původní badatelská témata, zpočátku téměř plně orientovaná na aplikovaný zemědělský výzkum, se postupně měnila a ztrácela svoji aplikační orientaci.

Po období akcentování otázek inseminace se pozornost soustředila na samičí pohlavní buňku, její oplození, sledování preimplantačního vývoje savčího embrya, definování podmínek pro experimenty s oocyty *in vitro*, genové exprese v průběhu raného vývoje a mnoho dalších souvisejících témat.

Vznikla tak celá škola, která se dosud úspěšně rozvíjí a jejíž poznatková základna stojí u základů dnešních směrů klonování savců, asistované reprodukce a studia regulace buněčného cyklu.

SOUČASNOST

Dnešní ÚŽFG AV ČR patří v systému AV ČR k ústavům střední velikosti. Má devět vědeckých laboratoří: (Laboratoř vývojové biologie, Laboratoř fyziologie reprodukce, Laboratoř genetiky ryb, Laboratoř genomiky, Laboratoř fyziologie výživy, Laboratoř anaerobní mikrobiologie, Laboratoř endokrinologie, Laboratoř experimentální onkologie a Laboratoř genetiky a embryologie) umístěných v Liběchově, Praze a Brně.

Úkoly řešené v současnosti se pohybují od výrazně biomedicínských až po biodiverzitně orientovaná témata, jež jsou propojena společnou linií sledování fyziologických a genetických

parametrů živočichů, včetně aplikace obdobných experimentálních metod. Aktuálně řešené úkoly jsou unikátní, bez tradice na jiných pracovištích v ČR. Ústav má několik společných pracovišť s vysokými školami i jinými výzkumnými ústavami v ČR, je zapojen do Centra buněčné terapie a tkáňových náhrad a rozvíjí rozsáhlou mezinárodní spolupráci s renomovanými vědeckými pracovišti od amerického až po asijský kontinent. Pracovníci ústavu jsou rozsáhle zapojeni do výuky na univerzitách a do školení doktorandů, řada z nich je habilitována. Další podrobnosti lze nalézt na webových stránkách ústavu www.iapg.cas.cz, kde si lze také učinit představu o publikační aktivitě pracovníků ústavu.

Laboratoř vývojové biologie

Vedoucí: RNDr. Jiří Kaňka, DrSc.

Adresa: Rumburská 89, 227 21 Liběchov

Telefon: 315 639 551

E-mail: kanka@iapg.cas.cz

Činnost laboratoře je zaměřena na problematiku aktivace embryonálního genomu a exprese genů v průběhu časného embryonálního vývoje savců. Jako experimentální modely se používají časná embrya myši a skotu, kultivovaná v podmínkách *in vitro*. Expresse několika důležitých genů byla popsána od jednobuněčného stadia do stadia blastocysty. Tato exprese je charakterizována pomocí reversní transkripce a polymerázové řetězové reakce (RT-PCR). Může sloužit jako marker normálního vývoje embrya v podmínkách kultivace *in vitro*, nebo vývoje klonovaného embrya. Laboratoř se zabývá rovněž vlivem epidermálního růstového faktoru (EGF) na kumulární buňky prasete v různých stádiích folikulogeneze. EGF stimuluje proliferaci kumulárních buněk ve folikulu vaječníku, izolovaných z malých a středních folikulů, zatímco u kumulárních buněk izolovaných z preovulačních folikulů stimuluje remodelaci cytoskeletu a produkci hyaluronové kyseliny. Laboratoř se dále zabývá transkripcí genu pro růstový diferenační faktor 9 (GDF-9) v ovariální tkáni prasat a další oblastí jejího zájmu je rovněž kultivace časných embryí prasat s cílem zvládnout celý preimplantační vývoj časného embrya v prostředí *in vitro*. To je základním předpokladem pro zavedení moderních biotechnologických a biomedicínských metod do klinické i laboratorní praxe.

Laboratoř fyziologie reprodukce

Vedoucí: Ing. Michal Kubelka, CSc.

Adresa: Rumburská 89, 227 21 Liběchov

Telefon: 315 639 568

E-mail: kubelka@iapg.cas.cz

Činnost skupiny fyziologie reprodukce je zaměřena jak na problematiku meiotického zrání savčích oocytů, jejich oplodnění a aktivace, tak i na biochemickou charakterizaci těchto procesů. Jako modelový systém jsou používány savčí oocyty, které jsou využívány rovněž ke studiu mechanismů uplatňujících se při regulaci buněčného cyklu. V rámci oddělení je řešeno několik vědeckých témat. V tomto směru byl popsán časový průběh změn v aktivitách několika nejdůležitějších M-fází protein kinas během zrání a aktivace prasečích a bovinních oocytů, dále jsou studovány mechanismy podílející se na regulaci iniciace translace, či na regulaci kondensace chromatinu v savčích oocytech. Je zkoumán rovněž účinek EGF na regulaci expanse kumulárních buněk ve folikulech. Další projekty se zabývají optimalizací tzv. dvoustupňové kultivace bovinních oocytů za účelem získání kvalitních embryí z preantrálních folikulů, či ustavením efektivní a spolehlivé metody pro oplození prasečích oocytů *in vitro*. Jednou z oblastí zájmu laboratoře je buněčná terapie. Tato terapie představuje reálnou alternativu pro léčení celé řady degenerativních a civilizačních chorob, včetně chorob nervových. Jejím cílem je nahrazení, opravení nebo zlepšení biologické funkce poškozené tkáně nebo orgánu. Toho se může dosáhnout pomocí transplantace izolovaných a dobře

charakterizovaných buněk do cílového orgánu v dostatečném počtu a kvalitě tak, aby byly schopny navodit návrat funkce. Řešení této problematiky je součástí badatelských cílů Centra buněčné terapie a tkáňových náhrad, na jehož činnosti ÚZFG AV ČR participuje.

Laboratoř genetiky ryb

Vedoucí: Ing. Petr Ráb, DrSc.

Adresa: Rumburská 89, 227 21 Liběchov

Telefon: 315 639 546

E-mail: rab@iapg.cas.cz

Laboratoř je zaměřena na studium a rozvoj tradičních i nových problémových okruhů genetiky ryb, případně nižších obratlovců. Dlouhodobě je studována problematika hybridních unisexuálních obratlovců na modelových hybridních komplexech sekavců rodu *Cobitis*, stříbřitých karasů rodu *Carassius*, okrajově též u synkleptonu vodních skokanů *Rana esculenta*. Dosud bylo prokázáno, že hybridní diversity sekavců rodu *Cobitis* v Evropě nemá obdoby mezi ostatními unisexuálně se množícími obratlovci a že hybridní komplexy jsou v Evropě všudypřítomné. Nově rozvíjeným směrem jsou fylogeografické studie, tj. studium evoluce a geografického rozšíření selekčně neutrálních mtDNA a nukleárních znaků. Je to dosud jediná laboratoř v ČR, která se molekulární fylogeografií zabývá. Tradičně rozvíjeným tématem je konvenční i molekulárně cytogenetické studium holarktických skupin sladkovodních ryb (kaprovití, sekavcovití, lososovití, sumcovití). Laboratoř je intenzivně zapojena do Programu národních genových zdrojů (kapr, lín, síhové, pstruzi, jeseteři) a programu NATURA 2000 (sekavci, hrouzci, vranky) analýzou genetických parametrů linií a populací, pro kterou má Laboratoř akreditaci Ministerstva zemědělství a výživy ČR. U kapra byla zahájena rozsáhlá studie mikrosatelitové diversity plemen a linií vedených v Programu národních genových zdrojů.

Laboratoř genomiky

Vedoucí: doc. Ing. Antonín Stratil, DrSc.

Adresa: Rumburská 89, 227 21 Liběchov

Telefon: 315 639 531

E-mail: stratil@iapg.cas.cz

Laboratoř se orientuje na analýzu genomu a genové mapování u hospodářských zvířat. Cílem její činnosti je poskytování základních poznatků o působení jednotlivých genů, včetně jejich interakcí, na užitkové znaky a zdraví. Dále je badatelská činnost zaměřena na disekci QTL na jednotlivé mendelisticky děděné znaky, a tak umožnění jejich manipulace pomocí „*marker assisted selection*“. Významnou aktivitou laboratoře je rovněž získání podkladů pro poziční klonování mapovaných QTL a jejich modifikace. Cílem badatelského úsilí laboratoře je poskytnutí poznatků pro využití hospodářských zvířat (zejména prasete) jako zvířecích modelů lidských nemocí. Aktivita laboratoře byla v uplynulém období součástí mezinárodní spolupráce při mapování genomu a QTL u prasete. Ve spolupráci s univerzitou v Hohenheimu se pracovníci laboratoře podíleli na vytvoření genové mapy prasete a průběžně se podílejí na doplňování této mapy o další geny. Současná metodická výbava laboratoře zahrnuje různé DNA technologie, jako je PCR, PCR-RFLP, DGGE, klonování a subklonování v plazmidech, využití lambda fágové prasečí genomové a jaterní cDNA knihovny, využití BAC a PAC klonů, Southernovy hybridizace, sekvenování, testování mikrosatelitů, RISH a FISH. V laboratoři se rovněž rozvíjí studium funkční genomiky, zejména analýzy EST (*expressed sequence tags*) z cDNA knihoven vybraných tkání studovaného organismu. Laboratoř je dostatečně vybavena pro studium molekulárně-genetické problematiky.

Laboratoř fyziologie výživy

Vedoucí: prof. Ing. Milan Marounek, DrSc.

Telefon: 267 090 507

Adresa: Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 – Krč

E-mail: marounek@iapg.cas.cz

Laboratoř uskutečňuje základní výzkum v oblasti fyziologie výživy hospodářsky významných zvířat. Navazuje tak na předchozí výzkum, který začal již v první polovině 70. let, studiem metabolismu dusíku v bachoru přežvýkavců. V současné době se zabývá vlivem mastných kyselin a jejich derivátů na enteropathogenní bakterie s cílem umožnit náhradu nedovolených antimikrobiálních aditiv látkami, vůči nimž nejsou hygienické námitky. V rámci programu COST, akce 848 „Rabbits“, se zjišťuje identita bakterií odpovědných za významné hydrolytické aktivity v trávicím traktu králíků. Zavedení isotachoforetické metody stanovení kyseliny fytové umožnilo zabývat se detailně metabolismem této hlavní formy fosforu v rostlinách u drůbeže, králíků a telat. Laboratoř pokračuje ve studiu fermentace pektinu. U bakterií z trávicího traktu býložravých zvířat byl objasněn jeho metabolismus, od rozkladu makromolekuly až po vznik konečných produktů fermentace uvnitř mikrobiálních buněk. Laboratoř úzce spolupracuje s Výzkumným ústavem živočišné výroby v Praze.

Laboratoř endokrinologie

Vedoucí: doc. MVDr. Josef Škarda, DrSc.

Adresa: Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 – Krč

Telefon: 267 090 505

E-mail: skarda@iapg.cas.cz

Výzkumná aktivita laboratoře je zaměřena především na hormonální řízení vývoje a funkce mléčné žlázy. Vzhledem k účasti četných hormonálních interakcí při růstu a diferenciaci epitheliálních buněk je mléčná žláza vhodným modelem pro hodnocení nejen hormonálních, ale i antihormonálních aktivit. V laboratoři byl vypracován jednoduchý a spolehlivý systém pro stanovení aktivit agonistů a antagonistů steroidních hormonů *in vivo*, který simultánně vyhodnocuje stimulaci nebo inhibici růstu mléčné žlázy a jiných orgánů (dělohy, semenných váčků a sleziny) u mladých intaktních a dospělých gonadektomovaných myší po aplikaci jedné nebo více látek. V současné době jsou vyhodnocovány biologické aktivity agonistů, antagonistů, estrogenů, gestagenů, androgenů a glukokortikoidů na systému *in vivo* a připravuje se využití systémů pro detekci hormonálních aktivit výše uvedených látek v podmínkách *in vitro* na tkáňových a orgánových kulturách mléčné žlázy a rekombinantních buněčných liniích.

Laboratoř anaerobní mikrobiologie

Vedoucí: Ing. Jan Kopečný, DrSc.

Adresa: Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4-Krč

Telefon: 267 090 502

E-mail: kopecny@iapg.cas.cz

Laboratoř anaerobní mikrobiologie je zaměřena na genomiku, molekulární biologii, ekologii a hydrolýzu polysacharidů - celulosy, hemicelulosy a chitinu anaerobů. Dosud se podařilo popsat novou chitinolytickou populaci bakterií v bachoru přežvýkavců i v tlustém střevě člověka. Vedle toho bylo prokázáno, že velikost celulolytické populace bakterií může být indikátorem onemocnění tračníku člověka. Při studiu anaerobních bakterií produkujících butyrát v bachorovém obsahu byly popsány dva nové významné druhy hemicelulolytických bakterií: *Butyrivibrio hungatei* a *Pseudobutyrvibrio xylanivorans*. Vedle bakterií laboratoř studuje rozklad rostlinné vlákniny anaerobními houbami a jejich interakce s ostatními mikroorganismy v bachoru.

Laboratoř experimentální onkologie

Vedoucí: RNDr. Vratislav Horák, CSc.

Adresa: Rumburská 89, 227 21 Liběchov

Telefon: 315 639 533

E-mail: horakv@iapg.cas.cz

Výzkumná činnost je zaměřena na studium nádorových onemocnění u různých živočišných modelů. Hlavní důraz je v současné době kladen na sledování účinku devitalizace nádorové tkáně a na analýzu procesů, které tento zákrok v živém organismu vyvolává. Devitalizace je originální chirurgický postup vyvinutý českým chirurgem MUDr. Karlem Fortýnem, CSc. (1930-2001) pro léčbu pevných nádorů. Spočívá v cílené ischemiaci nádorového ložiska podvázáním jeho arteriálních a venosních cév a v ponechání takto ošetřené nádorové tkáně v organismu. Zákroky jsou prováděny především na maligních melanomech u miniaturních prasat a na různých spontánně vzniklých nádorech u psů. Získané výsledky ukazují, že unikátní protinádorový efekt devitalizačního zákroku není druhově ani nádorově specifický a že ponechání devitalizované tkáně v organismu nevyvolá septické stavy ani smrt pokusných zvířat. Bližší objasnění biologických pochodů vyvolaných devitalizací, vedoucí k zániku nádorových buněk, je cílem imunologicky, imunohistochemicky, biochemicky a molekulárně geneticky zaměřených experimentů, které laboratoř v současné době provádí ve spolupráci s řadou dalších výzkumných pracovišť.

Laboratoř genetiky a embryologie

Vedoucí: doc. MVDr. Ivan Míšek, CSc.

Adresa: Veveří 97, 602 00 Brno 2

Telefon: 532 290 137

E-mail: witter@iach.cz

Vědecké zaměření laboratoře je profilováno jednak do oblasti genetické, jednak embryologické. Badatelský tým se zabývá genetickou proměnlivostí drobných savců, a to hlavně evolucí rodu *Mus* včetně hybridizace a speciace (vznikem druhu) domácích myší. Tento výzkum je založen na řadě zavedených, ale i moderních laboratorních metod, jako jsou morfometrie, klasická cytogenetika a dále molekulární i tzv. biochemická genetika. Dalším badatelským směrem je embryologie živočichů se zaměřením zvláště na organogenesi a histogenesi orofaciální oblasti. V současné době se laboratoř soustřeďuje na výzkum vývoje zubů u savců. Jde především o morfogenesi (vývoj tvaru) zubních základů a proliferační i regresní procesy během tohoto vývoje. Jsou sledovány signální dráhy hrající významnou úlohu při vzniku a formování dentice včetně role a účasti genů při tomto vývoji. Většina pracovníků LGE se aktivně účastní výuky studentů a výchovy mladých vědeckých pracovníků na univerzitách.

KONTAKTY:

Ředitel:

doc. MVDr. Ivan Míšek, CSc.

Tel.: 315 639 512, e-mail: uzfg@iapg.cas.cz

Sekretariát:

Alena Bartošová

tel.: 315 639 532, mail: uzfg@iapg.cas.cz

Zástupce ředitele pro organizaci a provoz:

Ing. Petr Bobák, CSc.

Tel.: 315 639 532, e-mail: bobak@iapg.cas.cz

Zástupce ředitele pro vědu:

Ing. Petr Ráb, DrSc.

Tel.: 315 639 546, e-mail: rab@iapg.cas.cz

Ekonomický útvar:

Ing. Anežka Stratilová

Tel.: 315 639 526, e-mail: eko@iapg.cas.cz

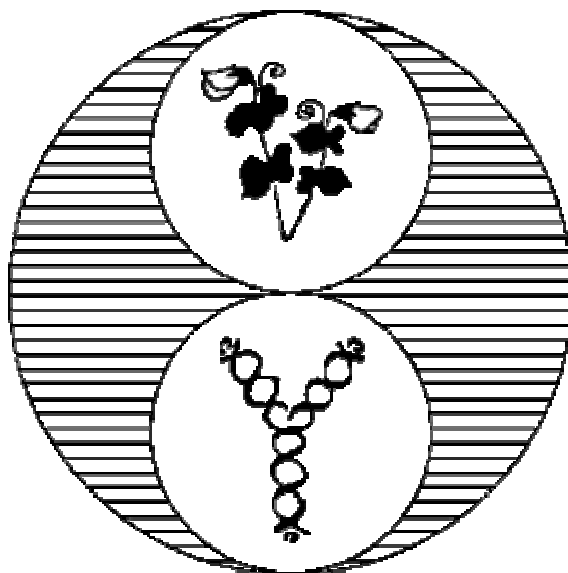
Středisko vědeckotechnických informací:

Mgr. Jana Zásmětová

Tel.: 315 639 554, e-mail: knihovna@iapg.cas.cz

P. Ráb

Adresa Internetových stránek GSGM: <http://orion.sci.muni.cz/gsgm/>



GSGM

Genetická společnost Gregora Mendela

[Sídlo společnosti](#)

[Stanovy společnosti](#)

[Výbor společnosti](#)

[Seznam členů z České republiky a Slovenské republiky](#)

[Přihláška a evidenční list ve formátu PDF](#)

[Informační listy Genetické společnosti Gregora Mendela](#)

[Konference pořádané GSGM](#)

[Zápisy ze schůzí výboru GSGM](#)

[Genetické společnosti ve světě](#)

Členové výboru GSGM

**Prof. RNDr. Stanislav Zadražil, DrSc.,
předseda**
Katedra genetiky a mikrobiologie, PřF UK
Viničná 5
128 44 Praha 2

**Prof. RNDr. Stanislav Rosypal, DrSc.,
čestný předseda**
Katedra genetiky a molekulární biologie
PřF MU
Kotlářská 2
611 37 Brno
rosypal@sci.muni.cz

**Prof. RNDr. Daniel Vlček, DrSc.,
místopředseda**
Katedra genetiky PrF UKo
Mlynská dolina B I
842 15 Bratislava
vlcek@fns.uniba.sk

**Doc. RNDr. Petr Pikálek, CSc.,
místopředseda**
Katedra genetiky a mikrobiologie PřF UK
Viničná 5
128 44 Praha 2
pikalek@natur.cuni.cz

**Prof. RNDr. Jiřina Relichová, CSc.,
tajemnice**
Katedra genetiky a molekulární biologie
PřF MU
Kotlářská 2
611 37 Brno
reli@sci.muni.cz

**Prof. Ing. Josef Dvořák, CSc.,
hospodář**
Ústav genetiky MZLU v Brně
Zemědělská I
613 00 Brno
dvorakJ@mendelu.cz

**Prof. RNDr. Jiří Doškař, CSc.,
redaktor IL**
Katedra genetiky a molekulární biologie
PřF MU
Kotlářská 2
611 37 Brno
doskar@sci.muni.cz

Doc. RNDr. Jiří Fajkus, CSc.,
Biofyzikální ústav AVČR
Královopolská 135
612 65 Brno
fajkus@ibp.cz

RNDr. Andrej Kormuťák, DrSc.
Ústav genetiky a biotechnologií rastlín SAV
Akademicka 2
950 07 Nitra
kormutak@savba.savba.sk

**Prof. RNDr. Eva Miadoková, DrSc.
hospodářka**
katedra genetiky PrF UK
Mlynská dolina B I
842 15 Bratislava
Miadokova@fns.uniba.sk

Doc. RNDr. Miloš Ondřej, DrSc.,
Ústav molekulární biologie rostlin AVČR
Branišovská 31
370 05 České Budějovice
ondrej@umbr.cas.cz

**Mgr. Miroslava Slaninová, Ph.D.,
hospodářka**
katedra genetiky PrF UK
Mlynská dolina B I
842 15 Bratislava
slaninova@fns.uniba.sk

Ing. Petr Ráb, DrSc.
Ústav živočišné fyziologie a genetiky AVČR
277 21 Liběchov
rab@iapg.cas.cz

Doc. RNDr. Jan Šmarda, CSc.
Katedra genetiky a molekulární biologie
PřF MU
Kotlářská 2
611 37 Brno
smarda@sci.muni.cz

RNDr. Marie Vojtíšková, CSc.
Biofyzikální ústav AV ČR
Královopolská 135
612 65 Brno
mavo@ibp.cz

VOLBY NOVÉHO VÝBORU GSGM

Vážení členové Genetické společnosti Gregora Mendela,

výbor GSGM projednal na své schůzi dne 20. 1. 2004 organizaci a přípravu nadcházejících voleb nového výboru a rozhodl provést je korespondenčním způsobem. Žádá proto všechny členy, aby odpovědně navrhli kandidáty do nového výboru na přiloženém formuláři.

Kandidáty navrhuje, prosím, uvážlivě a vždy s vědomím (výslovným souhlasem navrhovaného), že navrhovaný člen po zvolení funkci skutečně přijme a bude ji obětavě a nezištně vykonávat. Za členy výboru mohou být voleni pouze platící členové GSGM.

Formulář vyplňte čitelně a úplně a vraťte nejpozději do 31. 10. t.r. na adresu: Prof. RNDr. Jiří Doškař, CSc., Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Katedra genetiky a molekulární biologie, Kotlářská 2, 611 37 Brno. Na obálku napište VOLBY.

Za výbor GSGM:
Prof. RNDr. Stanislav Zadražil, DrSc., předseda

Návrh kandidáta k volbě do výboru Genetické společnosti Gregora Mendela
na období 2004-2007:

Příjmení, jméno, tituly:

Datum narození:

Pracoviště a adresa:

Telefon, fax, e-mail:

Stručná informace o navrhovaném kandidátovi

(VŠ, kterou absolvoval, dnešní zaměstnání, odborné zaměření, event. další charakteristiky):

Kandidáta navrhuje: *Jméno, adresa, telefon a e-mail*

POZVÁNKA

Na genetickou konferenci

Virus a buňka (genetika a virologie)

1. a 2. února 2005 v Praze

pořádanou Genetickou společností Gregora Mendela

ve spolupráci s

**Katedrou genetiky a mikrobiologie
Přírodovědecké fakulty UK v Praze**

Místo konání: Přírodovědecká fakulta – biologická sekce, UK v Praze (Viničná 7, Praha 2)

Organizace: Doc. RNDr. Jitka **Forstová**, CSc. (jitkaf@natur.cuni.cz)
Doc. RNDr. Petr **Pikálek**, CSc. (pikalek@email.cz)

Program: vyžádané přednášky s virologickou problematikou (viru a buňka) a plakátová sdělení ze všech oblastí genetiky a virologie (vystavené během jednání konference přilehlých prostorách).
Součástí programu bude i plenární přednáška vítěze soutěže o cenu GSGM z roku 2004 a valné shromáždění členů GSGM.

Konferenční poplatek (bude vybírán v hotovosti při registraci 1.2.2005):
700,- Kč (členové GSGM), 900,- Kč (ostatní), 350,- Kč (všichni studenti).

Abstrakta všech přednášek a plakátových sdělení budou publikována v českém jazyce ve zvláštním čísle Informačních listů GSGM. Vyžádané přednášky *in extenso* budou publikovány tamtéž nebo v Biologických listech (ÚMG AV ČR).

Přihlášky zasílejte elektronicky na adresu: pikalek@email.cz nebo poštou na adresu: Doc. RNDr. Petr Pikálek, CSc., Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra genetiky a mikrobiologie, Viničná 5, 128 44 Praha 2.

V přihlášce uveďte:

jméno a příjmení (včetně titulů), adresa pro korespondenci, e-mail, zájem o plakátové sdělení (ano – ne), zájem o ubytování 31.1., 1.2., 2.2 (pravděpodobně v koleji), zájem o oběd (v univerzitní mense) 1.2., 2.2.

Konečný termín pro zasílání přihlášek je 31.10.2004.

Veškeré informace a upřesněný program budou zveřejněny na internetových stránkách www.natur.cuni.cz/molbio a <http://orion.sci.muni.cz/gsgm>.

Pokyny pro zaslání abstraktů plakátových sdělení

Příspěvek pošlete **nejpozději do 30.11.2004** elektronickou poštou jako přílohu (dokument Microsoft Word, formát DOC nebo RTF) na adresu pikalek@email.cz nebo poštou na adresu: Doc. RNDr. Petr Pikálek, CSc., Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, Katedra genetiky a mikrobiologie, Viničná 5, 128 44 Praha 2.

V příspěvku uveďte tyto údaje:

Jméno(a) autora(ů)
Název a adresa pracoviště
Název příspěvku
Souhrn

Všechny údaje pište písmem Times New Roman, normální typ písma (ne tučně, ne podtržené), velikost písma 12, řádkování 1,5. Rozsah příspěvku max. 35 řádků na stránku.

VZOR:

J. Novák, K. Novotný, P. Nový
(Výzkumný ústav genetický, Ulička 67, 123 45 Město)
Studium genů u kukuřice.
V práci byly studovány.....