

# Genové technologie

Monika Jandová

---

Bakalářská práce  
2008



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

akademický rok: 2007/2008

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Monika JANDOVÁ**

Studijní program: **B 2808 Chemie a technologie materiálů**

Studijní obor: **Chemie a technologie materiálů**

Téma práce: **Genové technologie**

Zásady pro vypracování:

- 1) Na základě literárního průzkumu provedte výběr relevantního materiálu daného tématu.
- 2) Sestavte osnovu pojednání o genových technologiích v souladu s pravidly pro strukturu bakalářské práce na UTB.
- 3) Provedte zhodnocení výsledných literárních poznatků do logického celku.

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tisková/elektronická**

Seznam odborné literatury:

**Prof. MURd. JAN ŠMARDA, DrSc. – GENETIKA pro gymnázia, 2003**

**RNDr. EDUARD KOČÁREK, Ph.D. – GENETIKA, 2004**

Vedoucí bakalářské práce:

**prof. Ing. Jan Kupec, CSc.**

Ústav inženýrství ochrany živ. prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

**19. února 2008**

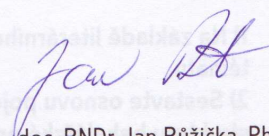
Termín odevzdání bakalářské práce:

**2. června 2008**

Ve Zlíně dne 19. února 2008



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



doc. RNDr. Jan Růžička, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

## **ABSTRAKT**

Práce stručnou formou přibližuje nesnadné téma genových technologií a podobory, které pod tuto problematiku spadají. Vychází z definice genu a ostatních základních atributů. Dále jsou uvedeny základy molekulární genetiky, pojmy nukleových kyselin, mutací a genového inženýrství. Uvedeny jsou také základní informace o genové terapii, klonování a geneticky modifikovaných organismech.

Klíčová slova: gen, DNA, RNA, genetika, chromozom, buňky, kyseliny, mutace, nádor, klon, GMO, transgen, plazmid

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis nears difficult theme of genetic engineering by brief form and branches of activity, which fall into this problems. It appears from definition of gene and other basic attributes. Further there are some basic of molecular genetics bring into this, notions like nucleic acids, alternation and genetics engineering. Basic information about gene therapy are bring, including cloning and genetically modify organisms.

Keywords: gene, DNA, RNA, genetics, chromosome, cells, acids, alternation, tumor, clone, GMO, trnsgene, plasmid

Ráda bych poděkovala prof. Ing. Janu Kupcovi, Csc., za připomínky a cenné rady při realizaci mé bakalářské práce.

*Prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uvedena jako spoluautorka.*

*Monika Jandová*

Ve Zlíně dne 26.5.2008

## OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>8</b>
<b>1 HISTORIE</b> .....	<b>9</b>
<b>2 ZÁKLADNÍ POJMY</b> .....	<b>11</b>
2.1 DEFINICE GENETIKY.....	11
2.2 SCHÉMA PŘEDSTAVY USPOŘÁDÁNÍ GENU JE NA OBR. 1 .....	12
2.3 POJEM GENU .....	13
2.4 VAZBA A UMÍSTĚNÍ GENU .....	13
2.5 FUNKCE GENŮ .....	14
<b>3 MOLEKULÁRNÍ GENETIKA</b> .....	<b>15</b>
3.1 NUKLEOVÉ KYSELINY .....	15
3.1.1 DNA (kyselina deoxyribonukleová) .....	15
3.1.2 RNA (kyselina ribonukleová) .....	16
3.2 MUTACE .....	17
3.2.1 Obecně mutace.....	17
3.2.2 Mutace genové .....	17
3.2.3 Mutace chromozomové.....	18
3.2.4 Mutace genomové .....	19
3.3 MUTAGENY .....	19
3.4 ONKOGENETIKA .....	20
3.4.1 Vznik a růst nádoru .....	20
3.4.2 Onkogeny a protoonkogeny .....	21
3.4.3 Tumor - supresorové geny .....	22
<b>4 GENOVÉ INŽENÝRSTVÍ</b> .....	<b>23</b>
4.1 GENOVÁ TERAPIE.....	23
4.2 KLONOVÁNÍ .....	25
4.2.1 Jak naklonujeme zvolený gen? .....	25
4.3 GENETICKY MODIFIKOVANÉ ORGANISMY (GMO).....	26
4.3.1 Co jsou to GMO.....	26
4.3.2 Přenos genů.....	27
4.3.3 První GMO.....	27
4.3.4 Nebezpečí konzumace GMO? .....	28
4.3.5 Riziko pro prostředí v důsledku přítomnosti GMO .....	28
4.3.6 Legislativa o GMO .....	29
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>31</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>32</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>34</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>35</b>

## ÚVOD

Genové technologie jsou založeny na poznatku, že chemické složení a molekulární struktura deoxyribonukleové kyseliny (DNA), která je základní nositelkou genetické informace, jsou pro všechny živé organismy – ať už jde o bakterie, rostliny či živočichy – totožné. Lze tedy stejně dobře přenášet hmyzí či rostlinné geny do buněk savců, jako lidské geny do bakterií.

Genové technologie nabízejí také nové možnosti v diagnostice obtížně rozpoznatelných chorob, v boji proti nádorovým onemocněním a jejich prevenci, v genové terapii, při výrobě léčiv a očkovacích látek.

Genové technologie pronikají stále více například také do potravinářského a chemického průmyslu, zejména při získávání geneticky modifikovaných enzymů. Genové inženýrství představuje zcela nový a vysoce ceněný obor, který bude mít dopad nejen na již zmíněná odvětví lidské činnosti; ale jejich budoucnost není ještě stále doceněna a obecně rozšířena.

## **I TEORETICKÁ ČÁST**



## 1 HISTORIE

### 1865

Za zakladatele genetiky je považován Johann Gregor Mendel (1822 - 1884). Narodil se ve Slezsku a působil v Brně. V roce 1865 oznámil výsledky svých 17letých pokusů, ve kterých křížil hrách setý, přitom sledoval 7 dědičných znaků (tvar semen a lusků, zbarvení děloh, květů a nezralých lusků, délku stonku a postavení květů). Objevil tak základní zákonitosti dědičnosti organismů, které jsou nazývány Mendelovy zákony. Po matematickém zhodnocení výsledků zjistil, že se nedědí přímo znaky, ale "vlohy" pro ně. Ve své době však neměla jeho práce žádný ohlas a byla dokonce zapomenuta [1].

### 1906

Britský badatel William Bateson zavedl termín genetika [1].

### 1910

Americký genetik Thomas Morgan při pokusech na mušce octomilce odhalil, že geny se nacházejí na chromozomech v jádru buňky. Morgan je otcem představy, podle které jsou geny na chromozomu „navlečené“ jeden za druhým podobně jako korálky na šňůrce [14].

### 1941

Američtí genetici George Beadle a Edward Tatum představili teorii, podle které je každý gen zodpovědný za produkci jednoho enzymu [14].

### 1944

Geny jsou součástí molekuly deoxyribonukleové kyseliny (DNA). K tomuto závěru dospěli američtí genetici Oswald Avery, Colin McLeod a Maclyn McCarty [1].

### 1953

Britové James Watson a Francis Crick odhalili strukturu dvojité šroubovice DNA. Základem dědičnosti je DNA, jejíž informace se v buňkách přepisuje na molekuly ribonukleové kyseliny (RNA). Podle jednoduché šroubovice RNA se pak syntetizují bílkoviny. V tomto období se zdálo, že je podstata genu zcela jasná, ale následující roky se začal tento jednoduchý obraz genů a jejich úlohy komplikovat [14].

### 1977

Genetici Richard Roberts a Phillip Sharp zjistili, že geny jsou tvořeny několika segmenty. Také RNA vzniká v odpovídajících segmentech, které se mohou vzájemně různě

kombinovat. Tomuto procesu se říká alternativní sestřih RNA. V důsledku alternativního sestřihu může podle instrukcí jediného genu vznikat hned několik různých molekul RNA. Podle nich se v buňce tvoří různé proteiny [14].

### **1986**

První pokusy s geneticky modifikovanými rostlinami [1].

### **2005**

U drobné brukvovité rostliny huseníčku Thalova byla objevena RNA, která zpětně ovlivňuje pořadí písmen v molekule DNA a je schopna „přepsat“ pořadí písmen genetického kódu v DNA. Huseníček tak může opravovat nově vzniklé chyby ve svých genech [14].

### **2006**

U myši byl objeven gen, který vyrábí anomální RNA. To má kromě jiného za následek bílé zbarvení tlapek a špičky ocásku. Gen pro anomální RNA z dědičné informace mizí, ale RNA se tvoří dál a přenáší se v pohlavních buňkách z generace na generaci. Znamená to, že se rodí myšky s bílými ocásky a tlapkami, které už pro tento znak nemají instrukci v DNA. V roli „nositele dědičnosti“ nevystupuje DNA ale RNA. Jde o dědičnost bez genů, tomuto jevu se říká paramutace [14].

Asi 5 % všech proteinů vzniká podle informace několika různých genů. RNA pro tvorbu těchto proteinů se začne tvořit celkem spořádaně podle jednoho genu, ale pak si to uprostřed práce rozmyslí a přeskočí na jiný gen vzdálený často mnoho tisíc písmen genetického kódu. Tam pak RNA pokračuje v syntéze podle instrukcí jiného genu. Vzniká tak „hybridní“ RNA a následně i „hybridní“ protein, který v sobě nese části dvou zcela různých proteinů [14].

## 2 ZÁKLADNÍ POJMY

### 2.1 Definice genetiky

Genetika je věda zabývající se dědičností a proměnlivostí živých soustav. Patří mezi biologické vědy a rozděluje se podle hlediska studia organismů. Sleduje variabilitu, rozdílnost a přenos druhových a dědičných znaků mezi rodiči a potomky i mezi potomky navzájem. Mimo lékařství nachází genetika využití v pěstitelství nových odrůd rostlin a chovu hospodářských zvířat. S rozvojem biotechnologií a genetického inženýrství se objevují i geneticky upravené hospodářské rostliny, které se stávají ekologickou a etickou otázkou. Poznatky genetiky jsou velmi důležité v evoluční biologii člověka.

Velký význam pro člověka má lékařská neboli klinická genetika. Zkoumá různé geneticky podmíněné choroby, jejich četnost a genetickou determinaci jistých lidských znaků. Dnes se taky již stále častěji můžeme setkat s genetickým poradenstvím, zejména při plánování potomků a prevenci vrozených vývojových vad. Genetika se uplatňuje také při výzkumu rakovinného bujení, imunitního systému a imunitních reakcí i v mikrobiologickém výzkumu.

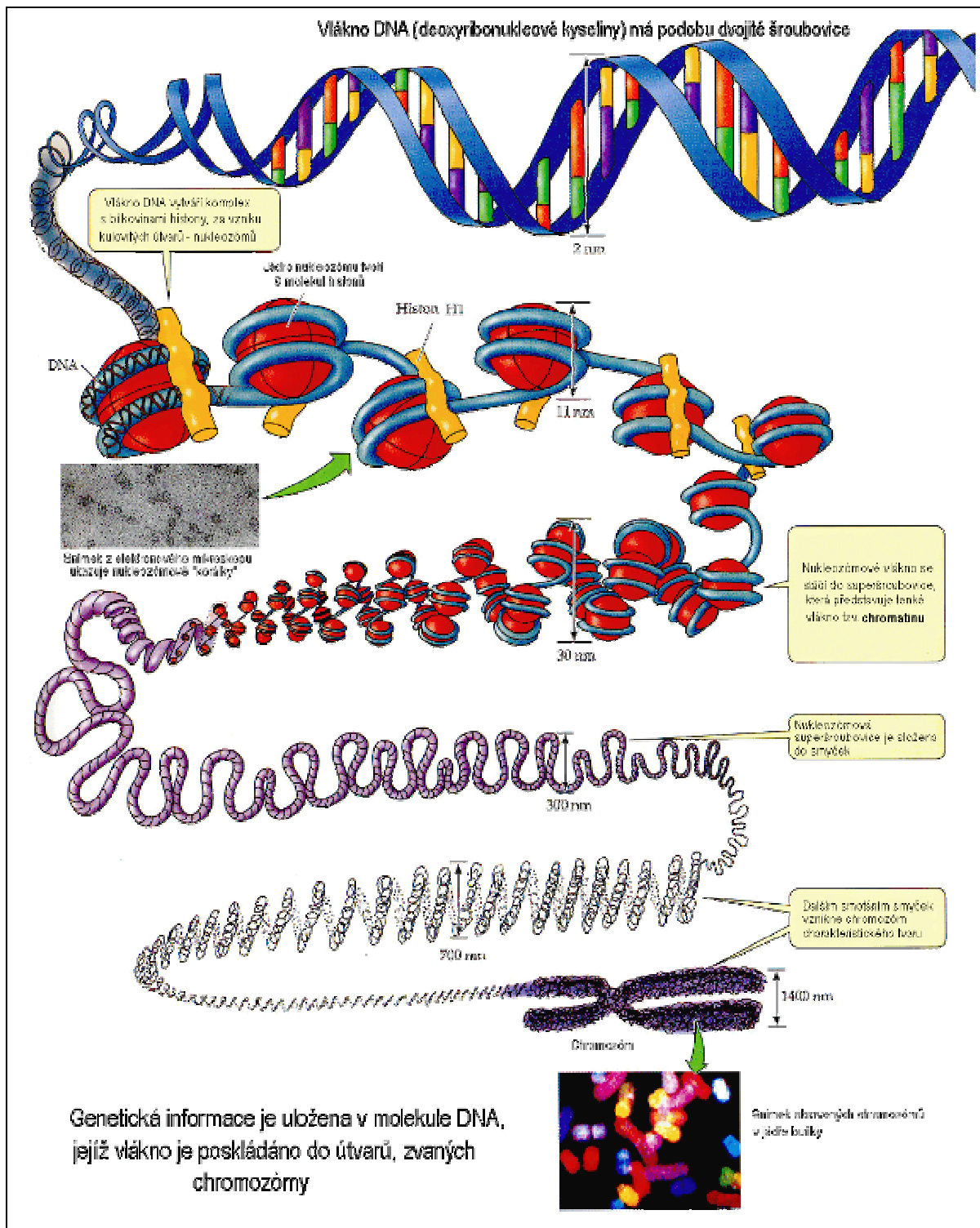
Genetika je jednou z nejdůležitějších teoretických věd z hlediska popisu jakékoli živé soustavy. U genetické informace je počátek každého současného živého organismu. Genetická informace určuje budoucí anatomickou stavbu organismu, určuje jaké látky budou účastníky biochemických a fyziologických procesů v organismu a je nepostradatelnou součástí pohlavního i nepohlavního rozmnožování.

Dnes již nelze opomenout význam genetiky ve forenzních metodách. Genetické testy pomáhají při usvědčování zločinců, při identifikaci tělesných ostatků nebo ztracených osob. V současné době také přichází do módy genetické testy otcovství.

Mezi podobory genetiky patří například: molekulární genetika, cytogenetika, imunogenetika, onkogenetika, populační genetika, klasická (mendelovská) genetika, genetika rostlin, bakterií, virů, evoluční genetika a lékařská (klinická) genetika.

V genetickém výzkumu se používá mnoho rozličných metod. Jde zejména o metody biochemické, fyzikální, mikroskopické, metody analytické chemie a bioinformatiky [6].

2.2 Schéma představy uspořádání genu je na obr. 1



Obr. 1 Vzhled genu [7]

## 2.3 Pojem genu

Gen je specificky uložená jednotka dědičné informace. Z molekulárního hlediska jde o úsek nukleové kyseliny se specifickým pořadím nukleotidů [2]. Nukleotidy jsou fosforylované nukleotidy, tedy látky složené z nukleové báze, pětiuhlíkatého monosacharidu a jedné nebo více zbytků kyseliny fosforečné [10]. Jako pseudogen označujeme "mrtvý" gen, který není aktivní a jehož informace není realizována [2].

Geny můžeme rozdělit podle jejich účinnosti při realizaci dědičného znaku na:

- a) Monogenní geny velkého účinku – na tvorbě znaku se podílí málo genů (často jen jeden); většinou jde o znak kvalitativní. Jsou rozhodující pro monogenní typ dědičnosti.
- b) Polygenní geny malého účinku – na tvorbě znaku se podílí více genů, nezanedbatelný je i vliv vnějšího prostředí; většinou ovlivňují kvantitativní znaky. Jsou rozhodující pro polygenní typ dědičnosti [3].

Dále se geny dělí podle jejich funkce:

- a) Strukturní – kódují strukturu bílkoviny.
- b) Regulační – podle nich vytvořené bílkoviny regulují expresi strukturních genů, ovlivňují diferenciaci genů
- c) RNA geny – dle nich se syntetizuje tRNA a rRNA (viz. strana 16) [11]

## 2.4 Vazba a umístění genu

Geny jsou uloženy na chromozomech za sebou. Každý gen má své unikátní místo na určitém chromozomu - toto místo se označuje jako genový lokus.

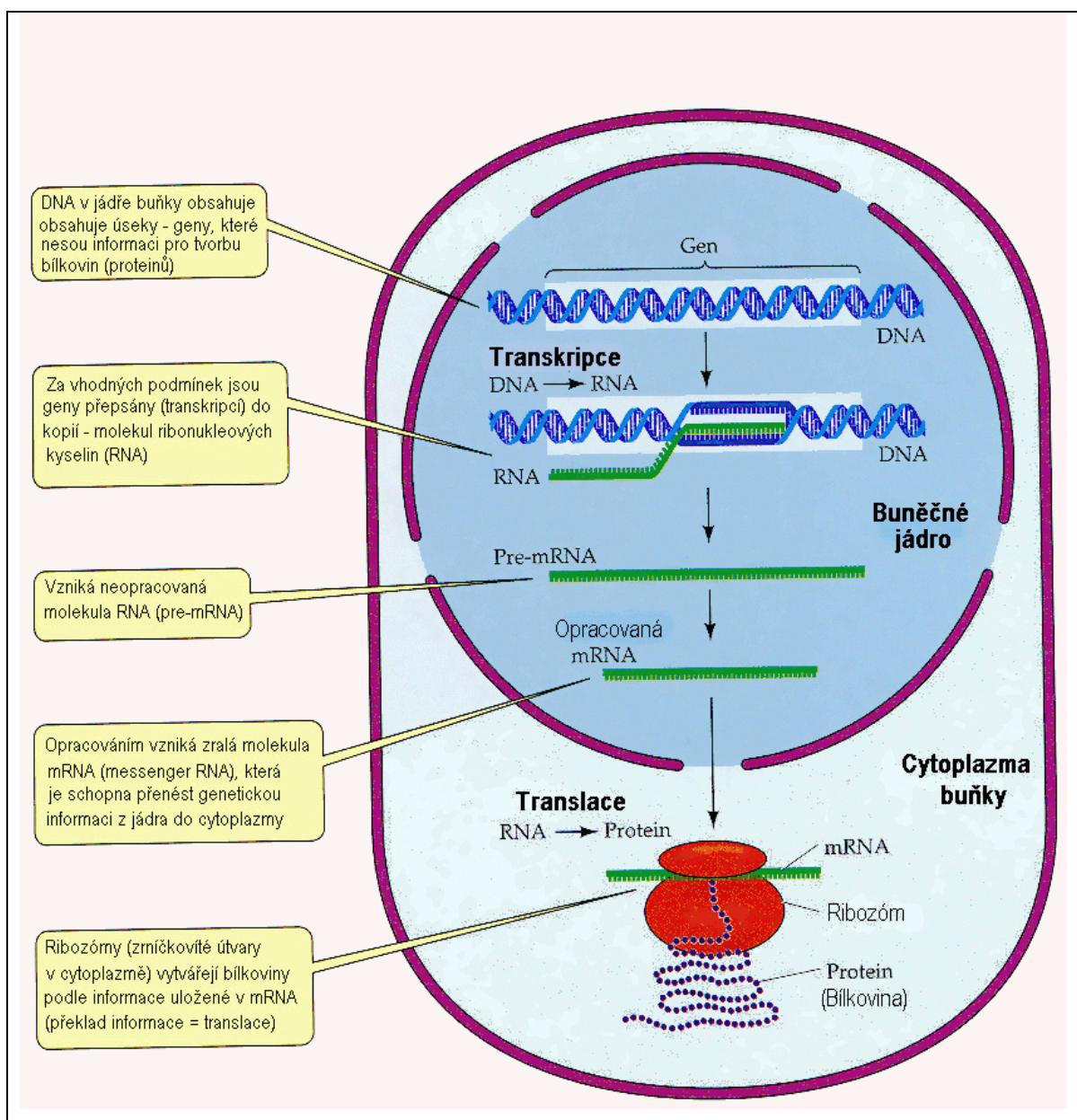
Podle Mendelova zákona o nezávislé kombinovatelnosti alel se dva různé geny dědí nezávisle na sobě. To ovšem zcela platí pouze o genech uložených na různých chromozomech. Geny, uložené na jednom chromozomu, by se tedy měly dědit společně. Ani to však nemusí být pravda - díky procesu zvanému *crossing-over*. Jde o proces vzájemné rekombinace některých genů navzájem mezi párem homologních chromozomů během meiózy. Pravděpodobnost, se kterou proběhne *crossing-over* tak, aby se dva různé

geny z jednoho chromozomu přenesly nezávisle na sobě, označujeme jako sílu genové vazby.

Jako první se touto problematikou zabýval Thomas Hunt Morgan. Čím je vzdálenost mezi geny na chromozomu větší, tím je větší i pravděpodobnost rekombinace mezi nimi a síla genové vazby klesá. Naopak, pokud jsou oba sledované geny na chromozomu velmi blízko sebe, stoupá síla genové vazby a klesá pravděpodobnost rekombinace [2].

## 2.5 Funkce genů

Jak pracují geny (od DNA k tvorbě bílkovin) schématicky znázorňuje obr.2



Obr.2 Působení genů od DNA k tvorbě bílkovin [8]

## 3 MOLEKULÁRNÍ GENETIKA

### 3.1 Nukleové kyseliny

Nukleové kyseliny jsou nositelkami dědičné informace. Díky nim dochází k přenosu dědičných znaků na potomstvo a k evoluci. Nejdůležitější jejich schopností je schopnost replikace. Jejich základními stavebními jednotkami jsou tzv. nukleotidy. Nukleotidy se skládají z pentózy, ze zbytku kyseliny fosforečné a dusíkatých bází. Na cukr se váže v pozici 5' zbytek kyseliny fosforečné a v pozici 1' N-báze. V poloze 3' je pak pentóza připojena přes sousední zbytek kyseliny k sousední pentóze. Vzniká polynukleotidové vlákno [4].

#### 3.1.1 DNA (kyselina deoxyribonukleová)

Organismus se skládá z buněk, které jsou základem všech aktivit živých bytostí. A co je ještě důležitější, dovedou to všechno dělat samy (jednobuněčné organismy jsou schopné růst a rozmnožovat se, aniž by něco nebo někoho potřebovaly).

Každá buňka má mnoho funkcí a její funkci vykonávají bílkoviny. Bílkoviny jsou nutné pro přenos kyslíku, pro využívání cukrů, pro pohyb svalů a k dalším aktivitám. Bílkoviny se také účastní komplexních aktivit mozku, jako jsou pozorování, počítání, plánování...

Jak může bílkovina vědět, kterou bílkovinu k čemu potřebuje? Tato informace je uložena v DNA (kyselina deoxyribonukleová). Lze ji definovat jako úsek polynukleotidového řetězce vymezený funkcí. Její cukerná složka je 5C cukr 2-deoxy-D-riboza (oproti normální ribóze jí v poloze 2' chybí kyslík).

Každá buňka našeho těla obsahuje stejnou DNA. Přesto DNA každé buňky ví, jaké bílkoviny má vytvářet právě zde a právě teď. Dá se říct, že se jedná o geniální systém.

Jak už jsem se jednou zmínila, buněčné jádro obsahuje DNA, která se v době dělení sdružuje do chromozomů. Člověk má 46 chromozomů (23 jsem dostali od otce a 23 od matky) a v nich je uložena celá DNA. Každá buňka našeho těla obsahuje 22 párů chromozomů plus dva pohlavní chromozomy. Kdyby se tyto chromozomy uměle narušily, viděli bychom, že se skládají z dlouhých vláken DNA a že se tato DNA skládá ze čtyř základních jednotek: adenin (A), cytosin (C), guanin (G), thymin (T). DNA je tedy dlouhý text psaný v abecedě, která má jen čtyři písmena. Tato informace je rozdělena do menších úseků zvaných geny a ty dávají příkazy k výrobě bílkovin [4].

### 3.1.2 RNA (kyselina ribonukleová)

Její molekula je tvořena zpravidla jen jedním polynukleotidovým vláknem (existují i dvou řetězcové RNA, např. u některých virů). Sacharidovou složku tvoří 5C cukr D-ribosa, N-báze tvoří Adenin, Cytosin, Guanin a Uracyl (zařazován místo Thyminu). RNA (díky OH skupinám v poloze 2' i 3') může sama vykonávat i některé enzymatické funkce (štěpení esterové vazby, katalýza polymerace ...). Také díky tomu se usuzuje, že u prvních praorganismů byla nositelkou genetické informace právě RNA. RNA je narozdíl od DNA nestabilní v alkalickém prostředí.

Vyskytují se 3 základní typy RNA:

- a) mRNA – informační RNA. Přenáší informaci z jádra k místu proteosyntézy.
- b) tRNA – transferová RNA. Přenáší aminokyseliny na proteosyntetický aparát buňky.
- c) rRNA – ribozomální RNA. Tvoří stavební složku ribozomálních podjednotek [11].



## 3.2 Mutace

### 3.2.1 Obecně mutace

Mutace jsou změny v genotypu organismu oproti normálnímu stavu. Mutace vzniklé třeba díky chybě při replikaci DNA se nazývají mutace spontánní (dochází k nim bez zásahu z vnějšího prostředí). Pravděpodobnost jedné takové chyby se pohybuje je asi  $10^{-7}$ . Četnost těchto mutací je tedy velice nízká a navíc jsou buňky schopné do jisté míry tyto chyby díky reparačním enzymům likvidovat. Většina mutací je tedy tzv. indukovaných, tj. vyvolaných vnějšími mutagenními faktory.

Z hlediska klinické genetiky, jsou to právě mutace, které způsobují genetické choroby nebo nádorové bujení. Ovšem vzhledem k tomu, že jen malá část lidského genomu (asi 1,5%) skutečně kóduje proteiny, dochází k většině mutací v nekódujících oblastech (není tak závažné). Závažnější projev mají mutace v kódujících oblastech (viz dále - genové mutace) [5].

### 3.2.2 Mutace genové

Probíhají na úrovni vlákna DNA.

Z hlediska vlivu na proteosyntézu rozlišujeme:

- a) Mutace neměnicí smysl – které těží z degenerace genetického kódu, kdy je i přes mutaci zařazena stejná aminokyselina. Jsou způsobeny substitucemi na třetí pozici kodonu.
- b) Mutace měnicí smysl – které mění smysl polypeptidového vlákna. Jsou způsobeny zejména takovými substitucemi, které způsobí zařazení odlišné aminokyseliny při proteosyntéze.
- c) Nesmyslné mutace – které zapříčiní vznik předčasného terminačního kodonu v sekvenci DNA. Syntéza takového polypeptidu pak není dokončena a výsledkem je zcela nefunkční protein.

Mechanismy genových mutací jsou:

- Adice (inzerce)

Zařazení jednoho nebo více nadbytečných nukleotidových párů. Pokud je zařazen takový počet nukleotidů, který není celočíselným násobkem 3 ( $3n$ ), potom dojde k posunu čtecího

rámce a následně k syntetizování odlišného polypeptidu nebo k předčasnému ukončení proteosyntézy vznikem terminačního kodonu. U tohoto procesu dochází k prodloužení polypeptidového řetězce.

➤ Delece

Jde o ztrátu jednoho nebo více nukleotidů původní sekvence. Účinek je podobný jako u adicí, pouze místo prodloužení polypeptidového řetězce dochází ke zkracování.

➤ Substitute

Jde o náhradu původní báze bází jinou. Pokud jde o záměnu purinové báze za purinovou bázi, nebo o záměnu pyrimidinové báze za pyrimidinovou bázi - pak je tato substitute označena jako transice. Záměna purinové báze za bázi pyrimidinovou nebo naopak se označuje jako transverse. Následky substitute mohou být různé, podle toho, na které pozici kodonu k substituci došlo [5].

### 3.2.3 Mutace chromozomové

Dochází zde ke změně struktury nebo počtu chromozomů. Následky těchto odchylek závisí na tom, zda je i po strukturní přestavbě zachováno normální množství genetické informace. Pokud ne, potom dochází k fenotypovým projevům, které se odvíjejí od toho, která část genomu chybí nebo je strukturně poškozena, či naopak přebývá.

➤ Duplikace

Znásobení úseku chromozomu. Může být způsobeno nerovnoměrným crossing-overem, jehož následkem dojde na jednom chromozomu k duplikaci sledovaného úseku, zatímco na druhém je tentýž úsek deletován.

➤ Delece

Část chromozomu chybí. Deletován může být konec raménka nebo střední část některého z ramének chromozomu (intersticiální delece). Delece vznikají jako následek chromozomální nestability nebo nerovnoměrného crossing-overu (viz výše).

➤ Inverse

Při inversi dochází díky chromozomové nestabilitě k vyštěpení části chromozomu, jejímu převrácení a následnému napojení. Například následkem inverse na chromozomu s původní sekvencí A-B-C-D-E-F-G-H by byla sekvence A-B-F-E-D-C-G-H.

➤ Translokace

Při translokaci je část chromozomu vyštěpena z původního chromozomu a připojena k jinému chromozomu.

➤ Fragmentace

Vlivem silných mutagenů a vysoké chromozomální nestability dojde k rozpadu chromozomu na fragmenty. Buňka s takovýmto chromozomem se nemůže dále mitoticky dělit a může u ní být navozena apoptóza.

➤ Isochromozom

Jde o chromozom, který má pouze dlouhá, či naopak krátká raménka. Vzniká chybným mitotickým rozestupem chromozomů, kdy nedojde k rozestupu chromatid, ale do jedné dceřinné buňky se dostanou obě krátká raménka a do druhé obě raménka dlouhá.

➤ Ring chromozom

Pokud dojde u chromozomu k delecii konců obou ramének, může se tento chromozom stočit, koncové části se spojí a vznikne "kolečko" - tedy kruhový chromozom (ring chromosom) [5].

### 3.2.4 Mutace genomové

Dochází ke změně samotného genomu, většinou jde o znásobení celé chromozomové sady. Takovýto stav se nazývá polyploidie, jedinec je  $3n$  - triploidní,  $4n$  - tetraploidní nebo i více. Tento stav je relativně běžný u některých rostlin, u člověka. Běžně jsou polyploidní ty buňky, které mají více jader (např. svalové vlákno) nebo u buněk, kde je velmi vysoká metabolická aktivita, která vyžaduje velkou transkripční aktivitu (např. jaterní buňky). Druhým extrémem pak mohou být červené krvinky, které jako terminální buňky nemají jádro a postrádají tak jadernou genetickou informaci [5].

## 3.3 Mutageny

Mutageny jsou látky, které jsou schopny způsobovat mutace. Z klinického hlediska jde o nežádoucí produkty vnějšího prostředí, které mohou poškodit genetickou informaci. U dospělého člověka mohou některé mutageny působit jako karcinogeny a způsobit tak zhoubné bujení. Pokud mutageny způsobí mutace pohlavních buněk, bude potomek rodičů postižen příslušnou dědičnou chorobou či chromozomovou aberací. Zároveň některé

mutageny mohou účinkovat i jako teratogeny a způsobit tak poruchy prenatálního vývoje jedince.

Mutace se i využívá k pokusům na modelových organismech. Experimentálně se testují i potenciaální mutagenní účinky nových chemických látek [5].

Mutageny dělíme na:

Fyzikální – UV záření, ionizující záření (může způsobit chromosomové zlomy) [5]

Chemické – mutagenní neboli genotoxické účinky mají mnohé chemické látky, s nimiž se setkáváme v běžném životě. K nejběžnějším a nejnebezpečnějším patří polycyklické aromatické uhlovodíky (vznikají jako produkt spalovacích procesů). Při vstupu do organismu dochází k jejich metabolické přeměně na reaktivní produkty. Jejich molekuly se vážou na báze nukleových kyselin a vytvářejí s nimi kovalentní vazbu. Dále sem patří barviva, organická rozpouštědla, některé dříve používané látky (součástí hnojiv, léčit, herbicidů), bojové látky (yperit) [3]

Biologické – viry [5]

### **3.4 Onkogenetika**

K obávaným onemocněním patří nádorové choroby – rakovina. Statistiky ukazují, že zhoubné novotvary jsou po srdečních a cévních chorobách druhou nejčastější příčinou úmrtí. Nelze se proto divit, že se lékaři snaží vypátrat její příčiny a vyvinout nové terapeutické postupy. Výzkum je však velmi složitý, protože nádorová onemocnění jsou velmi různorodé. Je třeba nádory odlišit podle lokalizace v jednotlivých orgánech a tkání, podle období, kdy se vytvářejí, podle průběhu a závažnosti onemocnění a podle mnoha dalších hledisek [3].

#### **3.4.1 Vznik a růst nádoru**

Vznik nádorového onemocnění je mnohastupňový proces. Ve skutečnosti je třeba i 5 či 6 zásahů do normálního stavu buňky, aby se změnila na buňku rakovinnou.

Nádorové buňky se od normálních buněk liší zejména:

- Schopností neomezeného růstu
- Schopností růstu i bez stimulace růstovými faktory

- Nesmrtelností (nádorové buňky se nedělí jen po omezený počet generací jako normální buňky)
- Tvorbou určitých membránových antigenů, specifických pro nádorové buňky. Naopak tvorba normálních antigenů může být potlačena.
- Pro nádorové buňky je typická vysoká chromozomální nestabilita. Nádorové buňky mají často změněný počet chromozomů a vykazují i časté chromozomální přestavby.

V živém organismu je růst nádoru zpočátku prudký, později se zpomaluje. Největším nebezpečím u zhoubných nádorů je jejich schopnost metastázovat. Metastázování je schopnost nádorových buněk cestovat lymfatickým nebo krevním řečištěm z místa prvotního nádorového ložiska, uchytit se a na novém místě vytvořit sekundární nádorové ložisko. Dochází tak k šíření nádorových buněk po celém těle [3].

### 3.4.2 Onkogeny a protoonkogeny

Genů, jejichž mutace může vést ke karcinogenezi, je velké množství. Významnou skupinou jsou onkogeny. Dříve se předpokládalo, že se jedná o úseky virové DNA, které se zařadily do geonomu hostitelské buňky a způsobily její transformaci. Onkogenita byla však prokázána jen u několika virů, zatímco onkogeny byly zjištěny i u prokazatelně zdravých osob [3].

**Protoonkogeny** jsou geny, které plní svoji obvyklou funkci a nemají žádné negativní vlivy na buňku. Je však třeba si uvědomit, že i normální vliv protoonkogenů je většinou promitotický (tedy podporující dělení buňky).

**Onkogeny** jsou tytéž strukturní geny, ale již určitým způsobem mutované. Jejich vliv na buňku je čistě negativní ("rakovintvorný"). Ačkoliv se v genomu buňky každý gen vyskytuje ve dvou kopiích, u protoonkogenů stačí mutace v jedné kopii genu k odstartování maligní transformace.

Protoonkogeny kódují především:

- Různé růstové faktory a jiné látky, ovlivňující růst buněk
- Receptory pro růstové faktory
- Faktory zúčastněné při přenosu signálu v buňce (transdukční mechanismy)

- Faktory zúčastněné při regulaci genové exprese (transkripční faktory)

Připomeneme si, že základní osa regulace buněčného růstu a dělení je tato:

Syntéza růstového faktoru → růstový faktor → příslušný receptor → přenos biosignálu z receptoru → výkonné mechanismy, často interagující s jadernou DNA → výsledné ovlivnění buněčného cyklu

Jak vidíme, mutace protoonkogenu tak může tento proces narušit v kterékoli jeho fázi.

Nejčastěji u protoonkogenů dochází k těmto typům mutací:

- Bodovým mutacím, které naruší původní sekvenci nukleotidů a způsobí zařazení odlišné aminokyseliny nebo předčasné ukončení translace (vznik STOP kodonu)
- Chromosomovým přestavbám, kdy dochází k narušení sekvence genu, nebo k přemístění genu k vysoce aktivní promotorové sekvenci (gen bude přepisován mnohem častěji než za normálních podmínek)
- Znásobením sekvence genu v genomu buňky [12]

### 3.4.3 Tumor - supresorové geny

Potlačují vznik nádorového onemocnění. Jejich prvotní funkcí je tedy regulace buněčného cyklu, čímž zabraňují, aby se buňka začala nekontrolovaně dělit. Na rozdíl od onkogenů, musí být obě kopie tumor - supresorového genu v buňce vyřazeny z funkce, aby mohlo dojít k procesu maligní transformace. Tyto geny hrají důležitou roli při dědičnosti nádorových onemocnění. V normální zdravé buňce je zapotřebí, aby mutace postihla postupně obě kopie konkrétního tumor - supresorového genu. Pokud však jedinec po některém z rodičů zdědí již jednu kopii tumor - supresorového genu mutovanou, potom stačí aby mutace postihla jen jednu kopii genu - tu zdravou (V této souvislosti se hovoří o tzv. *Knudsonově teorii dvojího zásahu*, kdy prvním zásahem je myšleno "zdědění" první mutované kopie po některém z rodičů a jako zásah druhý je označována mutace druhé kopie genu v průběhu života). Lidé s těmito dědičnými předpoklady mají znatelně zvýšenou šanci, že u nich dojde k rozvoji určitého nádorového onemocnění [12].

## 4 GENOVÉ INŽENÝRSTVÍ

Spočívá v přidávání nebo ubírání určitých úseků DNA a uplatňuje se v řadě odvětví a technologií [2].

### 4.1 Genová terapie

**Genová terapie** znamená vpravení genetické informace do buněk za účelem léčebného účinku. Dosud převažují její aplikace při cyklické fibróze a nádorových onemocnění, vyplývajících z mutací konkrétních genů. Nové znalosti nám umožňují nejen zlepšovat stávající léčebné postupy, ale dávají i naději do budoucna, kdy snad budeme schopni léčit přímo příčinu dědičných onemocnění. Genová terapie bude v budoucnosti možná léčit i většinu nádorových onemocnění.

Co vlastně musí být splněno, abychom mohli zahájit genovou terapii?

- Musíme znát přesnou příčinu genetické choroby. Tedy musíme znát přesný gen(y), jeho umístění, povahu produktu a hlavně mechanismus patologického účinku. Také je potřeba znát přesné sekvence zdravého genu. Pro současnou experimentální genovou terapii jsou vybírány choroby, pro které jiná léčba neexistuje a které mají velmi těžký, často letální průběh.
- S ohledem na výše uvedené požadavky musíme mít správně vytvořenou strategii genové terapie. Pokud je patologický nedostatek genového produktu, potom stačí dodatečné zařazení nemutovaného genu kamkoliv do genomu příslušných buněk. Pokud však patologicky působí pozměněný produkt mutovaného genu, potom je nutné buď opravit mutovaný gen nebo zablokování tohoto genu.
- Součástí strategie je i volba vhodného vektoru (nosiče) a vytipování cílových buněk genové terapie.
- Genová terapie se může pouze provádět, pokud je úspěšně otestována a schválena k použití. K podstoupení experimentální terapie je vždy potřeba souhlas pacienta (či jeho zákonného zástupce). Pro užití genové terapie budou v budoucnosti pravděpodobně přijaty zákonné i podzákonné normy [13].

Samotné provedení genové terapie zahrnuje:

- Vytvoření genetické informace (metodami rekombinantní DNA), která je určena pro transport do buněk.
- Vytipování buněk, do kterých bude upravená genetická informace vnesena. Genová terapie se může provádět jak *in vivo* (kdy jsou cílové buňky po celou dobu součástí organismu), tak *in vitro* (kdy jsou cílové buňky z těla organismu nejprve odebrány a po provedení genové terapie opět vráceny na své místo v organismu).
- Výběr vhodného vektoru (nosiče), který bude použit pro vpravení genetické informace do cílových buněk. Možností je mnoho - např. mechanické metody (mikrojehly), chemické či fyzikální metody (specifickým způsobem umožní průnik gen. informace cytoplazmatickou membránou), samotná DNA či DNA v komplexech s různými molekulami. V současnosti se však nejvíce využívá virových vektorů (jde zejména o adenoviry a retroviry, které mají schopnost inserce své gen. informace do genomu hostitelské buňky). Do virových kapsid je zabudována terapeutická gen. informace (virová gen. inf. je odstraněna) a virové vektory jsou aplikovány.
- Po provedení genové terapie je třeba pacientův stav pečlivě monitorovat a všimnout si jak zlepšování zdravotního stavu, tak i nástupu případných komplikací [13].

Nevýhody genové terapie

Jak je vidět, genová terapie přináší spoustu výhod. Existují však i stinné stránky této metody. Jsou to například:

- Velmi vysoká finanční náročnost takovéto terapie.
- Technická a technologická náročnost.
- Nízká úspěšnost terapie, pokud jsou problémy s "uchycením" vnášené genetické informace.
- Při použití virových vektorů je genetická informace do genomu vložena víceméně náhodně. Vnesený gen tak může narušit sekvenci jiného genu
- Etická problematičnost [13]

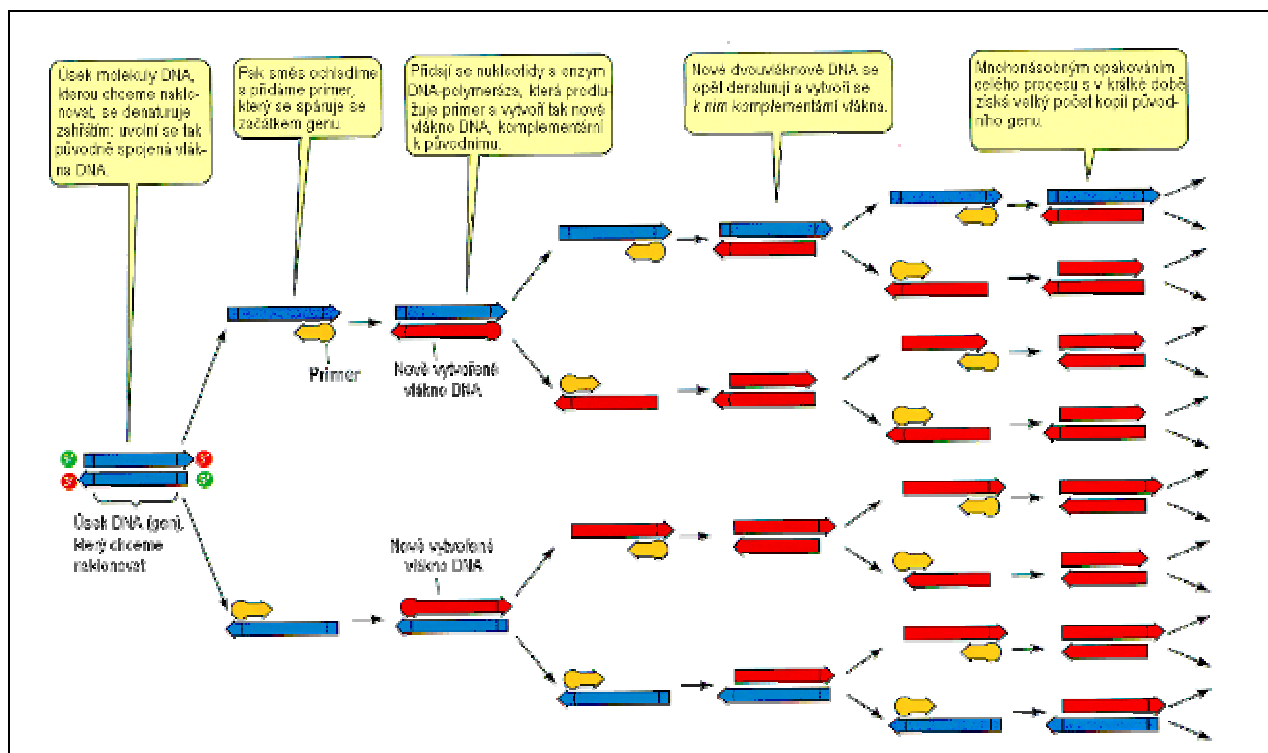


## 4.2 Klonování

Klon je množina jedinců o zcela shodném genotypu. Klonování rostlin běžné po staletí a náleží ke klasickým metodám šlechtění rostlin. Je snadné, protože i vyšší rostliny lze rozmnožovat nepohlavně. Metoda je prakticky nesmírně výhodná, protože na rozdíl od rozmnožování pohlavního, tedy semeny, zaručuje, že potomci budou ve všech znacích shodní s rostlinou rozmnožovanou – klonovanou. Je samozřejmě stejně snadné klonovat i nižší živočichy [3].

### 4.2.1 Jak naklonujeme zvolený gen?

Chceme-li pracovat s určitým genem, musíme si pořídit větší počet kopií. Takové naklonování genu umožňuje metoda zvaná polymerázová řetězová reakce (označuje se anglickou zkratkou PCR). K tomu potřebujeme zjistit pořadí několika málo nukleotidů na začátku zvoleného genu a poté chemickou cestou nesyntetizujeme tzv. primer – krátký úsek DNA, který je komplementární k začátku klonovaného genu (tj. má takové pořadí nukleotidů, aby se s ním pároval). Pomocí enzymu (teplotně odolné DNA-polymerázy) se gen naklonuje (obr.3) [3].



Obr.3 Postup při klonování genu [9]

### 4.3 Geneticky modifikované organismy (GMO)

Kromě klonování organismů se uplatňují také metody založené na přenosu genů mezi různými organismy. Původně se předpokládalo, že se geny přenášejí pouze vertikálně – z rodičů na potomky. Studium virů však prokázalo možnost horizontálního přenosu, kdy dochází k výměně genetického materiálu mezi různými organismy [4].

Procesy, kterým vnášíme do buňky cizí úsek DNA:

- **Transdukce**, kdy vnášíme do buňky cizí úsek DNA včleněný do virového genoforu
- **Transformace** se provádí zejména u bakterií a kvasinek. Cizí gen je uměle začleněn do plazmidu. Jeho vstup do nitra buněk umožňuje působení elektrického pulzu o vysokém napětí, kdy se na buněčné stěně bakterie vytvoří póry a plazmidová DNA vnikne dovnitř.
- **Transgenozé** je přenos cizího genu do buňky. Transgenní organismus je geneticky modifikovaný [4]

#### 4.3.1 Co jsou to GMO

Jako GMO lze označit produkty genové manipulace v rostlinném či živočišném organismu. Tato modifikace spočívá v přenesení určitého genu s charakteristickou vlastností z jednoho organismu na druhý, přičemž v přírodě lze přenášet geny pouze jen mezi velmi příbuznými organismy. V rámci genového inženýrství je však možné přenášet geny i mezi geneticky zcela rozdílnými jedinci. Je tak možné překonat mezidruhové reprodukční bariéry a obohatit geomy organismů o nové geny.

Konečným cílem genových manipulací jsou zejména:

- a) Zvýšit výnosy, odolnost, nutriční hodnotu zemědělských plodin
- b) Zvýšit produkci hospodářských zvířat, drůbeže, ryb
- c) Zlepšit chuť, kvalitu, trvanlivost potravin
- d) Připravit léčiva a jiné biopreparáty ve vyšším množství a kvalitě
- e) Vypěstovat mikroorganismy vhodné pro ekologické čištění vody, půdy, popř. jiných složek životního prostředí [4]

### 4.3.2 Přenos genů

Gen je pro lidské oko neviditelný. Abychom jej viděli, musíme použít největšího zvětšení, jakého je elektronový mikroskop schopen. Ani s jeho pomocí však nevíme, kde je který gen na DNA umístěn. Proto se nedají geny přenášet jednoduše.

Příklad postupu přenosu genu do bakterie je následující:

- 1) Bakterie obsahují malé kružnicové molekuly DNA nazývané plazmidy.
- 2) Tyto uzavřené molekuly mohou být přerušeny (otevřeny) pomocí proteinů.
- 3) Otevřené plazmidy se ve zkumavce smísí s kousky DNA, které chceme vložit. Některé se „přilepí“ na místo přerušení plazmidu a jiné enzymy umožňují pak přilepený úsek připojit a plazmid opět uzavřít.
- 4) Poté je plazmid, který nyní obsahuje úsek s novou informací, vnesen zpět do bakterie.

Ne všechny rostliny jsou schopny plazmid agrobakterie přijmout. Pak se používá drastičtější metoda – genové dělo. Nepatrné částičky zlata či wolframu slouží jako náboje a obalí se DNA s geny, které se mají přenést. Pak se „vstřelí“ do rostlinných buněk pomocí miniaturního „děla“. Náboje putují vysokou rychlostí, a tak proniknou buněčnými stěnami.

Vědci vyvinuli techniku, která umožňuje zjistit, zda buňka gen přijala. Ke genu, který má být vnesen, se připojí značka (marker). To je krátký úsek DNA (další gen), který pomůže rozpoznat transformované buňky. Markerový gen způsobuje v transformovaných buňkách tvorbu bílkoviny, která po ozáření modrým světlem fluoreskuje, nebo jiné bílkoviny, která jako enzym přeměňuje bezbarvou látku na barevnou [4].

### 4.3.3 První GMO

Mnoho bílkovin používaných v lékařství se nedalo získat jinak než z biologických zdrojů, jako jsou orgány zvířat, lidské tělní tekutiny, lidské orgány a tkáně. Proces výroby je někdy velmi drahý a pracný. Hlavně hrozí nebezpečí, že tyto proteiny nejsou zcela čisté (AIDS, hepatitis B...).

Tyto lékařsky významné bílkoviny mohou také syntetizovat mikroorganismy (bakterie, kvasinky). Geny, které řídí jejich tvorbu, se včlení do buněk bakterií či kvasinek způsobem, který je popsán výše. Mikroorganismy se kultivují ve velkých fermentorech v tekutých živých roztocích a do nich požadovanou bílkovinu většinou přímo uvolňují.

Z nich se snadno izoluje. Takto získaná bílkovina je zcela totožná s původní, i když byla vytvořena GMO, a hlavně nemůže přenášet původce lidských chorob. Výroba je mnohem levnější.

První bílkovinou vytvořenou touto cestou byl v roce 1976 inzulin. Inzulin je bílkovinný hormon, které lidské tělo musí nutně mít. Diabetici jej nemohou sami vyrábět, proto do jeho objevu umírali. Dnes je inzulin připravován z GMO, bakterií nebo kvasinek. Má nejen tu výhodu, že je dostupný v libovolném množství, ale nemůže obsahovat žádné živočišné patogeny škodlivé pro člověka [4].

#### **4.3.4 Nebezpečí konzumace GMO?**

Všechny živé organismy mají geny (DNA). Geny jsou v naší stravě vždy přítomny – v zelenině, ve vejci, v jablku a také v bakteriích, které každé jídlo obsahuje – hygienická norma připouští až sto tisíc bakterií v gramu potravin ( bakterie má průměrně 3000 genů). Tedy kdo jí, jí DNA.

V každém jídle sníme asi čajovou lžičku DNA. Geneticky modifikované jídlo obsahuje DNA přenesené z jiného organismu (objemově asi tisícinu špendlíkové hlavičky). Dlouhé řetězce genů se v žaludku rozloží na menší fragmenty, které se stráví. Je naprosto nepravděpodobné, že by některý gen zůstal neporušený. Kromě toho je prakticky nemožné, aby naše střevní bakterie takový neporušený gen přijaly.

Přesto se právě toho odpůrci GMO obávají, jaké důsledky by včlenění takového transgenu do bakterií mělo. Co kdyby to byl gen vykazující odolnost k antibiotikům?

Zvířata jedí DNA stejně jako člověk. Kráva, která dává mléko konzumuje DNA. DNA se nepřesouvá z trávy do mléka ani do masa, je strávena. Není tedy možné, abychom „polkli“ DNA transgenu, když pijeme mléko od krávy, krmené transgenní kukuřicí.

Nejpřísnější výzkumy prokázaly, že GMO nepředstavují vyšší riziko než tradičně vyšlechtěné rostliny, které se prodávají [4].

#### **4.3.5 Riziko pro prostředí v důsledku přítomnosti GMO**

První genetická modifikace vznikla v laboratoři na počátku 70. let. Od té doby se lidé zajímají o to, jaké mohou být vlivy GMO na přírodu.

Možná rizika jsou následující:

- 1) **Geny se uvolňují do přírody pylem** – geny se mohou takto přenášet z jedné rostliny na druhou. Je to možné mezi kulturními rostlinami a jejich planými příbuznými, což by mohlo vést ke vzniku plevelných rostlin, které by se velmi obtížně hubily. Transgenní pyl by mohl opylovat i plané rostliny příbuzného druhu. Potomstvo takovéto rostliny by pak mělo některé vlastnosti transgenní rostliny. Je třeba se křížení vyhýbat. U některých plodin, jako jsou brambory, kukuřice, rajče, se u nás nevyskytují plané příbuzné rostliny, se kterými by se mohly křížit. Řepka, trávy a mrkev u nás plané příbuzné mají. Může dojít k přenosu genů. Technika transgenozy jde kupředu a má způsob, jak přenosu transgenů pylem zabránit – transgen se přenesne ne do jaderné DNA, ale do DNA plazmidů – třeba chloroplastů.
- 2) **Geny se do přírody přenášejí semeny** – jestliže se v přírodě šíří transgenní semena, mohou se z nich vyvinout velmi životaschopné rostliny a mohou vytlačit přírodní druhy.
- 3) **Invazní rostliny** – při sklizni dojde ke ztrátám části semen a hlíz. Další rok z nich mohou vyrůst nové rostliny. Jestliže rostliny zesílí v důsledku své nové vlastnosti, bude možná těžší je v dalším roce odstranit. Mohou dokonce omezovat ostatní rostliny na poli.
- 4) **Vývoj rezistence** – plevele i hmyz si mohou vyvinout odolnost k pesticidům, které se proti nim po dlouhou dobu užívají. Plevely se mohou stát odolné k herbicidům, hmyz k insekticidům. Situace je stejná u transgenních rostlin.
- 5) **Hubení neškodných organismů** – předpokládá se, že rostliny odolné ke škůdcům budou ničit pouze škůdce. Ale je vždy možné, že i jiné, a to užitečné organismy žijící na transgenních rostlinách nebo v jejich kultuře. Budou rovněž přicházet do kontaktu s toxinem, což je může poškodit [4].

#### 4.3.6 Legislativa o GMO

V EU se transgenní rostliny nesmí uvádět do životního prostředí, ani se nesmí prodávat bez předchozího povolení. Činnosti s transgenními rostlinami se povolují teprve po pečlivé analýze rizika.

Směrnice EU zavedly bezpečnostní pravidla, podle nichž biotechnologové musí žádat o povolení dokonce opakovaně v různých fázích projektu:

- 1) V laboratoři
- 2) Ve skleníku
- 3) Na pokusném poli – testování na pokusném poli je považováno za uvádění do životního prostředí.
- 4) Produkční pěstování – znamená uvádění na trh.

Používání GMO je v České republice regulováno zákonem již od roku 2001, v současné době je to zákon č. 78/2004 Sb., o nakládání s modifikovanými organismy a genetickými produkty.

Nikdo, ani genetici, nemůže předpovědět, jaké budou vlivy transgenního zemědělství za 20, 100 nebo 500 let. To platí ale i pro rostliny šlechtěné tradičním způsobem. Rozdíl je v tom, že GMO musí splňovat velmi přísná kritéria, zatímco rostliny šlechtěné tradičními metodami se mohou pěstovat, aniž by podléhaly testům na nebezpečnost pro prostředí a bezpečnost při použití v potravinářství [4].

## ZÁVĚR

Popsaná tematika popisuje závažnou problematiku nových (a zejména v budoucnu realizovatelných) technologií. Jsou uvedena základní fakta nezbytná pro pochopení tohoto oboru a jednotlivé vazby mezi těmito pojmy. Je možno říci, že genové technologie představují skutečnou budoucnost biotechnologií, protože vystihují zásadní obrat v možnostech genové „úpravy“ buněk nejrůznějších organismů. V blízké budoucnosti lze odhadovat prudký vývoj znalostí tohoto oboru, s podmínkou realizovaného praktického výzkumu. Předpověď vývoje směrů bude vlastně obsahem budoucích let, které můžeme nazvat érou genetiky (zejména molekulární). Průlom znamená v nedávné době nalezený popis lidského genomu, kde je snaha o popsání genů kritických pro nejčastější (zejména civilizační) choroby člověka. Řešením těchto otázek mimo problémy technické, bude nutno vyřešit také problémy etiky. V posledních letech rozvoj asistované reprodukce člověka bude doprovázen genovou diagnostikou (volba pohlaví, zárodku, vytipování potenciálních chorob). Tato tzv. humánní genetika musí být ale v první řadě založena na podrobné informovanosti lidí. Nesmíme také zapomenout na tolik diskutované klonování člověka, protože tato skutečnost přinese pravděpodobně mnohem závažnější diskuze a námítky široké veřejnosti. Progresivní technologie (tedy i genové inženýrství) přinesou kvalitativně nové typy léčiv, které budou syntetizovány s ohledem na choroby se známým genovým pozadím. Molekulární genetika umožní totiž přesně určit individuální genový stav a tedy s vysokým stupněm jistoty předepsat optimální lék. Budoucnost přinese také zcela nové technologie v přípravě očkovacích látek jako prevence řady chorob. Můžeme říci, že současný vývoj genových technologií je tak spontánní, že předpovídání jeho budoucnosti se v řadě ohledů podobá fantastickým představám. Z uvedených skutečností lze vyvodit často citovaný závěr: „Lidé si po dlouhá staletí mysleli, že jejich budoucnost je ve hvězdách; dnes však víme, že budoucnost je v jejich genech“.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] STEVE Jones, BORIS Van Loon. *Genetika*. Praha: Portál, 2003.  
ISBN 80-7178-708-6
- [2] ŠMARDA Jan. *Genetika*. Praha: Fortuna, 2003. ISBN 80-7168-851-7
- [3] KOČÁREK Eduard. *Genetika*. Praha: Scientia, spol. s r.o., pedagogické nakladatelství, 2004. ISBN 80-7183-326-6
- [4] CUSTERS René a kolektiv. Průvodce biotechnologiemi: Biotechnologie v zemědělství a v potravinářství. Praha: Academia, 2006. ISBN 80-200-1350-4
- [5] Mutace: Molekulární genetika [online]. 2007 [cit. 2008-03-16].  
Dostupný z WWW: <<http://genetika.wz.cz/oddil2.htm>>
- [6] Genetika: Základy genetiky [online]. 2007 [cit. 2008-03-15].  
Dostupný z WWW: <<http://genetika.wz.cz/oddil1.htm>>
- [7] Jak vypadají geny [online]. 2008 [cit. 2008-03-15].  
Dostupný z WWW: <<http://www.szeshb.hbnet.cz/serial.htm>>
- [8] Jak pracují geny: [online]. 2008 [cit. 2008-03-15].  
Dostupný z WWW: <<http://www.szeshb.hbnet.cz/serial.htm>>
- [9] Postup při klonování genu: [online]. 2008 [cit. 2008-03-15].  
Dostupný z WWW: <<http://www.szeshb.hbnet.cz/serial.htm>>
- [10] Nukleotidy: Wikipedia, otevřená encyklopedie [online]. 2008 [cit. 2008-03-16].  
Dostupný z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Nukleotidy>>
- [11] DNA & RNA: Molekulární genetika [online]. 2007 [cit. 2008-03-16].  
Dostupný z WWW: <<http://genetika.wz.cz/oddil2.htm>>
- [12] Onkogenetika: Klinická genetika [online]. 2007 [cit. 2008-03-21 ].  
Dostupný z WWW: <<http://genetika.wz.cz/oddil5.htm>>
- [13] Genová terapie: Genetické inženýrství [online]. 2007 [cit. 2008-03-22].  
Dostupný z WWW: <<http://genetika.wz.cz/oodil8.htm>>



[14] Historie [online]. 2008 [cit. 2008-03-15].

Dostupný z WWW: <<http://www.genscan.com/view/prekvapive-zjisteni-jen-samotne-geny-na-dedicnost-zdaleka-nejaci>>

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

DNA	Deoxyribonukleová kyselina
RNA	Ribonukleová kyselina
mRNA	Informační RNA
tRNA	Transferová RNA
rRNA	Ribozomální RNA
UV	Ultrafialové záření
PCR	Polymerázová řetězová reakce
GMO	Geneticky modifikované organismy
EU	Europe Union (Evropská Unie)
Sb.	Sbírka zákonů

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obr. 1 Vzhled genu</i> .....	12
<i>Obr. 2 Působení genů od DNA k tvorbě bílkovin</i> .....	14
<i>Obr. 3 Postup při klonování genu</i> .....	25