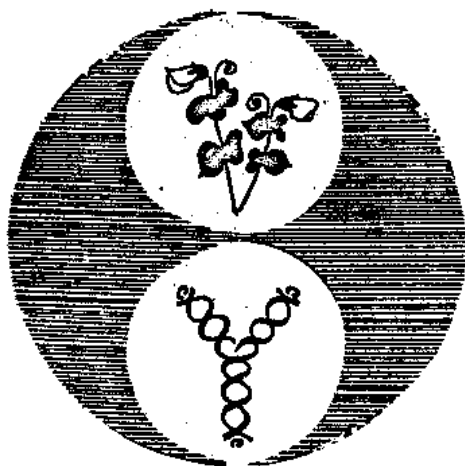


Sekce pro obecnou genetiku
Čs. biologické společnosti při ČSAV

INFORMAČNÍ LISTY



Číslo 7

Říjen 1989

O B S A H

	str.
Zápis z valného shromáždění Sekce obecné genetiky Čs. biologické společnosti konaného v Brně dne 30. srpna 1988 (V. Orel)	1
Unesení valného shromáždění Sekce obecné genetiky	3
Plán akcí Sekce na rok 1989 (výbor Sekce)	4
Plán akcí Sekce na rok 1990 (výbor Sekce)	6
Zhodnocení akcí realizovaných v roce 1989 (J. Kailarová, P. Hořín)	7
Varia (výbor Sekce)	14
Doplňky a opravy v seznamu členů (L. Havel, J. Doškař)	17
Využití technologie rekombinantnej DNA v diagnostice genetických ochorení (V. Farák)	19

ZÁPIS Z VALNÉHO SHROMÁŽDĚNÍ SEKCE PRO OBECNOU
GENETIKU ČS. BIOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI PŘI ČSAV,
KONANÉHO V BRNĚ 30. SRPNA 1988

Jednání zahájil v 16 hod. předseda Sekce doc. Nečasak konstatováním, že není přítomna nadpoloviční většina členů a proto podle stanov požádal před dalším jednáním dr. Sošku o referát o jednání mezinárodního genetického kongresu v Kanadě, kterého se účastnil. Členové se tak mohli seznámit s hlavními tematickými zaměřením tohoto mezinárodního orgánu na úseku genetiky.

V další části schůze Nečasak uvítal zástupce výboru Čs. biologické společnosti profesora O. Nečase, který z pověření předsedy společnosti prof. I. Hrazdíry pozdravil jednání konference i valného shromáždění a zároveň předal předsedovi Sekce medaili J.E. Purkyně za zásluhy o činnost Sekce. Tajemníkoví výboru dr. Orlovi předal diplom čestného členství Čs. biologické společnosti.

Na návrh předsedy Sekce byli zvoleni do komisí volební a návrhové následující členové.

Volební komise: Cetl, Siebel, Fojtík; návrhová komise: Benedik, Turňa, Fojtík.

Zprávu o činnosti Sekce za uplynulé období přednesl Orel. V diskusi pak vystoupili s připomínkami hodnotícími činnost a v této souvislosti poukazujícími na působnost v dalším období Hončariv, Nečas, Fučík, Nečasak. Shodně doporučovali pokračovat v nastoupeném směru činnosti ve spolupráci s hlavními výborem Čs. biologické společnosti. Nově se navrhovalo hledat uspořádání akcí ve spolupráci s dalšími sekcemi, případně vě-

veřejnými společnostmi.

Volební část schůze řídil doc. Cetl. Přítomní schválili návrh uspořádat volby klasací a jednoduše pak byl zvolen nový výbor v následujícím složení: Bulla, Havel, Hončariv, Lenhart, Lojda, Nečasak, Orel, Fikálek, Ráb, Rosypal, Šrám, Vlček, Zadražil.

Na závěr odstupující předseda Nečasak poděkoval přítomným za účast na konferenci a valném shromáždění a vyslovil přesvědčení, že nově zvolený výbor v příštím období svou působností ještě rozšíří v souvislosti s rostoucím významem genetiky.

Po skončení valného shromáždění se konala schůze nově zvoleného výboru, na kterém byl zvolen předsedou výboru prof. dr. S. Rosypal, DrSc. a tajemníkem doc. dr. L. Havel, CSc.

zapsal: V. Orel

USNEŠENÍ VALNÉHO SHROMÁŽDĚNÍ SEKCE PRO OBECNOU
GENETIKU, KONANÉHO 30. SRPNA 1988 V BRNĚ

Valné shromáždění zhodnotilo činnost Sekce za období 1985 až 1988, ve kterém se výrazně projevil vzrůstající význam genetiky v přírodních vědách a ve využívání nových poznatků v praxi. Výbor tomuto trendu věnoval náležitou pozornost a nachází podporu členů. Valné shromáždění proto schvaluje jeho působnost v uplynulém období.

Nově zvolenému výboru se ukládá:

- Pokračovat v pořádání monotematických seminářů a konferencí a širším zaměřením na aktuální problémy související s vývojem genetiky a využíváním nových poznatků v praxi. Doporučuje se pověřovat vybrané pracovníky v různých oblastech genetiky obsahovou přípravou seminářů, případně konferencí.
- Dále vydávat Informační listy a informovat v nich členy o genetických akcích pořádaných také dalšími sekce Čs. biologické společnosti, případně jinými vědeckými společnostmi.
- Usilovat o členství čl. genetiků v Mezinárodní genetické společnosti, případně v jiných mezinárodních vědeckých organizacích, které se zabývají genetickou problematikou.
- Rozšířit činnost Sekce o hodnocení spolupůsobení výuky, výzkumu a zavádění nových poznatků do praxe.
- Navázat spolupráci s dalšími sekce Čs. biologické společnosti s cílem uspořádat společné akce na obecně závažná témata.

Valné shromáždění vyzývá všechny členy Sekce, aby podporovali činnost nově zvoleného výboru podáváním podnětných návrhů pro rozšíření působnosti Sekce a pro zvýšení účinnosti jejího působení ve společnosti.

PLÁN AKCÍ (JEDNOODENNÍCH CELOSTÁTNÍCH SEMINÁŘŮ A KONFERENCÍ)
SEKCE OBECNÉ GENETIKY ČS. BIOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI NA ROK 1989

1. Název : K současnému stavu genetiky a šlechtění pšenice
a tritikale v Československu (seminář)

Termín : březen 1989

Místo konání: VŠZ Brno

Odpovědný organizátor: RNDr. Miroslav Pídra, CSc.

Katedra mikrobiologie a genetiky,

Přírodovědecká fakulta UJEP,

Kotlářská 2, 611 37 Brno

2. Název : Mimojadrové genetické systémy (konference)

Termín : 11. 5. 1989

Místo konání: Přírodovědecká fakulta UK Bratislava

Odpovědný organizátor: Doc. RNDr. D. Vlček, CSc.

Katedra genetiky a molekulární biol.

Mlynská dolina

842 15 Bratislava

3. Název : Nové aspekty v genetice a šlechtění pčnicin
(seminář)

Termín : červen 1989

Místo konání: Výzkumný a šlechtitelský ústav pčnicinářský

Troubsko u Brna

Odpovědný organizátor: Ing. Antonín Fojtík, CSc.

Výzkumný a šlechtitelský ústav

pčnicinářský

SS Hladráky Životice

4. Název : Současný stav a perspektivy launogenetiky
(seminář)

Termín : září 1969

Místo konání: Vysoká škola veterinární Brno

Odpovědný organizátor: Doc.MVDr. a RNDr. P. Hořín, CSc.

katedra prevence chorob prasat,
chovu zvířat a zoohygieny
pracoviště zootechniky a genetiky
Vysoká škola veterinární
Palackého 1-3
612 42 Brno

PLÁN AKCÍ (CELOSTÁTNÍCH SEMINÁŘŮ) SEKCE OBECNÉ
GENETIKY ČS. BIOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI NA ROK 1990

1. Název : Využití metod analýzy DNA v lékařské genetice

Termín : duben 1990

Místo konání: Přírodovědecká fakulta UK Bratislava

Odpovědný organizátor: Doc. RNDr. D. Vlček, CSc.

Katedra mol. biologie a genetiky PF UK,

Mlynská dolina Bl, 842 15 Bratislava

2. Název : Biochemická a fyziologická genetika ve šlechtění
hospodářských zvířat

Termín : květen 1990

Místo konání: Výzkumný ústav živočišné výroby v Nitře

Odpovědný organizátor: Doc. Ing. J. Bulla, DrSc.

Výzkumný ústav živočišné výroby

Hlohovská 2, 949 92 Nitra

3. Název : Plnění programu rozvoje genetiky od roku 1965

Termín : červenec 1990

Místo konání: Moravské muzeum v Brně

Odpovědný organizátor: Doc. dr. V. Orel, DrSc.

Mendelianum

Mendlovo nám. 1, 602 00 Brno

Mimo tyto semináře je plánován "Kurs základů molekulární
genetiky" (garant prof. dr. S. Rošypal, DrSc.), jehož termín
bude určen později.

ZHODNOCENÍ AKČÍ REALIZOVANÝCH V ROCE 1989

K současnému stavu genetiky a šlechtění pšenice a tritikále v Československu (jednodenní seminář)

V úterý 7. 3. 1989 uspořádala Sekce obecné genetiky Čs. biologické společnosti při ČSAV pracovní seminář "K současnému stavu genetiky a šlechtění pšenice a tritikále v Československu". Seminář se konal na VŠZ v Brně a zúčastnilo se ho 41 pracovníků z výzkumných ústavů a šlechtitelských stanic v rámci ČSSR.

Na dopoledním jednání (řídil J. Valkoun) byl jako první přednesen referát o genových zdrojích vyšší úložné kapacity klasu pšenice (J. Svoček). Jedná se o znak, který je značně ovlivňovaný chorobami a dále vysokými teplotami v antezi. Geneticko-šlechtitelský výzkum je v současné době zaměřen na vytvoření pracovního standardu, provedení genetických analýz a vytvoření zdrojů pro vyšší úložnou kapacitu klasu pšenice formy gigas s ideotypem vhodným pro šlechtitelské využití v ČSSR. Další referát (P. Bartoš) byl věnován trendu ve šlechtění na rezistenci pšenice, kterým je šlechtění na střední a vyšší úroveň rezistence k chorobám, dále novým zdrojům rezistence ke rzi pšeničné. Dopolední jednání uzavřel referát zabývající se využitím genů velkého účinku ve šlechtění pšenice (V. Šíp, J. Košner). Jelikož všichni přednášející překročili časový limit, diskuse k nim se uskutečnila jen díky napřítomnosti autorů čtvrtého plánovaného referátu. Diskuse byla bohatá (19 příspěvků) a týkala se hlavních problémů jednotlivých referátů.

V odpolední části (řídil M. Pídra) byl přednesen referát

e metodologii šlechtění (B. Kábrt), který byl obsáhlý a blížil se filozofické úvaze, ze které vyplynula silná návaznost až neoddělitelnost genetického výzkumu od šlechtění. Další referát (M. Hanuš) se týkal principů úspěšného šlechtitelského programu pšenice v ČSFR. Bylo konstatováno, že nejvyšší výnosový nářstek vykazují odrůdy 80. let. Hodnocení šlechtitelského materiálu bylo posunuto do raných fází šlechtění, testy jsou komplexní a jsou využívány výzkumy z oblastí genetiky, fyziologie a biochemie. Hlavní metodou jsou klasické šlechtitelské postupy, které se jeví jako nejefektivnější ve šlechtění pšenice i v budoucnosti. Závěrečný referát (V.I. Mogileva) se týkal šlechtění produktivních a zimovzdorných forem tritikále. V současné době se o tuto plodinu zajímá zemědělská praxe. Pro zvýšení produktivity tritikále jsou stále rezervy a pro zvýšení mrazuvzdornosti se jeví nadějně křížení s pýrem a pšenicí. Při odpoledním jednání probíhala diskuse po každém referátu, diskuse se účastnilo 16 přítomných.

Přednesené referáty byly pečlivě připraveny a týkaly se aktuálních otázek šlechtění pšenice a tritikále, což potvrdila i diskuse k jednotlivým problémům. V závěrečné diskusi zazněly však i obecnější problémy jako je otázky struktury celé naší rostlinné výroby, značná zhutnělost půd, nízký obsah humusu, kyselost půd ap. Jsou to závažné problémy, které zcela evidentně ovlivňují i práci šlechtitelů, na této úrovni lze o nich však jen diskutovat.

Seminář uzavřel RMDr. M. Pídra, CSc., který konstatoval, že seminář splnil záměr, se kterým byl organizován a bude prospěšné tuto akci po určité době zopakovat.

Mimojadrové genetické systémy

(jednodenší konference)

Přirodovědecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislavě, Sekce obecné genetiky Čs. biologické společnosti při ČSAV a VTS při PrF UK v Bratislavě uspořádaly 11. 5. 1969 v Bratislavě genetickou konferenci na téma Mimojadrové genetické systémy. Konference byla věnována prof. Ing. Jánu Dubovskému, CSc., u příležitosti jeho šedesátých narozenin.

Genetickou konferenci zahájil doc. Vlček, který rovněž vyvedl přínos práce prof. Dubovského v genetice rostlin i v zemědělské praxi. Proděkan PrF UK prof. Mládek ocenil pedagogickou, vědeckou a politickoorganizační práci prof. Dubovského za 25 let jeho působení na fakultě. Předal mu zlatou medaili, kterou prof. Dubovskému udělil děkan PrF UK. Práci prof. Dubovského dále ocenil jmenem výboru Sekce pro obecnou genetiku její předseda prof. Ročypal. Doc. Bráň předal prof. Dubovskému zlatou medaili, kterou mu udělil rektor VŠP v Nitře. K blahopřání prof. Dubovskému se připojili i slovenští genetici pracující ve zdravotnictví.

Po tomto úvodu věnovaném prof. Dubovskému a jeho práci začalo vlastní jednání konference referátem o mitochondriálním genomu květin (J. Šubík). Následoval referát týkající se savčího mitochondriálního genomu (R. Brdička, A. Hořínek) a referát o mitochondriální DNA vyšších rostlin (M. Ondřej). Jako poslední byl zařazen referát o genetické informaci chloroplastů vyšších rostlin (N. Avratovščuková) místo referátu I. Hapaly, který se nedostavil. Dopolední jednání zakončila bohatá diskuse, ve které vystoupilo 11 přítomných.

Odpolední jednání zahájil referát J. Krajčoviče zabývající se chloroplastovým genomem, jeho původem a evolucí a jako poslední byl přednesen referát o možnosti genetických manipulací na buněčných organelách (P. Griáč). Po tomto referátu následovala živá diskuse k přednesené problematice (10 příspěvků). Závěr genetické konference provedl doc. Vlček.

Genetická konference byla dobře připravena, referáty měly vysokou odbornou úroveň. Konference se zúčastnilo 175 výzkumných a vědeckých pracovníků z celé republiky a 30 studentů.

J. Kailarová

Nové aspekty v genetice a šlechtění pícein (jedenodenní seminář)

Nové aspekty v genetice a šlechtění pícein bylo téma pracovního semináře, který 16. 5. 1989 uspořádala v prostorách VŠZ Sekce obecné genetiky Ča. biologické společnosti při ČSAV.

Po úvodním slovu předsedy sekce se ujal řízení dopoledního jednání A. Fojtík. Na programu byl referát I. Cetla o způsobu reprodukce a jeho významu v genetice populací. Seznámil přítomné s teoretickou stránkou tohoto procesu, s různými modely reprodukce s různou závislostí na pohlaví, genotypu, typu opylení. Pro šlechtitele má genetika populací význam z hlediska možnosti uměle vytvářet skladbu genotypů tak, aby došlo k rovnovážnému stavu. Dále hovořil J. Rod o pokroku v genetice a šlechtění pícein. Zabýval se účinností fenotypového a rekurentního výběru a výběru na obecnou a specifickou kombinační schopnost. U pícein zůstává základní metodou výběr a zkoušení

potomstva. Jako perspektivní se jeví tvorba syntetických odrůd, která je propracována u vojtěšky. Jde o hlubokou analýzu šlechtěného materiálu a výběr dle více znaků s ohledem na jejich dědivost a genetické vazby. Celý program je zpracován pro využití na SAPu a předán šlechtitelským stanicím. Bude rovněž publikován návrh metodiky udržovacího šlechtění syntetických odrůd. Na tuto problematiku navázal referát O. Chloupek o genetických základech tvorby syntetických populací u vojtěšky. Demonstroval šlechtitelský postup při vytváření syntetické odrůdy na konkrétních materiálech vojtěšky, které jsou v různé stupni šlechtění na ŠS Želešice. Po tomto referátu byla diskuse týkající se rostlinného materiálu a metod hodnocení při tvorbě syntetických populací (5 příspěvků). Následoval referát o genetice a šlechtění pionin na kvalitu (F. Míka). Zabýval se především stravitelností píce a metodami jejího stanovení, dále obsahem vlákniny, N-látek, rozpustných sacharidů, biogenních prvků, škodlivých látek (nitráty, alkaloidy, saponiny, třísloviny). Ve šlechtění na kvalitu pionin, především trav však máme minimální úspěchy. Dopolední jednání zakončila krátká diskuse ke kvalitě píce (4 příspěvky).

Odpolední jednání řídil J. Rod a první referát se týkal genetiky rezistence pionin k chorobám a škůdcům (B. Čagaš). Autor se zabýval rezistencí trav a konstatoval, že šlechtění na rezistenci je reálné. Po referátu následovala krátká diskuse (3 příspěvky). O využití biotechnologií ve šlechtění jetelovin hovořila B. Nedbálková. Meristémové a kalusové kultury i somatická embryogeneze se u vojtěšky a jetele používá k množení materiálu i k rozšíření jeho variability. Meristémové kultury se používají k ozdravování rostlin od viróz. By-

ly odzkoušeny metody testování rostlin na medlicích s toxiny některých patogenů a získány rostliny odolnější vůči *Fusarium oxysporum* sp. Pracuje se na získání mezidruhových hybridů především jetele metodami embryokultur. Následující referát (J. Janeček) se týkal téže problematiky u trav, kde se explantátové kultury používají ke konzervaci materiálu, indukci genetické variability, indukci haploidie i v oblasti genového inženýrství - rozšíření genomu sp. Odpolední jednání zakončil referát A. Fojtíka, který se týkal využití mutací a mezidruhové hybridizace u trav a jetele. Hovořil především o vytvoření dvou nových odrůd na základě hybridizace mezi jilkou a kostřavou, dále o dvou výkonnějších odrůdách lipnice luční získaných indukci genových mutací - záření a následným křížením. K odpoledním referátům proběhla velmi krátká diskuse (2 příspěvky).

Na závěr hodnotil Ing. A. Fojtík, CSc. seminář jako přínos pro další práci šlechtitelů především možností aplikace nových metod, které je třeba brát jako doplněk a příspěvek k metodám tradičního šlechtění. Podtrhl užitečnost takových setkání jak pro šlechtitele, tak pro výzkumné pracovníky.

Semináře se zúčastnilo 55 pracovníků výzkumných ústavů i šlechtitelských stanic z celé ČSSR. Je třeba vyzvednout dobrý výběr témat i vysokou úroveň všech referátů. Poněvadž u jednodenních seminářů je časový prostor pro diskusi mimo oficiální jednání poměrně malý, je účelné dodržovat časové limity jednotlivých referátů, aby vznikl dostatečný prostor pro diskusi, které je mnohdy stejným, ne-li větším přínosem než sám referát.

J. Kailerová

Současný stav a perspektivy imunogenetiky

(jedenodenní seminář)

Jedenodenní seminář se konal dne 27. 9. 1989 na Vysoké škole veterinární v Brně. Zúčastnilo se ho 35 pracovníků nej-různějšího odborného zaměření. Předneseny byly tři referáty: Genetika tvorby imunoglobulinů (Dr. Širová, MBÚ ČSAV Praha) Imunogenetika hospodářských zvířat (Ing. Hruban, ÚFGHZ ČSAV Liběchov)

Imunogenetika v reprodukci (Dr. Matoušek, ÚFGHZ ČSAV Liběchov). Přednášející nebyli omezeni časem a přednášky byly instruktivní. Splnily svůj cíl informovat posluchače o různých aspektech imunogenetiky a zároveň je seznámily s odborným zaměřením referujících a některými výsledky jejich práce.

Diskuse byla věcná a poměrně bohatá. Celkově seminář ukázal i ve třech referátech šířku problematiky tohoto někdy úzce chápaného oboru. Škoda, že pro organizační nedopatření nemohly být prezentovány přednášky se zaměřením též na lidskou imunogenetiku.

P. Hořín

VARIA

Kooptace nových členů do výboru Sekce a zvolení místopředsedů

Vzhledem k tomu, že někteří členové zvolení na plenární zasedání se ochůzí výboru nezúčastňují, byl výbor nucen pro zachování své akceschopnosti kooptovat dva další členy. Jsou to RNDr. J. Doškař, CSc., kterému byla svěřena funkce výkonného redaktora Informačních listů a doc. RNDr. et MDr. P. Hofin, CSc., který se bude podílet na organizování akcí z oblasti genetiky hospodářských zvířat (především jejich imuno-genetiky). Dva členové byli zvoleni do funkce místopředsedů (Doc. J. Nečásek a doc. D. Vlček, který bude garantovat akce pořádané v .SSR).

Ohrada nákladů na vydávání Informačních listů

Na základě výsledku dotazníkové akce uspořádané mezi členy Sekce bude od 1. 1. 1990 zvýšen členský příspěvek o částku 5 Kčs (tj. z dosavadních 20 Kčs na 25 Kčs), z níž budou hrazeny náklady na vydávání dvou čísel Informačních listů ročně.

Upozornění

Žádáme všechny členy, kteří dosud nedodeslali korespondenční lístek s upřesněním svých adres a vědeckých hodnotí, aby tak učinili nejpозději do konce roku 1989 (v seznamu členů Sekce zveřejněném v č. 6 Informačních listů jsou jejich jména označena znaménkem x). V případě, že od těchto

členů odpověď neobdržíme, nebudou od 1. ledna 1990 vedeni v seznamu členů Sekce obecné genetiky a také jim nebudou nadále zasílány materiály týkající se činnosti Sekce.

Zároveň všechny členy vyzýváme, aby na adresu předsedy Sekce průběžně zasílali informace o změnách adres pracovišť, popř. bydliště. Informační listy budou tyto změny pravidelně zveřejňovat.

Podávejte náměty na jednodenní semináře!

Ve smyslu usnesení valného shromáždění Sekce konaného dne 30. 8. 1988 vyzýváme všechny členy, aby průběžně zasílali na adresu předsedy Sekce podnětné návrhy a náměty na uspořádání monotematických seminářů, na nichž by se mohla v období mezi celostátními genetickými konferencemi uskutečnit setkání odborníků z jednotlivých oblastí genetického výzkumu. Cílem těchto seminářů je seznámit širší okruh zájemců s nejnovějšími poznatky v dané problematice a napomáhat jejich zavádění do praxe. Po organizační stránce bude tyto semináře zabezpečovat výbor Sekce.

Registrace přihlášky Sekce obecné genetiky do Mezinárodní genetické federace

Zahraněční odbor Úřadu prezidia ČSAV potvrdil dopisem ze dne 21. 8. 1989 registraci přihlášky Sekce obecné genetiky (a Cytogenetické sekce) Čs. společnosti biologické při ČSAV do Mezinárodní genetické federace (The International Genetics Federation) a současně schválil roční členský příspěvek za Sekci ve výši 100 US \$ (0,25 US \$ za jednotlivé-

ke členu ročně).

Získávejte další členy pro Sekci obecné genetiky Čs. biologické společnosti při ČSAV !

Pokud by některý z Vašich kolegů (kolegyň) měl zájem stát se členem Sekce obecné genetiky Čs. biologické společnosti při ČSAV, nechte požádat o přihlášku na adresu:
Prof. RNDr. S. Ročypal, DrSc., katedra obecné a molekulární biologie, přírodovědecká fakulta UJEP, Kotlářská 2, 611 37 Brno. Přihláška na bude obratem znalána, uchazeč o členství ji vyplní a doporučením dvou řečitelů a zašle opět na výše uvedenou adresu.

ZMĚNY A DOPLŇKY V SEZNAMU ČLENŮ SEKCE OBECNÉ GENETIKY
K 30. 9. 1989

Noví členové

- ANDONOV Ivan, Doc., Ing., CSc., kat. botaniky a šlechtění,
VŠZ, Zemědělská 1, 613 00 Brno
- BOHMOVÁ Blanka, Doc., RNDr., CSc., kat. genetiky a molekulár-
ní biologie, PF UK, Mlynská dolina B 1, 842 15 Bratislava
- EHRENBERGEROVÁ Jaroslava, Ing., kat. botaniky a šlechtění,
VŠZ, Zemědělská 1, 613 00 Brno
- JANDUROVÁ Olga, RNDr., CSc., VŠZ, Kamýcká 7, 165 21 Praha 6 -
- Suchbát, bydl.: Písecká 10, Praha 3
- KŇAZSKÁ Viera, RNDr., kat. genetiky a molekulární biologie,
PF UK, Mlynská dolina B 1, 842 15 Bratislava
- LAUROVÁ Dana, RNDr., kat. špeciálnej biologie, PF UPJŠ,
Mánesova 23, 041 54 Košice; bydl.: Karpatská 4, 041 01
Košice
- LEBEDA Aleš, Ing., CSc., ŠS Smržice, 798 17 Smržice; bydl.:
Prostějovská 210, 798 17 Smržice
- LENGYEL Gabriel, RNDr., Slovensko VŠOZ, 059 52 Velká Lomnica;
bydl.: Hrušková 615, 031 01 Liptovský Mikuláš
- MÁCHAL Ladislav, Ing., CSc., kat. morfologie a fyziologie
hoopodářských zvířat, AF VŠZ, Zemědělská 1-3, 613 00 Brno
- MIADOKOVÁ Eva, Doc., RNDr., CSc., kat. genetiky a molekulární
biologie, PF UK, Mlynská dolina B 1, 842 15 Bratislava
- ORAVCOVÁ Emilie, RNDr., VÚŽV, Hlohovská 2, 949 92 Nitra
- PODSTAVKOVÁ Svetlana, RNDr., CSc., kat. genetiky a molekulární
biologie, PF UK, Mlynská dolina B 1, 842 15 Bratislava
- POLÍVKA Ludovít, Ing., CSc., Slovenské škrobárny n.p., 917 00
Trnava
- SÝKORA Milan, RNDr., CSc., kat. genetiky a molekulární biolo-
gie, PF UK, Mlynská dolina B 1, 842 15 Bratislava

TRUKSA Martin, Ing., kat. botaniky a šlechtění, VŠZ, Zemědělská
1, 613 00 Brno

TYLLER Milan, RNDr., ŠS dráběznictví, 503 25 Dobřenice

Změny a doplňky adres

DANKO Vojtech, Ing., CSc., SEMEX s.p., Vyhoňská 13, 835 08
Bratislava

GAJDOVÁ Mária, Ing., VŮRV, Bratislavská 122, 921 68 Piešťany

HAVELKOVÁ Marie, Doc., MUDr., CSc., kat. biologie LF UJEP,
Obránců míru 10, 662 43 Brno

LIEHMAN Pavel, Ing., CSc., Fyziologický ústav ČSAV, Vídaňská
1083, 142 20 Praha 4

REPKA Vladislav, RNDr., Ústav exp. fytopatologie a entomologie,
virol. odd., CBEV SAV, 900 28 Ivánka pri Dunaji

ŠTAVÍKOVÁ Marie, Ing., CSc., bydl.: Hvězdárenská 1, 616 00
Brno

WIESNER Ivo, Ing., bydl.: Julie Prokopové 1262/16, 370 05
České Budějovice

Ukončení členství

FOLK Antonín, Ing., ŠS Slapy, 391 76 Slapy u Tábora

Sekce obecné genetiky sdružuje k 30. 9. 1989 celkem 323 členů.

VYUŽITIE TECHNOLOGIE REKOMBINANTNEJ DNA V DIAGNOSTIKE GENETICKÝCH OCHORENÍ

(V. Ferák)

Úvod

Tradičné metódy diagnostiky geneticky podmienených ochorení sa zakladajú na detekcii morfológických, funkčných alebo biochemických dôsledkov patologického genotypu. Výniaku tvoria chromozómové aberácie, kde je možná diagnostika priamym vyšetrením genetického materiálu. V priebehu osemdesiatych rokov - vo väčšom meradle však iba v posledných 3-4 rokoch - sa začína uplatňovať analýza genetického materiálu aj pri diagnostike monogénnych ochorení, t.j. patologických stavov, podmienených mutáciou v rámci jediného génu. Ide o metódy analýzy DNA, zväčša využívajúce prvky technológie rekombinantnej DNA. V súčasnosti sa uplatňujú predovšetkým pri prenatálnej diagnostike v ohrozených rodinách, pri diagnostike v predklinickom štádiu choroby a pri detekcii heterozygotov (prenášačov patologických alel), no perspektívne sa s nimi počíta aj pri populačnom (napr. novorodeneckom) skriningu.

Metódy DNA-diagnostiky

Najčastejšie používaný postup DNA-diagnostiky monogénnych ochorení sa zakladá na Southernovej hybridizácii DNA. Štiepenie špecifickou restriktívou endonukleázou, so špecifickým úsekom DNA, sondou. Sonda je značkováaná zabudovaním rádionuklidu alebo iným spôsobom, čím umožňuje identifikovať prítomnosť fragmentu s komplementárnou sekvenciou (ku ktorej hybridizuje)

a súčasne stanoví aj jeho veľkosť. Základný postup je nasledujúci:

Izolovaná vysokomolekulárna DNA sa štiepi vhodnou restriktázou a získané fragmenty (których je desaťtisíce až milióny podľa typu použitej restriktázy) sa separujú podľa svojej dĺžky elektroforézou v agarózovom géli. Po skončení elektroforézy sa DNA v géli denaturuje a jednovláknovca stave sa "prepíjakuje" na hybridizačné nitrocelulóзовú alebo nylonovú membránu (Southernov blotting). Na membráne sa fragmenty zafixujú a hybridizujú sa s jednovláknovou značkovanou sondou. Napokon sa autorádiografiou detekuje poloha fragmentov, s ktorými sonda na základe komplementarity báz hybridizovala; poloha fragmentu (čiže autorádiografického signálu na filme) je ukazovateľom jeho dĺžky.

Prvkom, zaručujúcim špecifickosť detekovaného fragmentu je sonda. Pri ochoreniach, kde poznáme sekvenciu zodpovedného génu, možno sondu pripraviť vo forme krátkeho syntetického oligonukleotidu. Dostatočnú špecifickosť zaručuje už dĺžka okolo 20 nukleotidov. Pri ochoreniach, kde sekvencia génu nie je známa, pripravujú sa sondy klonovania úsekov DNA zo zodpovedného génu alebo z jeho bezprostrednej blízkosti. Tieto úseky sa vkladajú do vhodného vektora (najčastejšie ide o plazmid pBR322 E. coli), takže ich možno namnožiť do ľubovoľného počtu kópií. Pred hybridizáciou sa sonda z plazmidu vyštiepi, značuje a denaturuje sa do jednovláknovej podoby.

Metodický postup, založený na Southernovej hybridizácii sa pri DNA-diagnosticske genetických ochorení používa takmer univerzálne; jedinou premennou zložkou je sonda. No interpre-

tácia výsledku závisí od molekulárnej podstaty mutácie a od viacerých ďalších okolností. V zásade poznáme dve evolučne podstatou odlišné formy DNA-diagnostiky - priamu a nepriamu diagnostiku.

Priama diagnostika

Pri tejto forme DNA-diagnostiky stanovíme Southernovou metódou vo vyšetrovanej DNA priamo prítomnosť či neprítomnosť zodpovedajúcej mutácie. Napríklad ak mutácia spočíva v delícii určitej časti génu, bude restričný fragment na ktorom tento gén leží, kratší než pri normálnom géne bez delécie. To sa odrazi na polohe fragmentu na géli po elektroforéze; fragment kratší v dôsledku delécie bude ležať ďalej od štartu ako fragment bez delécie. Táto forma priamej diagnostiky sa bežne využíva pri detekcii delečných typov talasémii, pri diagnostike progresívnych svalových dystrofií (kde najmenej 60 % mutácií sú delécie príslušného génu) a pri niektorých ďalších ochoreniach. Sú vypracované aj iné formy priamej diagnostiky, ale všetky možno použiť len pri tých monogénnych ochoreniach, pri ktorých sú všetky prípady daného ochorenia výsledkom tej istej mutácie. Ak na zodpovedajúcom géne môže nastať viac mutácií a všetky vedú k rovnakému patologickému fenotypu (tzv. alelová heterogenita), priamu metódu DNA-diagnostiky zväčša nemôžeme použiť. Taktisto ju nemožno použiť vtedy, keď molekulárna podstata mutácie nie je známa - a to je zatiaľ veľmi častý prípad.

Nepriama diagnostika pomocou väzby a restričných polynukleotidáz

Pri nepriamej diagnostike sa neidentifikuje bezprostredne zodpovedajúca mutácia, ale sa stanovíďaka niektorého variabilného

ho (polymorfného) restriktčného fragmentu, ktorý leží v bezprostrednej blízkosti mutácie, takže sa spolu s ňou prenáša do ďalších generácií s minimálnou pravdepodobnosťou rekombinácie. Vyštrkuje sa teda polymorfizmus díky restriktčných fragmentov DNA (RFLP, z angl. "restriction fragment length polymorphism"), ležiaci v tesnej blízkosti mutácie. Takéto polymorfizmy sú v ľudskom genóme veľmi časté, a na ich detekciu sa s výhodou využíva Southernova hybridizácia. V blízkosti (alebo dokonca v rámci) niektorých génov sa už našli desiatky RFLP.

Molekulárnou podstatou polymorfizmu díky restriktčných fragmentov je skutočnosť, že približne jeden básový pár z 300 je v ľudskej DNA polymorfny, t.j. nekonštantný. Ak je takýto polymorfny pár súčasťou cieľovej sekvencie určitej restriktázy, táto restriktáza v danom mieste u niektorých jedincov DNA štiepi, u iných nie; vzniknú teda restriktčné fragmenty rozličných dĺžok. Díky fragmentov možno pri použití vhodnej sondy (t.j. sondy, hybridizujúcej k danému fragmentu) určiť Southernovou hybridizáciou. Pre niektoré gény a ich okrajové oblasti sú dnes k dispozícii desiatky vhodných sond, detekujúcich polymorfizmus díky restriktčných fragmentov.

Praktické vykonanie neprímaj diagnostiky pomocou viazaného RFLP je pomerne zložité, lebo vyžaduje nájsť taký polymorfny restriktčný fragment, ktorý v danej rodine kosegreguje s mutáciou. Preto treba vyšetriť DNA viacerých členov rodiny, vrátane aspoň jedného postihnutého jedinca, čo často naráža na problémy. Nepriamu diagnostiku nemožno uplatniť v rodinách, v ktorých sa nenarodil žiadny postihnutý člen; nemožno ju teda využiť pre populačný skrining.

Možnosti a perspektívy DNA-diagnostiky

V katalogu monogénne podmienených ochorení sa v súčasnosti nachádza približne 4000 položiek; pri polovici z nich je tento genetický mechanizmus istý, pri ostatných je pravdepodobný. Možnosť DNA-diagnostiky je zatiaľ obmedzená na niekoľko desiatok monogénnych nozologických jednotiek; vzťahuje sa však na väčšinu takých, ktoré sú dostatočne závažné a aspoň v niektorých populáciách dostatočne časté. Patrí medzi ne predovšetkým všetky poruchy štruktúry a kvantít glykoproteínových reťazcov (t.j. hemoglobínopatie, ako napr. známa kosáčiková anémia, jednotlivé talasémie a i.), mnoho závažných vrodených metabolických porúch (fenylyketonúria, Tayova-Sachsova choroba a i.), poruchy krvnej koagulácie (hemofília A a B a i.); patria sem však aj mnohé monogénne ochorenia bez známeho biochemického podkladu, ako je napr. cystická fibróza (mukoviscidóza), progresívne svalové dystrofie, Huntingtonova chorea, polycystické oblička dospelého veku a iné. Zoznam sa rozširuje veľmi rýchlo: len napr. klonovaných DNA sond z ľudského genómu je na svete k dispozícii približne 3500 a každým rokom pribúda asi tisíc ďalších; väčšina z nich má perspektívne diagnostické využitie. Takisto pribúda možnosť pripravovať syntetické diagnostické DNA-sondy, keďže počet sekvenovaných ľudských génov a iných úsekov DNA exponenciálne narastá. Je veľmi reálne očakávať, že analýza DNA sa stane v dohľadnej budúcnosti prakticky univerzálnou metódou diagnostiky monogénnych ochorení a pravdepodobne nie je vzdialená doba, keď sa bude uplatňovať aj v iných súvislostiach: predovšetkým pri diagnostike genetických predispozícií k multifaktoriálne podmieneným patologickým stavom a pri molekulár-

nej klasifikácii nádorov.

Práve perspektíva diagnostického využitia poznatkov predstavuje jednu z hlavných motívácií dvoch ambiciózných výskumných projektov súčasnej molekulárnej genetiky: projektu zostaviť podrobnú a presnú ľudskú génovú mapu a projektu určiť sekvenciu nukleotidov celého ľudského genómu.

INFORMAČNÍ LISTY. Neprodejné. Vydává Sekce pro obecnou genetiku
Čs. biologické společnosti při ČSAV jako informaci pro členy Sekce.
-Redakční rada: Výbor Sekce; výkonný redaktor: RNDr. J. Doškař, CSc.,
katedra obecné a molekulární biologie, přírodovědecká fakulta UJEP,
Kotlářská 2, 611 37 Brno.