



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

**Posílení spolupráce mezi MZLU v Brně a dalšími
institucemi v terciárním vzdělávání a výzkumu
CZ 1.07./2.4.01/12.0045**

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA v Českých Budějovicích
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

Biotechnologické centrum ZF JU

**Představení pracoviště a nabídka vzdělávacích
kurzů v rámci projektu OPVK**

březen 2010

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA
v Českých Budějovicích**

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA



Biotechnologické centrum ZF JU





**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta**



**BIOTECHNOLOGICKÉ CENTRUM
ZF JU ČESKÉ BUDĚJOVICE**

Biotechnologie představují multidisciplinární, dynamicky se rozvíjející obor, s jehož praktickými výstupy se setkáváme denně na každém kroku počínaje produkty klasických fermentačních technologií, přes geneticky modifikované organizmy až po přenos a klonování embryí. Zejména v posledních 20 letech, díky aplikaci nových molekulárně biologických metod, zaznamenaly biotechnologie obrovský růst a staly se jedním z oborů, které dnes řadíme do skupiny tzv. Hi-tech, tj. mezi technologie s vysokým intelektuálním podílem na ceně výrobku. Biotechnologie jsou jedním z klíčových oborů významně ovlivňujících technologickou úroveň dané ekonomiky a stupeň rozvoje biotechnologií se stal dokonce jedním z významných kritérií pro hodnocení technologické úrovně té které země jako celku. Význam biotechnologií jako hodnotícího kritéria úrovně ekonomiky není překvapivý, neboť s ohledem na multidisciplinární charakter oboru je jasné, že obor pro svůj rozvoj potřebuje nejen teoretické informace, ale také silné metodické zázemí, obojí podepřené poptávkou po ekologických, levných a kvalitních procesech i finálních produktech. Rozvoj a aplikace biotechnologií je jednou z potenciálních oblastí rozvoje české ekonomiky. Pro dobrý rozvoj biotechnologií je třeba vytvořit vhodnou teoreticko-aplikační základnu a vytvořit podmínky pro studium aplikované biotechnologie s důrazem na metodické a praktické zaměření.

V roce 2003 bylo na Zemědělské fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích zřízeno Biotechnologické centrum – jako vědecko-výzkumná základna stávajících studijních specializací Genové inženýrství a šlechtění rostlin, Fytotechnika a Rostlinolékařství a nově akreditovaného bakalářského studijního oboru Zemědělské biotechnologie a magisterského oboru Rostlinné biotechnologie. Pracoviště vzniklo osamostatněním Laboratoře aplikované molekulární biologie rostlin budované od roku 1991, společné laboratoře Katedry pěstivařství, odd. genetiky a šlechtění a Katedry rostlinné výroby, odd. ochrany rostlin.

Biotechnologické centrum vzniklo jako samostatné vědecko-výzkumné pracoviště Zemědělské fakulty Jihočeské univerzity s cílem vytvoření nezbytných podmínek pro rozvoj teoretických základů biotechnologických disciplín a vytvoření konsolidovaného a specializovaného vědecko-výzkumného pracoviště zaměřeného na problematiku rostlinných biotechnologií a aplikovaných otázek molekulární biologie rostlin. Za dobu fungování samostatného Centra dokázalo toto pracoviště upevnit svoji pozici, získat řadu grantových projektů, řada nemalých investic byla pořízena i v rámci výzkumných záměrů a dalších prostředků na podporu výzkumu. Centrum v současné době představuje kvalitně vybavené pracoviště se samostatným výzkumným zaměřením.

Cílem zřízení Biotechnologického centra bylo vytvoření nezbytných podmínek pro rozvoj teoretických základů biotechnologických disciplín a vytvoření konsolidovaného a specializovaného vědecko-výzkumného pracoviště zaměřeného na problematiku rostlinných biotechnologií a aplikovaných otázek molekulární biologie rostlin. Za dobu fungování samostatného Centra dokázalo toto pracoviště upevnit svoji pozici, získat řadu grantových projektů, řada nemalých investic byla pořízena i v rámci výzkumných záměrů a dalších prostředků na podporu výzkumu. Centrum v současné době představuje kvalitně vybavené pracoviště se samostatným výzkumným zaměřením.



PERSONÁLNÍ OBSAZENÍ A PEDAGOGICKÁ ČINNOST

Biotechnologické centrum v současné době obsahově i personálně garantuje výzkum a vývoj nových technologií ve stěžejních oborech bakalářského studijního oboru Zemědělské biotechnologie, magisterského oboru Rostlinné biotechnologie a doktorského studijního programu Zemědělské biotechnologie.

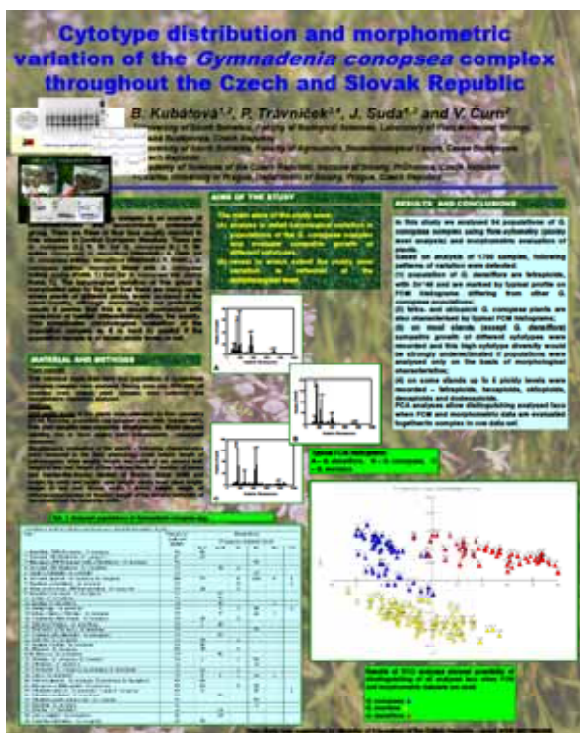
V rámci stávající vědecké výzkumné činnosti a pedagogické činnosti jsou do činnosti centra zapojeni tyto pracovníci:

- prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
- doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.
- Ing. Barbora Kubátová, Ph.D.
- Ing. Veronika Heřmanová, Ph.D.
- Ing. Kateřina Šimáčková
- prof. Ing. Zdeněk Landa, CSc.
- doktorandi a studenti magisterských a bakalářských oborů

Biotechnologické centrum zajišťuje výuku ve specializovaných předmětech a kurzech nově akreditovaného oboru Zemědělské biotechnologie a Rostlinné biotechnologie. V rámci pedagogické činnosti je významným úkolem Biotechnologického centra zajistit kurzy pro studenty v rámci doktorského studijního programu – Zemědělské biotechnologie, Ochrana rostlin a Speciální produkce rostlinná. U vybraných předmětů – zejména kurzů pro DSP je možné garantovat výuku v anglickém jazyce.

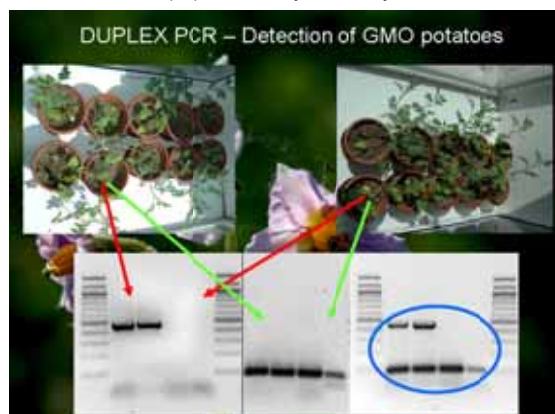
Témata bakalářských/diplomových prací:

- Vývoj a optimalizace metodiky pro detekci GMO brambor
- Detekce transgenů u řepky a příbuzných brukvovitých rostlin
- Odhad rizik a perspektivy pěstování GMO plodin/brambor v ČR
- Využití techniky AFLP fingerprintingu ve šlechtění řepky
- Využití metody PCR-RFLP pro detekci S-haplotypů u řepky
- Porovnání účinnosti přímé a nepřímé metody transformace u bramboru
- Hodnocení genetické variability entomopatogenních hub
- Hodnocení vnitro- a meziorgánové variability proteinů u bramboru
- Studium metod izolace bílkovin brambor (pšenice, hrachu) z odpadu při výrobě škrobu



Témata doktorských disertačních prací:

- Využití molekulárních markerů v resistentním šlechtění řepky ozimé
- Využití molekulárních markerů pro charakterizaci odrůd brambor registrovaných v ČR
- Evropský agregát Pinus mugo – studium genetické struktury populací
- Cytogenetická a morfologická variabilita u orchidejí (Gymnadenia, Dactylorhiza) – struktura populací, taxonomie
- Polyfaktoriální hodnocení kmenů mitosporických hub v systému řízených selekcí
- Molekulární markery u entomopatogenních a mykorrhizických hub – identifikace kmenů, struktura populací mykorrhizických hub, taxonomie



VĚDECKO-VÝZKUMNÁ ČINNOST, PROJEKTY A GRANTY

V současné době je v laboratořích Biotechnologického centra řešena řada výzkumných projektů. Výzkumné zaměření je orientováno na problematiku analýzy molekulárních a biochemických markerů, chemie proteinů, aplikované mykologie.

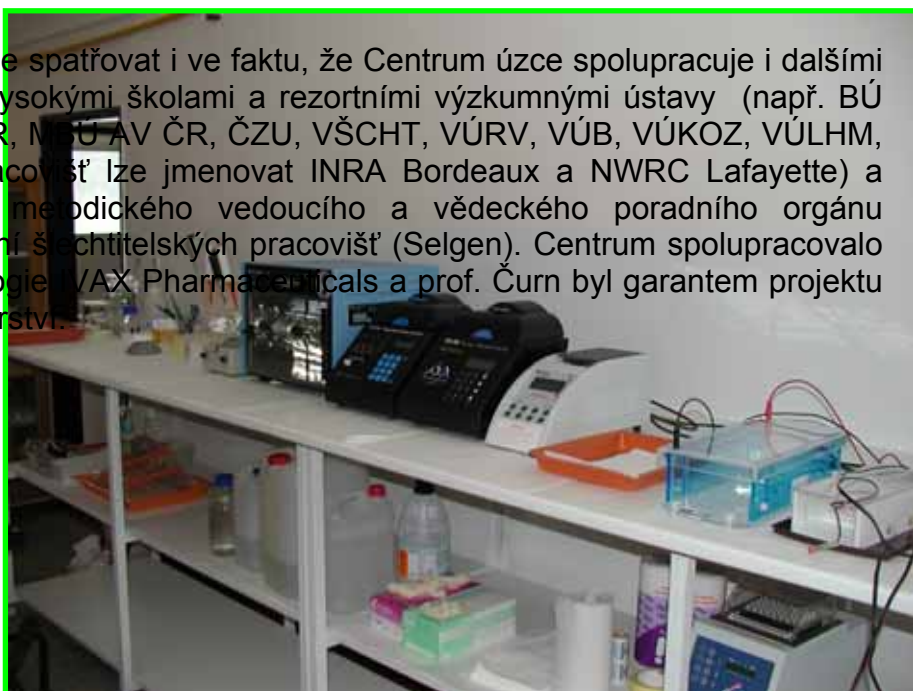
Výzkumné zaměření Biotechnologického centra:

- **I. Laboratoř aplikované molekulární biologie**
 - biodiverzita, populační genetika a cytogenetika, taxonomie planých druhů rostlin
 - studium polyploidních komplexů a problematiky endoreduplikace u rostlin
 - aplikace molekulárních markerů ve šlechtění rostlin – pro účely identifikace, popisu, MMAS, detekce GMO
 - genotypizace odrůd a genových zdrojů brambor
 - molekulární selekční markery u řepky

- **II. Laboratoř chemie proteinů**
 - biochemické markery (analýza isoenzymů a zásobních bílkovin)
 - studium bílkovin patatinového komplexu u brambor
 - studium metod izolace rostlinných proteinů z provozních odpadů
 - studium a charakterizace perspektivních proteinů u planých druhů z rodu *Solanum* a *Helianthus*
 - studium složení proteinových frakcí cereálií a pseudocereálií
 - identifikace proteáz a jejich inhibitorů

- **III. Aplikovaná mykologie**
 - vliv cílených aktivních a pasivních selekcí/mutací na genotypové a fenotypové charakteristiky hub/bakterií
 - polyfaktoriální systémy hodnocení

Významnou úlohu lze spatřovat i ve faktu, že Centrum úzce spolupracuje i dalšími pracovišti AV ČR, vysokými školami a rezortními výzkumnými ústavy (např. BÚ AV ČR, EntÚ AV ČR, MŠU AV ČR, ČZU, VŠCHT, VÚRV, VÚB, VÚKOZ, VÚLHM, ze zahraničních pracovišť lze jmenovat INRA Bordeaux a NWRC Lafayette) a vystupuje i v roli metodického vedoucího a vědeckého poradního orgánu výzkumných oddělení šlechtitelských pracovišť (Selgen). Centrum spolupracovalo i s Divizí biotechnologie VAX Pharmaceuticals a prof. Čurn byl garantem projektu proteinového inženýrství.



VĚDECKO VÝZKUMNÁ ČINNOST – PŘEHLED ŘEŠENÝCH GRANTOVÝCH PROJEKTŮ V POSLEDNÍCH LETECH

Zahraniční granty

Populační diverzita padlí dubového v Evropě. Diversité des populations d'oidium du chêne en Europe. - BARRANDE 2004-1: Česko-francouzský Program integrovaných akcí. 2004-2005.

EU INTEREG IIIC - MATEO - TRACENET: Survey for technological needs in traceability for food safety. EU. 2006-2007.

Granty GA ČR

Struktura cyklopeptidů fytopatogenních hub a její vztah k biologické aktivitě. Grantová agentura ČR - 203/02/1417, 2002-2004.

Molekulární genetiky rostlin, genové manipulace a ekologie. Grantová agentura ČR - 521/03/H160, 2003-2006.

Molekulární genetiky rostlin, genové manipulace a ekologie. Grantová agentura ČR - 521/03/H160, 2003-2006.

Evropský agregát *Pinus mugo* - podíl diferenciace a hybridizace na utváření současné variability. Grantová agentura ČR - 521/05/2448, 2005-2007.

Molekulární biologie, ekologie a taxonomie. Grantová agentura ČR - 521/08/H042, 2008-2011.

Procesy ovlivňující vznik a evoluční úspěšnost polyploidů: co umožňuje koexistenci různých cytotypů v populacích *Gymnadenia conopsea*? Grantová agentura ČR - 206/09/0843, 2009-2012.

Úloha antimikrobiálních peptidů v obraně rostlin proti patogenům. Grantová agentura ČR - 522/09/1693, 2009-2012.

Granty NAZV

Izolace bílkovin brambor z odpadu při výrobě škrobu a sledování vlivu agroekologických faktorů na jejich kvantitativní a kvalitativní variabilitu. NAZV QF 4030, 2004-2007.

Vývoj a testování systému analytických metod pro praktickou charakterizaci odrůd brambor registrovaných v ČR. NAZV 1B44011, 2004-2008.

Využití inovovaných metod a specifických šlechtitelských materiálů pro zvýšení efektivity tvorby nových odrůd ozimé řepky. NAZV 1G46061, 2004-2008.

Charakterizace genetické struktury autochtonních populací jilmů pomocí DNA analýz, záchrana genofondu a reprodukce in vitro. NAZV QI92A247, 2009-2013.

Granty MŽP

Monitoring výskytu GMO v porostech řepky. VÚP Troubsko, 2005-2006.

Monitoring výskytu a cílené využívání entomopatogenních hub přirozeně asociovaných s populacemi lýkožrouta smrkového *Ips typographus* L. (Coleoptera, Scolytidae) ve smrčinách NP a CHKO Šumava. VaV SP/2d1/41/08, 2008-2010.

Výzkumný záměr

Trvale udržitelné způsoby zemědělského hospodaření v podhorských a horských oblastech zaměřené na vytváření souladu mezi jejich produkčním a mimoprodukčním uplatněním. MSM 6007665806, 2005-2010

PŘEHLED PUBLIKAČNÍ ČINNOSTI V POSLEDNÍCH 5 LETECH

Publikace v časopisech s IF

Travis S.E., Marburger J.E., Windels S., Kubátová B. (2010): Hybridization dynamics of invasive cattail (*Typhaceae*) stands in the Western Great Lakes Region of North America: a molecular analysis. - Journal of Ecology 98: 7–16. (IF=4,262)

Bárta J., Bártová V., Čurn V. (2010): Analýza proteinů pomocí automatické čipové elektroforézy Experion a porovnání s metodou SDS-PAGE. - Chem. listy 104: 33-40. (IF=0,593)

- Kubátová B., Trávníček P., Bastlová D., Čurn V., Jarolímová V., Suda J. (2008):** DNA ploidy-level variation in native and invasive populations of *Lythrum salicaria* at a large geographical scale. - *Journal of Biogeography* 35: 167-176. (IF=4,566)
- Hraška M., Heřmanová V., Rakouský S., Čurn V. (2008):** Sample topography and position within plant body influence the detection of the intensity of green fluorescent protein fluorescence in the leaves of transgenic tobacco plants. - *Plant Cell Rep.* 27: 67–77. (IF=1,946)
- Hraška M., Rakouský S., Čurn V. (2008):** Tracking of the CaMV-35S promoter performance in GFP transgenic tobacco, with a special emphasis on flowers and reproductive organs, confirmed its predominant activity in vascular tissues. - *Plant Cell, Tissue & Organ Culture* 94: 239–251. (IF=0,951)
- Čurn V., Kubátová B., Vávřová P., Suchá O., Čížková H. (2007):** Phenotypic and genotypic variation of *Phragmites australis*: Comparison of populations in two man-made lakes of different age and history. - *Aquatic Botany* 86: 321-330. (IF=1,497)
- Suchá O., Vávřová P., Čížková H., Čurn V., Kubátová B. (2007):** Phenotypic and genotypic variation of *Phragmites australis*: II. A comparative study of clones originating from two populations of different age. - *Aquatic Botany* 86: 361-368. (IF=1,497)
- Hanusová L., Čurn V. (2007):** Inhibitory proteas v hlíze bramboru. - *Chem. listy* 101: 536-541. (IF=0,683)
- Hraška M., Rakouský S., Čurn V. (2006):** Green fluorescent protein as a vital marker for non-destructive detection of transformation events in transgenic plants. - *Plant Cell, Tissue & Organ Culture* 86: 303–318. (IF=0,951)
- Heřmanová V., Bárta J., Čurn V. (2006):** Antifungální proteiny rostlin - klasifikace, charakteristika, možnosti využití. - *Chem. Listy* 100, 495–500. (IF=0,431)
- Hraška M., Rakouský S., Čurn V. (2006):** Inhibitory proteas, mechanismy účinku a perspektivy jejich využití v transgenosi rostlin. - *Chem. Listy* 100, 501–507. (IF=0,431)
- Haraštová-Sobotková M., Jersáková J., Kindlmann P., Čurn V. (2005):** Morphometric and genetic divergence among populations of *Neotinea ustulata* (*Orchidaceae*) with different flowering phenologies. - *Folia Geobotanica* 40: 385–405. (IF=1,033)
- Kavková M., Čurn V. (2005):** *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as a potential mycoparasite on *Sphaerotheca fuliginea* (Ascomycotina: Erysiphales). - *Mycopathologia* 159: 53-63. (IF=0,568)

Publikace ve vědeckých časopisech bez IF

- Nováková A., Šimáčková K., Bárta J., Čurn V. (2009):** Potato variety identification by molecular markers based on retrotransposon analyses. - *Czech J. Genet. Plant Breed.* 45: 1-10
- Bastlová D., Květ J., Kubátová B., Trávníček P., Čurn V., Suda J. (2008):** Variabilita ve fenologii a ploidních hladinách původních a invazních populací kypřeje vrbice (*Lythrum salicaria*) v širším geografickém měřítku. - *Zprávy Čes. Bot. Společ., Praha* 43: 103-112.
- Heřmanová V., Bárta J., Čurn V. (2007):** Wild potato species: characterization and biological potential for potato breeding. - *Czech J Genet Plant Breed* 43, (3):73-81.

Monografie

- Čurn V., Žaludová (2007):** Fingerprinting of Oilseed Rape Cultivars. In: Gupta S. (ed.): *Rapeseed Breeding*. (Advances in Botanical Research, Volume 45). Elsevier Publ., pp. 155-179.
- Čurn V., Nováková A., Šimáčková K., Ondřichová B., Bárta J. (2008):** Molecular markers as a tool for plant breeding and variety identification. - In: *Modern Variety Breeding for Present and Future Needs*, Prohens J., Badenes M.L. (eds.). UP Valencia, Spain, p. 699-703.

Metodiky

- Bárta J., Bártová V., Čurn V., Diviš J., Peterka J. (2008):** Stanovení obsahu bílkovin v sušině hlíz brambor pomocí vybraných fotometrických technik. *JU ZF*, 24 s., ISBN 978-80-7394-099-7.

Patenty a užité vzory

- Bárta J., Bártová V., Čurn V., Diviš J., Slavíková E., Kotlářová L. (2008):** Koncentrát hlízových bílkovin brambor s vysokou mírou rozpustnosti. Užité vzor, č. 18764, Úřad Průmyslového Vlastnictví.

NABÍDKA VÝUKOVÝCH KURZŮ

I. Metody molekulární biologie a aplikace molekulárního markerování v genetice a šlechtění rostlin a v populační genetice

seminář k problematice základních technik molekulární biologie
využití proteinových, isoenzymových a DNA markerů pro účely identifikace
a popisu genových zdrojů, šlechtitelského materiálu a odrůd
zemědělských plodin

využití přístupů MAS a MMAS ve šlechtění rostlin, detekce GMO
studium genetické struktury populací planých druhů rostlin pomocí
morfometrických, cytogenetických a molekulárních technik a přístupů

jednodenní seminář

termín konání: 1. polovina října 2010, České Budějovice

garance: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.

II. Analýza molekulárních markerů a vyhodnocení molekulárních dat

laboratorní seminář s ukázkou technik analýzy proteinových/isoenzymových
a DNA markerů

metody izolace DNA (proteinů)

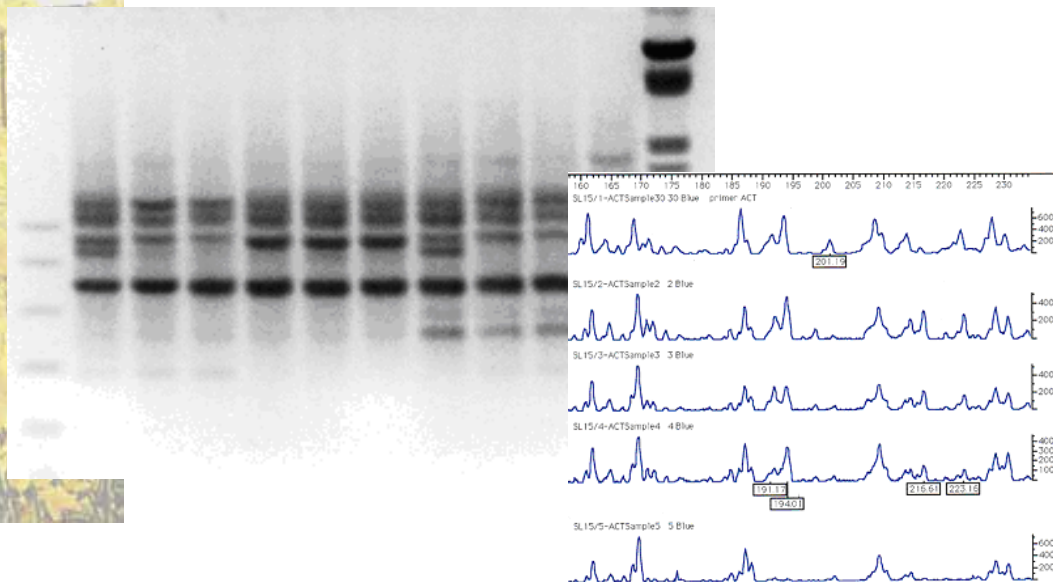
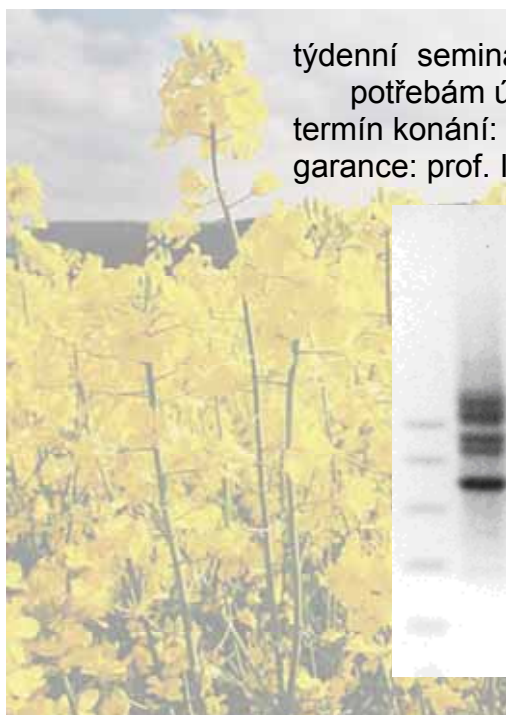
principy a ukázky základních technik analýzy molekulárních markerů –
mikrosatelity, AFLP, PCR-RFLP, analýza rDNA, klonování a
sekvenování

analýza molekulárních dat – ukázka postupů digitální obrazové analýzy a
statistického vyhodnocení dat (TotalLab a UltraQuat software,
GeneMapper, SeqScape, MVSP, DARwin), *in silico* zpracování
sekvenčních dat

týdenní seminář (program a délka trvání bude přizpůsobena aktuálním
potřebám účastníků semináře)

termín konání: 1. polovina listopadu 2010, České Budějovice

garance: prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D., Ing. Barbora Kubátová, Ph.D.





IZOLACE ROSTLINNÉ DNA

I. Mikroextrakce celkové DNA

I.1. CTAB metoda podle Williams a kol. (1992)

Vzorky rostlinné genomické DNA se extrahují z děložních lístků nebo mladých pravých listů.

1 g tkáň se homogenizuje v tekutém dusíku v třecí mísece na jemný prášek a smísí se s 1 ml CTAB extrakčního pufru a 0,4 ml chloroformu. Je možné provádět homogenizaci čerstvě rostlinné tkáň přímo v CTAB extrakčním pufru v mikrocentrifugační zkumavce (appendorfa). Hrubý homogenát se zahřeje na 55°C na dobu 10 minut a poté se na stolní mikrocetrifuge oddělí hrubě část vzorku. Centrifugace probíhá 15 min. při 14000g. Supernatant se přeneso do čisté mikrozukumavky a přidá se 1,2 objemu isopropanolu (vychlazeného na teplotu -20°C). Precipitát nukleových kyselin se oddělí centrifugací (30 min při 14000g) a omyje 1 ml 70% čistého etanolu. Po osušení se pelet DNA rozpustí ve 100 µl pufru - 10 mM Tris-HCl, pH=7,5 a 0,1 mM EDTA nebo raději ve DNase.

(2% CTAB pufr: 100 mM TrisHCl, pH=8,0, 50 mM EDTA, 1,4 M NaCl, 2% 2-mercaptotanol)

Využití molekulárních markerů v genetice a šlechtění rostlin

Vladislav ČURN



International Conference on Polyploidy, Hybridization and Biodiversity, Saint-Malo, France

What maintains cytotypic coexistence in *Gymnadenia conopsea*? Insights on breeding barriers

Silvia Castro (1,2), Pavel Trávníček (2,1), Jana Raudová (2,1), João Loureiro (1,3), Barbora Kubátová (4), Vladislav Čurn (4), Jan Suda (1,2), Jana Janská (5)

(1) Department of Botany, Faculty of Science, Charles University in Prague, Prague, CZ; (2) Institute of Botany, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prácheň, CZ; (3) Centre for Functional Ecology, Department of Biology, University of Coimbra, Coimbra, PT; (4) Biotechnological Centre, Faculty of Agriculture, University of South Bohemia, České Budějovice, CZ; (5) University of South Bohemia, Institute of Botany, České Budějovice, CZ

Pollinator behaviour
Pollinator behaviour was assessed by direct observations on entrance tunnels built into the host confining cytotypes (i.e. *G. conopsea* and *G. conopsea*).

Pollinator spectrum
Pollinators were identified by direct observations on entrance tunnels built into the host confining cytotypes (i.e. *G. conopsea* and *G. conopsea*).

Cytotype distribution
DNA ploidy level of over 2000 individuals from 80 populations distributed in the Czech Republic and the Slovak Republic was assessed using flow cytometry (Gardner et al., 2007).

Temporal segregation: flower phenology
Flowering phenology was assessed in two microsatellite populations by monitoring the number of open flowers in 500 plants from the main cytotypes along the flowering season.

Mechanical isolation: nectar spur length
Given the importance of spur length in reproductive isolation of nectar-rewarding species (Sengco 1987), the length of the spur was measured in a total of 170 flowers comprising the main cytotypes.

Bibliography
Sengco J. (1987) Evolution of nectar spur length in the genus *Ipomoea*. *Journal of Evolutionary Biology* 10: 1-10.

Využití molekulárních markerů v šlechtění rostlin



Aplikace analýzy biochemických a molekulárních markerů

Přibližně před 30 – 35 lety nová a poměrně jednoduchá technika, elektroforéza aluzymových bílkovin na širokovětném gelu, velmi výrazně změnila možnosti studia evoluce. Dostupnost této metodologie vcelkem významně zasáhla do studia fylogenetických, taxonomických, sociobiologických, populačně genetických otázek (MAY 1992).
Elektroforéza je poměrně jednoduchá, rychlá a přitom výsoce citlivá metoda. Elektroforéza separační techniky patří k nejběžnějším metodickým biochemické analýzy a mají klíčovou úlohu v klinické diagnostice chorob, v soudním lékařství, potravních vědách, šlechtění, kontrole kvality a v genovém inženýrství (ANDERSON 1993).

Biochemické a molekulární markery nacházejí aplikace zejména v šlechtění a semenářství, protože mnoho ekonomicky významných rostlinných druhů zahrnuje velký počet odrůd, z nichž mnohé jsou blízce příbuzné. V případě agronomicky cenných druhů může mít značný ekonomický význam možnost rozlišit odrůdy. V mnoha zemích platí v různé úpravě šlechtitelská práva a omezení pro povolení nové odrůdy na trhu. Jedna z těchto omezení je jasná charakteristika, která může odlišit odrůdu ode všech ostatních povolených odrůd (NELSEN 1995, HORNÁTH 1993).
Neméně významné jsou i aplikace populačně-genetické, evoluční a taxonomické, kdy jsou molekulární a biochemické markery poměrně široce využívány v řadě studií v planých druzích dřevin a bylin – pro řešení fylogenetických, taxonomických otázek, otáček genetické skladby a stability populací, jako prostředek doplňující morfologické znaky a charakteristiky taxonu (KROUSEL a MICHELMORE 1999, ISHIGI, OKUBO a FUJEDA 1992, HAJASHI, KATO a IGHASHI 1993, QUZZANI ET AL. 1993, PHTOPHAKOS a YAMANTAROS 1994, RAHMAN a NITO 1994, LIU a KNOXES 1991, ARVANITAKIS, ZAFIRA a CHONG 1993, UCHIDA ET AL. 1993, AKEN, GARDNER a FORDE 1992, WHITUS 1992, LOOS 1993, BALFOURER a CHAMRET 1994, MCCLINTOCK a WATERWAY 1994, SEGURA-NEITO ET AL. 1992, SOLTIS a SOLTIS 1990).

Volba vhodného biochemického markerovacího systému (na úrovni DNA, proteinu nebo enzymu) je založena na následujících požadavcích:

- dostatečná frekvence genetických variant u daného druhu
- exprese nezávislá na podmínkách prostředí
- vhodná elektroforéza a detekční techniky (NELSEN 1995).

Molekulární markery

Kvalitativní a kvantitativní informace týkající nesmírně důležitým faktorem v mnoha oblastech bio základního nebo aplikovaného: v ekologii, evoluční biol ochrany genofonda. Pro „markování“ diversity, pro úrovni nukleových kyselin (zejména DNA) je možné molekulárních technik. Většina molekulárních marker kategorií technik: (1) techniky využívající hybridizaci; PCR reakci (amplifikace využívající náhodných primer technik založené na PCR reakci (amplifikace známých locus PCR); (4) sekvencování. Některé techniky jsou kombinací dalších metodických postupů (KARP a EDI

Je to historicky první skupina molekulárních markerů, která byla používána v „počátcích“ molekulární biologie od 70. let a v současné době je nahrazována technickými odvozenými od PCR.
RFLP analýza (Restriction Fragment Length Polymorphism = polymorfismus délek restrikčních fragmentů) je metoda založená na restrikčním štěpení DNA, elektroforéze separaci fragmentů DNA a hybridizaci se specifickou sondou (Southernův přenos). Mutace v restrikčních místě změní velikost restrikčních fragmentů a tedy i velikost proužků po hybridizaci (GRANT a SHOEMAKER 1997).

U metody VNTR (Variability of Number Tandem Repeats = variabilita počtu tandemových repetičí) může být hybridizace uskutečněna také se sondami pro minisatelitové nebo mikrosatelitové sekvence (CHANDRABORTY 1997, WILLIG a KAU 1997).

2. Techniky založené na PCR reakci (multi-locus PCR a další techniky, založené na využívání náhodných primerů)

Vývoj PCR metod od poloviny 80. let 20. století odstraní nezbytnost složitých a náročných hybridizačních kroků. Do této první kategorie amplifikačních metod můžeme seskupit všechny PCR techniky, které k amplifikaci DNA produktů (čtené produkt) odvozených z RNA) používají náhodné primery. Společným znakem těchto technik je ten fakt, že se obejdem bez požadavku znalosti

Kontaktní informace:

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Biotechnologické centrum
Studentská 13
370 05 České Budějovice

prof. Ing. Vladislav Čurn, Ph.D.
tel/fax: 38 777 2588, 2586
vcurn@seznam.cz
<http://biocentrum.zf.jcu.cz>