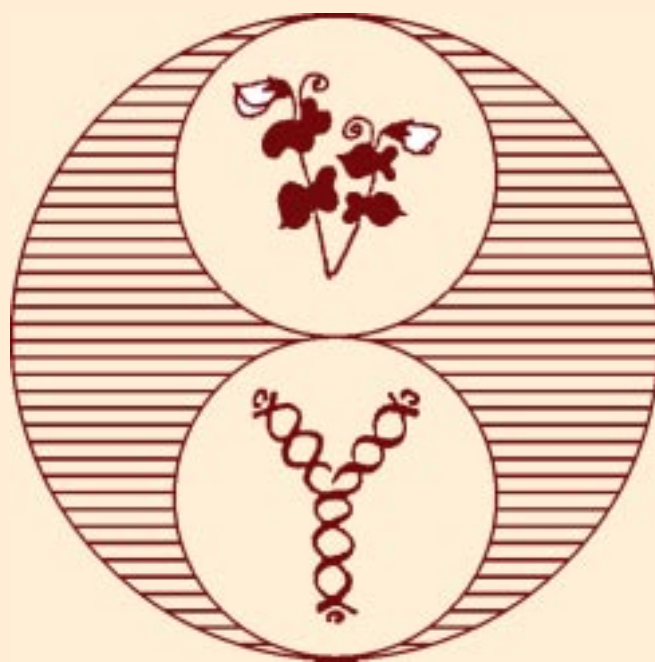


**GENETICKÁ SPOLEČNOST GREGORA MENDELA**

# **INFORMAČNÍ LISTY**



**Číslo 24**

**Únor 2002**

## OBSAH

<b>Genetická konference .....</b>	<b>1</b>
<b>Program konference .....</b>	<b>2</b>
<b>Abstrakta plakátových sdělení .....</b>	<b>3</b>
<b>Seznam účastníků konference .....</b>	<b>43</b>
<b>Seznam firem, které se podílely na financování Genetické konference .....</b>	<b>49</b>

\*\*\*

---

*Informační listy*  
číslo 24, únor 2002  
Vydává Genetická společnost Gregora Mendela  
Redakční rada - Výbor GSGM  
Výkonný redaktor - Doc. RNDr. Jiří Doškař, CSc.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity v Brně  
Kotlářská 2, 611 37 Brno

ISSN 1210-6267

# **Genetická konference**

## ***Perspektivy genetiky – genomy a genová exprese***

**pořádaná Genetickou společností Gregora Mendela**

**ve spolupráci s**

**Katedrou genetiky a molekulární biologie  
Přírodovědecké fakulty MU v Brně**

**5. - 6. února 2002 v Brně**

---

***Místo konání:* Kongresové centrum Masarykovy Univerzity v Brně,  
Komenského nám. 2**

***Organizační výbor:* Jana Řepková, předsedkyně**

**Jiří Doškař**

**Karel Chroust**

**Jana Kailerová**

**Kateřina Káňová**

**Petr Kuglík**

**Zdeňka Kyjovská**

**Pavel Lízal**

**Helena Machová**

**Roman Pantůček**

**Jiřina Relichová**

**Vladislava Růžičková**

# Program konference

## 5. 2. 2002

8.30 – 10.00 Registrace účastníků

10.00 – 10.10 Přivítání účastníků (prof. J. Slovák, děkan PřF)

10.10 – 10.30 Zahájení a úvodní slovo (prof. S. Zadražil, předseda GSGM)

*Předsedající: prof. S. Zadražil*

10.30 – 11.20 doc. V. Vondřejš, T. Cápál: Genomy, proteomy a priony kvasinek  
přestávka na kávu

11.40 – 12.30 doc. J. Nosek: Lineární genofory  
oběd

*Předsedající: prof. D. Vlček*

13.40 – 14.30 doc. V. Ferák: Lidský genom  
přestávka na kávu

14.50 – 15.40 prof. K. Michalová: Současné trendy v klinické a onkologické cytogenetice

15.40 – 15.50 Prezentace firmy Roche Molecular Biochemicals

16.00 Valné shromáždění členů GSGM

19.00 Přátelské posezení v univerzitním klubu (rektorát MU Žerotínovo nám. 9)

## 6. 2. 2002

8.00 – 9.00 Postery

*Předsedající: doc. P. Pikálek*

9.00 – 9.50 doc. J. Doškař: Prokaryotický genom  
přestávka na kávu

10.10 – 11.00 dr. J. Forejt: Projekt myšního genomu

11.10 – 12.00 prof. P. Hořín: Analýza genomu hospodářských zvířat  
oběd a káva

*Předsedající: prof. Miadoková*

13.30 – 14.20 doc. M. Ondřej: Genom *Arabidopsis*

14.30 – 15.20 dr. J. Fajkus: Genomika v koncích – pokroky a perspektivy v biologii telomer

Postery budou vystaveny během jednání konference v přílehlých prostorách pod stejnými čísly jako ve sborníku.

# **ABSTRAKTA PLAKÁTOVÝCH SDĚLENÍ**

**(abstrakta byla vytištěna bez jazykové úpravy)**

# GENETIKA ČLOVĚKA A ŽIVOČICHŮ

**1. R. Aixnerová, S. Gregorová, P. Divina, J. Forejt**

(Ústav molekulární genetiky AV ČR a Centrum integrované genomiky, Praha)

**Příprava a využití chromosomálních substitučních kmenů dvou myších poddruhů, *Mus musculus musculus* a *Mus musculus domesticus*.**

Genetická analýza kvantitativních znaků laboratorní myši se v posledních letech zařadila mezi prioritní programy funkční genomiky především díky možnosti celogenomového skenování pomocí mikrosatelitových lokusů a nověji pomocí jednonukleotidových polymorfismů (SNPs). Poziční klonování QTL však naráží na dva problémy: Pokud je fenotypový znak kontrolovaný více než dvěma geny, pak kritická oblast kandidátního genu je příliš velká, obvykle 10 až 20 cM. Druhým omezením je fakt, že většina laboratorních inbredních kmenů je geneticky vzájemně podobná a proto škála fenotypových variací a genetických polymorfismů je omezená. Možným řešením obou problémů by mohly být mezidruhové chromosomální substituční kmene (ICSS). V naší laboratoři připravujeme serii 21 ICS kmenů s genetickým pozadím kmene C57BL/6 (který pochází převážně z *Mus musculus domesticus*) a s konkrétním chromosomem (1 až 19, X, Y) substituovaným z kmene PWD/Ph (který pochází z jiného (pod)druhu, *Mus musculus musculus*). Genomy obou myších (pod)druhů se vyvíjejí separátně po dobu 1 milionu let a tato separace je příčinou vysoké frekvence DNA polymorfismů a fenotypových rozdílů mezi oběma formami. Frakcionace genomu PWD/Ph kmene do 21 podsouborů, které jsou identické s jednotlivými chromosomy, tak výrazně usnadňuje identifikaci QTL v genomu a jejich přesnější mapování, což je nezbytným předpokladem pozičního klonování. Metodika přípravy ICS kmenů a současný stav jejich konstrukce bude předmětem sdělení. Na příkladu X-vázaného genu pro hybridní sterilitu bude demonstrována rozdílná rozlišovací schopnost klasické QTL analýzy a zpětného křížení (C57BL/6 x C57BL/6-X<sup>pwd</sup> ICSS)xC57BL/6.

## 2. S. D. Dimitrov, J. Forejt

(Ústav molekulární genetiky AV ČR, a Centrum integrované genomiky, Praha)

### Expresní profil a intergenová struktura genů *Brcal* a *Nbr1* u myši a člověka.

*BRCA1* (breast cancer susceptibility gene 1) je tumor supresorový gen sloužící při opravách poškozené DNA a při udržování integrity genomu. Germinální mutace tohoto genu představují hlavní rizikový faktor pro vznik rakoviny prsu a vaječníků. Hladiny *BRCA1* mRNA a proteinu jsou signifikantně sníženy u sporadických rakovin prsu ve srovnání s normální mléčnou žlázou. Mechanismus snížení exprese není znám. Lidské geny *BRCA1* a *NBR2* (next to *BRCA1* gene 2) a homologní myši geny *Brcal* a *Nbr1* (next to *Brcal* gene 1) jsou situovány head-to-head na lidském chromosomu 17q21 a na myším chromosomu 11.

V této práci jsme analyzovali expresní profily *Brcal* a *Nbr1* mRNA isoform v průběhu myši spermatogeneze[1]. Nově identifikovaná a evolučně konservovaná isoforma *Nbr1(a)* transkriptu vykazovala 18-ti násobně vyšší steady-state hladinu než konstitutivní *Nbr1(ib)* forma a její exprese byla omezena hlavně na spermatidy. Expresní profil *Brcal* genu byl paralelní s *Nbr1(ib)*. *Nbr1(1a)* mRNA nebyla signifikantně exprimována v normálních somatických tkáních, ale byla nalezena na seznamu cDNA klonů z lidské myeloidní linie.

Nově definovaná intergenová oblast (289 bp) mezi *Nbr1* a *Brcal* u myši a potkana odpovídá dobře homologní lidské oblasti *BRCA1* – *NBR2* (218bp). Vzhledem k bezprostřednímu kontaktu obou genů a vzhledem ke zjištění kvazi-reciproké exprese *Brcal* a *Nbr1* v myši spermatogenezi, jsme se rozhodli ověřit vztah exprese genů *BRCA1*, *NBR1* a *NBR2* na panelu permanentních buněčných linií a na primárních buněčných kulturách odvozených z lidských karcinomů mléčné žlázy a z normální mléčné žlázy. Analýza odhalila vysoce signifikantní snížení exprese *BRCA1* v jedenácti ze dvanácti vyšetřených nádorových buněčných linií a primárních buněčných kultur ve srovnání s normálními buňkami mléčné žlázy. Obě isoformy *NBR1(1A)* a klasické *NBR1(1B)* transkripty byly nalezeny v buňkách odvozených z nádorů prsu, avšak ve všech případech byla jejich exprese snížena vzhledem k normálním buňkám.

1. Dimitrov, S., M. Brennerova, a J. Forejt., *Gene*, 2001. **262**: 89-98.

### **3. P. Divina, Č. Vlček, V. Pačes, J. Forejt**

(Ústav molekulární genetiky AV ČR a Centrum integrované genomiky, Praha)

#### **Analýza genové exprese buněk myšního varlete pomocí metody SAGE.**

Sériová analýza genové exprese využívá krátkých nukleotidových úseků (10 bp tagů) na definované pozici v transkriptech k identifikaci exprimovaných genů. Ligace tagů do konkatemerů a jejich sekvenování umožňují získat kvalitativní a kvantitativní profil genové exprese ve studované tkáni. V práci byl analyzován genový expresní profil fertilního varlete dospělých myší z kmene C57BL/6. Bylo osekvenováno přes 25 000 transkripčních tagů a vytvořena referenční databáze genů exprimovaných ve fertilním myším varleti. Po osekvenování 50 000 tagů budou v expresním profilu zachyceny středně až velmi abundantní transkripty. Databáze bude použita pro srovnávání genové exprese při studiu myší sterility.



#### 4. J. Dvořák<sup>1</sup>, I. Vrtková<sup>1</sup>, V. Matoušek<sup>2</sup>, L. Putnová<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Ústav genetiky MZLU v Brně, <sup>2</sup>ZF JU České Budějovice)

##### **Polymorfismus tří genů u vytváření superplodné linie prasat.**

Na základě výsledků z VaV projektu MZe ČR č. EP 9282 byl v roce 2001 zahájen projekt „Tvorba superplodné linie prasat“ (SPL). Při výběru prasnic a kanců do SPL jsou využívány molekulárně genetické markery = geny, jejichž polymorfní genotypy mají zjištěnou asociaci s některými znaky plodnosti. Jsou to geny:

*CRC* (calcium release channel) – vhodné genotypy *NN*

Asociován s odolností ke stresům, množstvím libového masa a výskytem vady masa PSE. Pro úroveň šlechtění je nejvýhodnější genotyp *NN*, u jatečných prasat genotyp *Nn*.

*ESR* (estrogen receptor) – vhodné genotypy *DD*

Asociován s počtem narozených selat ve vrhu. U prasnic, matek jatečných prasat by měly být genotypy *DD* a *CD*.

*FSHB* (follicle stimulating hormone-beta) – vhodné genotypy *BB*

Asociován s počtem narozených selat v jednotlivých vrzích a celoživotním počtem selat. U prasnic v užitkových chovech bude nejvhodnější haplotyp *ESR/ FSHB: DD/BB*.

Frekvence genotypů u mateřských plemen prasat: Bílé ušlechtilé a Landrase (%)

plemeno	<i>CRC</i>		<i>ESR</i>			<i>FSHB</i>		
	<i>NN</i>	<i>Nn</i>	<i>CC</i>	<i>CD</i>	<i>DD</i>	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
BU	97	3	62	30	8	5	33	62
L	95	5	98	2	-	8	58	34

Téměř 100% zastoupení genotypů *CRC NN* u obou mateřských plemen bylo dosaženo výběrem těchto genotypů u rodičovské generace. U genu *ESR* je zajímavé chybění genotypů *DD* u plemene Landrase. Gen *FSHB* vykazuje velmi podobné rozvržení genotypů u obou plemen.

Výsledky byly získané s podporou projektu MZe ČR QD 1039.

## 5. J. Dvořák<sup>1</sup>, I. Vrtková<sup>1</sup>, A. Filistiwicz<sup>2</sup>, A. Kúbek<sup>3</sup>, T. Szulc<sup>4</sup>, V. Řehout<sup>5</sup>

(<sup>1</sup>Ústav genetiky MZLU v Brně, <sup>2</sup>AR Wrocław, <sup>3</sup>SPU Nitra, <sup>4</sup>AR Szczecin, <sup>5</sup>ZF JU České Budějovice)

### Frekvence a asociace genotypů *PRNP* u skotu

Gen prionového proteinu – *PRNP* – je u skotu lokalizován na 13. chromozomu (u člověka na 20., u ovce na 13., u kočky na 3.). Aberantní forma prionového proteinu *PrP<sup>Sc</sup>* způsobuje neurodegenerativní onemocnění: u skotu BSE (bovinní spongiformní encefalopatie), u lidí nv CDJ, ovčí scrápie, koček FSE atd.

*PRNP* gen zahrnuje 3 exony. Ve třetím exonu *PRNP* je znám polymorfismus v repetičích 24bp a podle repetice AMK v *PrP* se často nazývá „oktarepeatový polymorfismus“. Alely se označují podle repetice AMK jako *PRNP* 5, 6 a 7. V naší práci jsme detekovali alely *PRNP* 5 a 6 u různých plemen skotu v ČR, Polsku a na Slovensku.

Frekvence genotypů *PRNP* u některých plemen skotu v ČR, Polsku a SR

plemeno	ks	genotypy <i>PRNP</i>		
		6/6	6/5	5/5
Česká červinka	64	57	7	0
Polská červinka	63	51	12	0
České strakaté	113	96	16	1
Černostrakaté	10	10	0	0
Pinzganské	13	13	0	0
Charolais	29	26	2	1

Genotypy *PRNP* 5/5 považují někteří autoři za původní. Vysoká frekvence genotypů *PRNP* 6/6 v našich zjištěních se shoduje s údaji jiných autorů. Podle recentních literárních údajů se u zvířat s prokázanou BSE nevyskytl genotyp *PRNP* 5/5 (Premzl et al. 2000).

U plemenných býků v ČR jsme vyhodnotili jejich plemenné hodnoty pro mléčnou užitkovost s genotypy *PRNP*.

Genotypy *PRNP* plemenných býků a jejich plemenné hodnoty.

plemenní býci	počet	PH mléka kg	PH tuku %	PH tuku kg	PH bílk. %	PH bílk. kg	RPH bílk. kg
celkem podle genotypů	30	204,58	-0,13	2,65	-0,026	7,68	93,38
5/6	10	110,70	-0,075	1,30	-0,068	3,20	86,60
6/6	20	<b>298,45</b>	-0,185	<b>4,00</b>	0,016	<b>12,15</b>	100,15

Výsledky byly získané s podporou VZ MSM 432100001.

**6. J. Forejt, Z. Trachtulec, J. Křížan, S. Gregorová, R. Aixnerová, S. Dimitrov, T. Vacik, J. Piálek<sup>1</sup>, P. Divina**

(Ústav molekulární genetiky AV ČR a Centrum integrované genomiky, Praha; <sup>1</sup>Ústav biologie obratlovců AV ČR, Brno)

**Genetika reprodukční izolace myších druhů *Mus m. musculus* a *Mus m. domesticus*.**

Reprodukční izolace mezi různými druhy znemožňuje výměnu genetické informace mezi jejich genomy a tak umožňuje jejich fenotypovou i genotypovou diferenciaci. Myší model hybridní sterility patří k nejlépe analyzovaným [1] i když podstata genetických interakcí, jejichž výsledkem je neplodnost hybridů zůstává značně nejasná. Křížením samců laboratorních myší inbredního kmene C57BL/10 (pocházejícího převážně z *Mus musculus domesticus* (pod)druhu) a samic kmene PWD/Ph (pocházejícího z *Mus musculus musculus* (pod)druhu) vznikají neplodní samčí potomci, hybridní samice jsou fertlní. Z četnosti neplodných samčích potomků zpětného křížení (PWD x C57BL/10)x C57BL/10 byla předpovězena účast tří silných, nezávisle segregujících lokusů, z nichž dva byly úspěšně lokalizovány v genomu. Gen Hybrid sterility 1 (*Hst1*) byl mapován na chromosom 17 díky polymorfismu mezi laboratorními kmeny již v roce 1974 [2] a jeho poziční klonování pokročilo do stadia ověřování kandidátních genů v kritické oblasti 280 kb [3]. Druhý *Hst* lokus byl identifikován celogenomovým skenováním více než 150 mikrosatelitových lokusů plodných a neplodných samčích potomků zpětného křížení (PWD x C57BL/10)x C57BL/10 do proximální oblasti chromozomu X. QTL analýza této oblasti naznačila, že oblast nese dva nebo více *Hst* genů a jejich detailnější mapování bude umožněno rekombinační analýzou interspecifického substitučního kmene C57BL/6-X<sup>PWD</sup>. Identifikace a poziční klonování *Hst* genů tak umožní první pohled na genetické mechanismy podmiňující vznik nového druhu.

1. Forejt, J., *Hybrid sterility in the mouse*. Trends Genet, 1996. **12**: 412-7.
2. Forejt, J. and P. Ivanyi, Genet Res, 1974. **24**: 189-206.
3. Trachtulec, Z., et al., Mamm Genome, 1997. **8**: 312-6.

**7. S. Gregorová, M. Landíková, P. Divina, T. Vacík, G. Churchill<sup>1</sup>, J. Forejt**

(Ústav molekulární genetiky AV ČR a Centrum integrované genomiky, Praha; <sup>1</sup>The Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine, USA)

**Celogenomové skenování modifikátorů perinatální letality myši s delecí genu pro M6P/IGF2R receptor.**

Receptor pro Manoso-6-fosfát-insulinu podobný růstový faktor 2 (M6P/IGF2R) váže glykoproteiny nesoucí M6P a Insulinu-podobný růstový faktor 2 (IGF2) a transportuje je do lysosomů pro degradaci. Receptor je kódován imprintovaným, maternálně exprimovaným genem *Igf2r*. U člověka je tento gen považován za tumor-supresorový gen u rakoviny prsu, hepatokarcinomů a jiných zhoubných nádorů. Přirozená delece *Igf2r* genu u myši ( $T^{hp}$  nebo  $t^{Lub2}$ ) nebo jeho knock-out nemají patologický fenotyp, jsou-li přenášeny na potomky ze samce. Pokud ale jsou maternálního původu, pak působí fetální nebo perinatální letalitu.

V předchozí práci [1, 2] jsme prokázali, že letální působení maternální  $T^{hp}$  delece lze modifikovat mezidruhovou hybridizací  $T^{hp}$  samic a PWD/Ph (*Mus m. musculus*) samců. Zde je dále zjištěno, že geny samce PWD/Ph mohou potlačit letalitu maternálně odvozené delece  $t^{Lub}$  a *Igf2r*- knock-outu. Analýzou F<sub>2</sub> generace (*Igf2r*- x PWD) x (*Igf2r*- x PWD) jsme identifikovali životaschopné jedince *Igf2r*-/*Igf2r*-, i když jejich frekvence byla významně nižší než očekávaných 0,25. K identifikaci hlavních supresorů letality jsme připravili celogenomové skenování souboru 221 samců zpětného křížení (C3H x PWD) x C3H. Každý BC<sub>1</sub> samec byl testován křížením se samicemi  $+/T^{hp}$  na frekvenci životaschopných potomků s maternálně odvozenou  $T^{hp}$  delecí. Takto definovaná frekvence přežívání  $T^{hp}/+$  potomků byla považována za kvantitativní znak QTL typu multilokusové genetické analýzy. Test byl dokončen pro 199 samců, kteří zplodili více než 10 000 potomků. Jeden supresorový lokus (*Motv1*, Modifier of *Tme* viability) velkého účinku byl mapován na chromosom 3. Další dva lokusy byly lokalizovány na chromosomech 2 a 11.

1. Forejt, J., S. Gregorova, Cell, 1992. **70**: 443-50.
2. Forejt, J., et al., in *Genomic imprinting. Causes and consequences*, M. Ritzen, Ed. 1995, Cambridge Univ. Press, Cambridge, New York. p. 29-46.

## 8. M. Kosařová<sup>1</sup>, H. Blažková<sup>1</sup>, H. Havelková<sup>1</sup>, V. Král<sup>2</sup>, M. Lipoldová<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Ústav molekulární genetiky AVČR, Flemingovo náměstí 2, 166 37 Praha 6;

<sup>2</sup>Krajská hygienická stanice, Moskevská 15, 400 78 Ústí nad Labem)

### Genetická analýza exprese IgE.

Systém imunoglobulinu E (IgE) a jeho receptorů se vyvinul jako mechanismus chránící savce proti parazitům. Některé běžné, původně neškodné antigeny však mohou tento systém provokovat k alergické odpovědi. Zvýšené hladiny IgE v séru jsou charakteristické pro tzv. atopická onemocnění, mezi která řadíme alergickou (sennou) rýmu, atopický ekzém a astma. Výskyt těchto chorob v posledních 40 letech rapidně stoupl především ve vyspělých státech a stal se závažným společenským problémem, kterému je věnována intenzivní pozornost. Na vznik a vývoj atopií má vliv mnoho faktorů, např. výskyt alergenů v životním prostředí, styl života a v neposlední řadě genetická predispozice. Výsledky řady genetických studií ukazují, že produkce IgE je ovlivňována mnoha geny s různými účinky. Výsledky genetických analýz se však liší u různých populací a etnických skupin.

Cílem našeho projektu je identifikovat lokusy, které kontrolují produkci IgE v české populaci. U účastníků studie (soubor 78 českých rodin, 319 osob – atopiků i neatopiků) byly změřeny hodnoty IgE v séru, Phadiatop a specifické IgE, a dále byli genotypizováni pomocí 10 mikrosatelitních markerů (IL-9, IRF1, CSF1R, FCER1B, FGF3, IFNG, IGF1, PLAG1B, D2S2298, D6S291) se signifikantní vazbou ke kontrole exprese IgE, které byly již dříve popsány v literatuře jinými autory.

Pomocí myšího modelu (rekombinantních kongenních kmenů), na kterém studujeme vnímavost různých myších kmenů k infekci protozoálním parazitem *Leishmania major*, jsme identifikovali nejméně 9 *Lmr* lokusů (*Leishmania major* response), které kontrolují expresi IgE po infekci (Lipoldová et al.: *Genes and Immunity* (2000)1, 200-206; Badalová et al.: *Genes and Immunity*, in press). Kromě již uvedených markerů testujeme rovněž několik nových lokusů, homologických s některými *Lmr* lokusy, a sledujeme vliv těchto nových homologických lokusů na expresi IgE u lidí.

## **9. P. Kuglík<sup>1</sup>, Z. Kalina<sup>2</sup>, E. Obrhelová<sup>2</sup>, W. Wernerová<sup>2</sup>**

(<sup>1</sup>Katedra genetiky a molekulární biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, CZ - 611 37, Brno; <sup>2</sup>Oddělení lékařské genetiky, Fakultní nemocnice Brno - pracoviště Dětská nemocnice, Černopolní 9, CZ - 662 63, Brno)

### **Molekulárně cytogenetická a klinická charakteristika pacienta s nadpočetným markerovým chromozomem idic(15).**

Izodicentrické bisatelitní markerové chromozomy odvozené od chromozomu 15 - idic(15) patří mezi nejčastěji se vyskytující typ markerových chromozomů. Tyto markerové chromozomy jsou tvořeny dvěma p-rameny se dvěma centromerami, mezi nimiž může ležet proměnlivé množství euchromatinu, který pochází z proximální oblasti 15q. Fenotyp jedinců nesoucích tento markerový chromozom může být velmi variabilní, a to od osob bez jakýchkoli klinických příznaků až po osoby s těžkými mentálními a tělesnými poruchami.

Prezentujeme klinickou a cytogenetickou charakteristiku pacientky s nadpočetným markerovým chromozomem idic(15), doprovázeným značnými fenotypovým postižením.

Molekulárně cytogenetická identifikace původu markerového chromozomu prokázala nebalancovanou chromozomální aberaci - parciální trizomii úseku 15q11-q13 s prokázanou trizomií lokusů SNRPN a D15S10. Fenotypové projevy zjištěné u probanda souvisí s touto nebalancovanou translokací.

Tato práce vznikla za podpory grantu MŠM ČR 143100008.

**10. J. Mareš, M. Babjuk, M. Trková, J. Dušková, Z. Sedláček**

(Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK, V Úvalu 84, 150 00 Praha 5;  
Urologická klinika 1. LF UK, Ke Karlovu 6, 120 00 Praha 2)

**Mutace genu p53 a exprese genů PAX5 a Shb u nádorů močového měchýře.**

Nádory močového měchýře jsou nejčastějším urologickým nádorovým onemocněním a 75 % z nich je klasifikováno jako neinvazivní povrchové nádory (TCC). Prognóza pacienta v době stanovení diagnózy je základním problémem terapie nádorů močového měchýře a proto se stále hledají prognostické markery ve stadiích Ta, T1 a T1S. Přitom nedávný výzkum prognostického potenciálu mutací p53 u nádorů močového měchýře přinesl rozporné výsledky.

Cílem předkládaného sdělení je definovat kombinaci molekulárně biologických a histopatologických markerů, které mohou charakterizovat biologické chování jednotlivých nádorů a identifikovat pacienty s rizikem nádorové progresse. Jako sledované markery jsme zvolili hladiny exprese genů PAX5 a Shb a mutační status genu p53. Vyšetřili jsme u 19 pacientů s povrchovým nádorem močového měchýře a 6 kontrolních vzorků mutace genu p53 v exonech 5-9 a přilehlých intronových sekvencích pomocí metody SSCP a následného přímého genomického sekvenování. Vzorky tkáně byly odebírány transuretrální resekcí. Genovou expresi jsme určovali pomocí RT-PCR.

U 14 pacientů jsme pozorovali zvýšenou expresi alespoň u jednoho sledovaného genu. 8 z nich exprimovalo oba geny ve zvýšené míře. Overexprese byly pozorována u pacientů s nádory s vyšším gradem a hlubší invazí do stěny močového měchýře. Bodové mutace byly nalezeny v 16 % případů (3/19). Pacienti s mutací exprimovali sledované geny PAX5 a Shb rovněž ve zvýšené míře. Hodnotili jsme korelaci mutační analýzy genu p53 a expresi genů PAX5 a Shb, které jsou lokalizovány na chromozomu 9p21-23, s klinickými a histopatologickými daty. Výsledky ukazují, že by analýza mutací genu p53 v kombinaci s hodnotami exprese obou genů mohla přispět k prognóze povrchových nádorů močového měchýře.

Podpořeno grantem IGA NC/5961-3.

## 11. O. Mihola, Z. Trachtulec, J. Forejt

(Ústav Molekulární genetiky AV ČR a Centrum Integrované genomiky, Praha)

### Sekvenování a transkripční analýza myšního *Pdcd2* genu.

Gen *programmed cell death 2 (Pcdcd2)* byl identifikován na myším chromosomu 17 v průběhu pozičního klonování genu *Hybrid sterility 1 (Hst1)* [1]. Produkt *Pdcd2* genu se skládá ze dvou domén: MYND doména často se vyskytující u transkripčních faktorů a vysoce konservovaná C-terminální doména s neznámou funkcí. Je známo, že transkripce homologního krysího genu *Rp8* se zvyšuje po spuštění apoptózy v krysích thymocytech, nicméně u myši takový efekt nalezen nebyl.

V průběhu ověřování možné identity genu *Pdcd2* s lokusem *Hst1* jsme zjistili, že lidský homologní *PDCD2* gen je pravděpodobně alternativně sestřihován, jelikož jsme v databázi našli cDNA sekvence (EST, *expressed sequence tags*) shodné se sekvencemi intronů a genomickými sekvencemi za předpokládaným koncem lidského *PDCD2* genu. Ve snaze zjistit, zda může být alternativně exprimován i myšší *Pdcd2* gen, jsme tento gen kompletně sekvenovali. Získanou genomickou sekvenci, 9,1 kb dlouhou, jsme analyzovali porovnáním s databází dbEST a homologní lidskou sekvencí. Z analýz vyplynulo, že konstitutivní *Pdcd2* mRNA se skládá z šesti exonů. Dále jsme našli *in silico* a posléze potvrdili metodou RT-PCR nový alternativní exon *Pdcd2* genu. Tento exon nahrazuje poslední dva konstitutivní exony, takže alternativní *Pdcd2* mRNA nekóduje vysoce konzervovanou C-terminální doménu. Navíc jsme identifikovali antisense mRNA, která obsahuje sekvenci komplementární k alternativnímu exonu *Pdcd2* genu. Předpokládáme, že tento antisense transcript může v buňce regulovat poměr mezi vznikající konstitutivní a alternativní *Pdcd2* mRNA.

1. Trachtulec, Z., et al., Mamm Genome, 1997. **8**: 312-6.



**12. M. Procházková<sup>1</sup>, V. Holubová<sup>2</sup>, J. Sobotka<sup>2</sup>, P. Kuglík<sup>1</sup>**

(<sup>1</sup>Department of Genetics and Molecular Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, CZ - 611 37, Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>Department of Medical Genetics, University Children's Hospital, Černopolní 9, CZ - 662 63, Brno, Czech Republic)

**Cytogenetic abnormalities in neuroblastoma studied by I-FISH and CGH.**

Neuroblastoma (NB) is one of the most common extracranial solid malignant tumours of children. The clinical course of neuroblastoma patients is variable and correlated with tumour cell ploidy, presence of N-myc oncogene amplification, deletion of the short arm of chromosome 1, and gain of chromosome arm 17q. Based on this genetic information and the other biological parameters (age at diagnosis, stage of disease, histology results, etc.), it is possible to define distinct prognostic categories and to employ separate therapeutic strategies for the different groups of patients.

Recent studies have illustrated the power of comparative genomic hybridisation (CGH) in whole genome screening for partial and whole chromosome imbalances in NB, in particular for the analysis of low stage NB for which little genetic information was available.

Our work summarises the results of the interphase fluorescence in situ hybridisation (I-FISH) and CGH analysis of 18 neuroblastoma patients. We have performed I-FISH on fixed tumour touch imprints or bone marrow smears in order to investigate the chromosomal region 1p36 and N-myc gene status (20 samples). 8 frozen neuroblastoma samples were also analysed by CGH, screening whole tumour genome for partial and whole chromosome imbalances.

The results obtained by I-FISH were found to be different from results obtained by CGH for N-myc gene status and 1p36 chromosomal region in 1 and 3 cases, respectively.

These results show that CGH is a sensitive method for the detection of all prognostically relevant genetic abnormalities in neuroblastomas.

The work was supported by the grant of The Ministry of Education, Youth and Sports of Czech Republic, grant No. 143100008.

**13. Z. Sedláček, M. Trková, L. Foretová, V. Krutílková, J. Mareš, P. Goetz**

(Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK, V úvalu 84, 15006 Praha 5 - Motol;  
Oddělení epidemiologie a genetiky nádorů MOÚ, Žlutý kopec 7, 65653 Brno)

**Vrozená predispozice k nádorům podmíněná zárodečnými mutacemi v genu TP53.**

U asi 5% onkologických pacientů je možno pozorovat nápadnou genetickou determinaci, která se projevuje vyšší incidencí postižení nádorovým onemocněním v rodině, časným nástupem onemocnění či multifokálním postižením. Taková predispozice k nádorovému onemocnění je většinou podmíněna zárodečnou mutací v některém z tumor supresorových genů, která se dědí v příslušném rodokmenu. Zvýšená susceptibilita k malignímu bujení je způsobena tím, že nosič mutace má jednu alelu genu mutovanou ve všech somatických buňkách. Další náhodně vzniklá somatická mutace druhé alely pak může vyřadit gen z funkce úplně. Typické nádorové syndromy se projevují predispozicí k určitému typu nádoru (dědičná rakovina prsu, tlustého střeva, sítnice atd.). Jiné, podstatně vzácnější nádorové rodiny naopak vykazují širší spektrum nádorů. Členové těchto rodin jsou postiženi sarkomy měkkých tkání, osteosarkomy, mozkovými nádory, leukemiemi, adrenokortikálními karcinomy, nádory prsu a nádory řady dalších typů a lokalizací. Nejčastěji postižené rodiny tohoto typu jsou diagnostikovány jako syndrom Li-Fraumeni. Za genetickou predispozici jsou v těchto rodinách zodpovědné především zárodečné mutace v genu TP53. Riziko výskytu malignit u nosičů těchto mutací je vysoké: 25% do 20 let věku, 50% do 35 let a 90% do 60 let. V našem příspěvku demonstrujeme nálezy zárodečných mutací v genu TP53 v několika nádorových rodinách a výsledky analýzy ztráty heterozygity v lokusu TP53 v nádorech nosičů. Presentujeme také naši webovou databázi všech dosud publikovaných mutací a diskutujeme některé problémy genetického poradenství a následné péče v postižených rodinách.

Výzkum byl podpořen grantem IGA MZ ČR NC/6513-3.

#### 14. D. Schlegel<sup>1</sup>, H. Havelková<sup>1</sup>, P. Demant<sup>2</sup>, M. Lipoldová<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Ústav molekulární genetiky AV ČR, Flemingovo nám. 2, 166 37 Praha 6 ; <sup>2</sup>Division of Molecular Genetics, The Netherlands Cancer Institute, Plesmanlaan 121, 1066 CX Amsterdam, The Netherlands)

#### **Hledání genů kontrolujících odpověď myši na parazitického prvoka *Leishmania major*.**

Leishmaniáza je choroba způsobená parazitem leishmanií napadajícím makrofágy obratlovců. Poskytuje výborný model pro zkoumání mechanismů imunitních reakcí. Cílem našeho výzkumu je identifikace genů, které ovlivňují vnímavost k tomuto onemocnění, a nalézt k nim homologní lidské geny.

Mechanismy onemocnění zkoumáme na myším modelu. Při našem výzkumu jsme využili dva myší kmeny – kmen BALB/c vnímavý k infekci *L. major* a rezistentní kmen STS. Křížením bylo připraveno 20 rekombinantních kongenních kmenů BALB/c-c-STS/Dem (CcS/Dem) tak, aby každý obsahoval přibližně 87,5% genomu BALB/c a 12,5% genomu STS. Kmen CcS-5 vykazoval i přes přítomnost 87,5% genomu kmene BALB/c znaky mimořádné rezistence k chorobě, a proto byl podroben dalšímu zkoumání. V genomu CcS-5 jsme identifikovali pět lokusů na chromosomech 5, 6, 10, 11 a 17, pocházejících z rodičovského kmene STS, jejichž přítomnost koreluje s hlavními parametry imunitní odpovědi myši na *L. major* (Genes Immun., 1:200, 2000).

Cílem této práce je maximální zúžení lokusu na chromosomu 6, nalezení kandidátních genů a identifikace genů kontrolujících imunitní odpověď myši na *L. major*. Na chromosomu 6 se nacházejí tři oblasti původu STS. Jedna oblast postrádá jakoukoliv vazbu na průběh leishmaniózy, další dvě průběh choroby determinují. Proximálnější z nich ovlivňuje velikost lézí a množství IFN- $\gamma$  v séru, distálnější oblast má vliv pouze na velikost lézí.

Pro jemné mapování lokusu na chromosomu 6 jsme použili rekombinantní mapování. K přesnějšímu mapování lokusů kontrolujících dané parametry připravujeme rekombinanty F<sub>2</sub> kříženců BALB/c x CcS-5 v dané oblasti. Hraniční oblasti s neznámým původem mapujeme pomocí mikrosatelitních markerů. Identifikujeme markery polymorfni mezi BALB/c a STS a následně je testujeme. Obě kontrolní oblasti šestého chromosomu se podařilo genotypizací významně zúžit. Jeden kontrolní segment byl zúžen z 3,5 na 2,4 cM a je již tak úzký, že bylo překročeno k sekvenování kandidátního genu IL-12rb2. Druhý byl zúžen z 19,5 cM na 8,0 cM.

*Tato práce je podporována grantem GAČR 310/00/0760.*

## 15. Z. Trachtulec, Č. Vlček, V. Pačes, J. Forejt

(Ústav molekulární genetiky AV ČR a Centrum intergované genomiky, Praha)

### **Transponovatelné myší B1 repetice mohou formou alternativních exonů zvyšovat komplexitu proteomu.**

V průběhu projektu pozičního klonování genu Hybrid sterility 1 (*Hst1*), který způsobuje zástavu spermatogeneze v potomcích křížení myší *Mus musculus domesticus* a *Mus musculus musculus*, jsme získali přes 400 sekvenčních čtení z genomových BAC klonů pokrývajících *Hst1* oblast. Kromě nových sekvencí mikrosatelitů, použitých k zúžení *Hst1* oblasti, jsme objevili také potenciální exony, některé se zajímavými homologii, např. ke CRAB, PR a C2H2 doménám. Následná RT PCR a RACE analýza testikulární exprese odhalila dva typy transkriptů: jeden nese všechny tři výše zmíněné domény, druhý pouze CRAB doménu a je ukončen alternativním terminačním exonem, tvořeným B1 repetitivním elementem. Tato B1 repetice poskytuje jak 3'-sestřihový, tak poziční polyadenylační signál exonu. V GenBank databázi bylo nalezeno několik dalších příkladů alternativního sestřihu myších a krysích genů, za které jsou zodpovědné B1 a B2 repetice (short interspersed repeat element: SINE). I když samy nekódují protein, mohou být jejich sekvence sestřihány do kódující sekvence. Tento sestřih byl již popsán u lidských SINE elementů, Alu, avšak u myši je jeho nález zatím unikátní. Tím, že SINE zvyšují počet putativních proteinových produktů exprimovaných z jednoho genu, zvyšují tyto repetice potenciálně komplexitu savčího proteomu.

**16. T. Vacík, M. Ort<sup>1</sup>, J. Bureš<sup>1</sup>, S. Gregorová, J. Forejt**

(Ústav molekulární genetiky AV ČR a Centrum integrované genomiky, <sup>1</sup>Fysiologický ústav AV ČR, Praha)

**Segmentová trisomie Ts43H: Myší model pro analýzu řízení exprese imprintovaných genů a lidské aneuploidní syndromy.**

Kompletní trisomie ani monosomie kteréhokoliv z autosomů není slučitelná s normálním vývojem a životaschopností dospělého myšího organismu. Jednou z parciálních, (segmentových) trisomií, které jsou viabilní a částečně plodné, je trisomie proximálních částí chromosomu 17, Ts43H, odvozená od balancované T43H translokace. Jedním z genů v trisomické oblasti je *Igf2r*, kódující receptor pro insulinu-podobný růstový faktor 2. Tento imprintovaný gen je v normálním, euploidním, organismu exprimován monoalelicky z alely maternálního původu. U myší s Ts43H trisomií je tedy možné sledovat, jak bude řízena transkripce imprintovaného genu v případě přespočetné kopie genu buď mateřského nebo otcovského původu. Na rozdíl od transgenních myší s extra kopií imprintovaného genu umožňuje Ts43H segmentová trisomie studovat funkci genu v jeho přirozeném chromatinovém kontextu jak na úrovni transkripce tak na úrovni specifické DNA metylace.

Trisomie lidského chromosomu 21 je podstatou Downova syndromu. Ts43H vykazuje krátkou syntenní oblast s lidským chromosomem 21, čítající asi 30 genů. Vzhledem k tomu, že pacienti s Downovým syndromem, ale i s jinými autosomálními aneuploidními vykazují různě rozsáhlá postižení intelektu, testujeme schopnost učení trisomických myší a jejich euploidních sourozenců standardním postupem v Morrisově bludišti. Pokud se prokáže snížená schopnost učení, budeme analyzovat rozdíly v expresních profilech mozkové tkáně normálních a trisomických myší pomocí metody SAGE. Analýza fenotypu trisomických myší a jejich genové aktivity by mohla přispět k objasnění mechanismů, kterými chromosomální disbalance vede k abnormálnímu vývoji. Výsledky analýz exprese imprintovaného genu *Igf2r* a testů schopnosti učení jsou předmětem plakátového sdělení.

**17. E. Zahradníčková<sup>1</sup>, S. Ševčíková<sup>1</sup>, K. Souček<sup>2</sup>, L. Kubala<sup>2</sup>, J. Šmarda<sup>1</sup>**

(<sup>1</sup>Masarykova univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta, Katedra genetiky a molekulární biologie, Kotlářská 2, 611 37 Brno; <sup>2</sup>Biofyzikální ústav AV ČR, Královopolská 135, 612 65 Brno)

**Rozdílné účinky proteinů v-Fos a c-Fos na linii ptačích monoblastů transformovaných onkogenem v-myb.**

Geny *fos* patří do skupiny genů, které se v buňkách BM2 ve zvýšené míře exprimují při diferenciaci stimulované forbolovým esterem TPA. Abychom přispěli k objasnění úlohy proteinů Fos v myeloidní diferenciaci, připravili jsme transgenní varianty linie BM2, které inducibilně exprimují geny *v-fos* a *c-fos* a podrobili jsme je důkladné morfoložické a funkční analýze. Zjistili jsme, že oba geny se poněkud odlišují v účincích na fenotyp buněk BM2. Protein v-Fos zpomaluje růst buněk BM2, vyvolává jejich adhezi na dno kultivačních misek a redukuje jejich fagocytickou aktivitu. To naznačuje, že protein v-Fos stimuluje dediferenciaci buněk BM2 do ranějšího diferenciacního stadia. Na rozdíl od proteinu v-Fos, protein c-Fos vyvolává smrt buněk BM2 apoptózou. Tyto výsledky svědčí o tom, že onkogenní forma genu *fos* kooperuje s onkogenem *v-myb* a posiluje jeho transformační potenciál. Buněčná varianta genu *fos* působí proti onkogenu *v-myb* a suprimuje jeho anti-apoptotické účinky.

Tato práce byla podporována grantem 301/01/0040 Grantové agentury České republiky.

## GENETIKA ROSTLIN

### 18. O. Alkhimova<sup>1</sup>, J. Doležel

(Laboratoř molekulární cytogenetiky a cytometrie, Ústav experimentální botaniky AV ČR, Sokolovská 6, 77200 Olomouc; <sup>1</sup>Trvalá adresa: Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, Zabolotnogo 150, 252143 Kyiv, Ukraine)

#### **Evoluce repetitivních sekvencí DNA v rámci čeledi *Poaceae*.**

Tribus *Triticeae* zahrnuje jak řadu ekonomicky významných obilovin, tak stovky druhů jednoletých i vytrvalých trav. Společným znakem celé skupiny je základní chromozómové číslo  $x = 7$ . V průběhu evoluce se jaderný genom podčeledi *Pooideae* zvětšoval a dosáhl značné komplexity, zvláště u *Triticeae*. Rozdíly ve velikosti genomu jsou z větší části způsobeny přítomností repetitivních sekvencí DNA, které u velkých genomů *Triticeae* představují více než 95% jejich obsahu. U *Triticeae* byla popsána řada tandemově uspořádaných repetitivních sekvencí DNA. I když se všeobecně vyskytují v obrovských počtech kopií, jejich genomická distribuce je u jednotlivých druhů odlišná. Například repetice *dpTa1* izolovaná u pšenice má nejvíce kopií v genomu D. Přítomnost této repetice byla sice prokázána pomocí Southernovy hybridizace za mírnějších podmínek odmyváání u všech druhů *Triticeae*, ale například u žita je na mitotických chromozómech jen obtížně detekovatelná pomocí fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). Sekvence *pSc119.2* je přítomna ve velkém počtu kopií u pšenice, žita a většiny druhů rodu *Hordeum*, ale nikoliv u *H. vulgare*. Repetice *pSc200* a *pSc250* se přednostně lokalizují do subtelomerických oblastí chromozómů žita. Tyto sekvence jsou snadno detekovatelné i u *Agropyron cristatum* a *Dasypyrum brevisubulatum*. U *D. villosum* se repetice *pSc200* vyskytuje ve stejném počtu kopií jako u žita a podobně jako u žita se lokalizuje v subtelomerických oblastech. Narozdíl od žita a *D. villosum* se u pšenice a ječmene *pSc200* a *pSc250* vyskytují ve velmi malém počtu kopií. Nejnovější výsledky analýzy tandemově uspořádaných repetitivních sekvencí (*dpTa1*, *spelt1*, *pSc200* a *pSc250*) u zástupců rodu *Festuca* a *Lolium* a jejich hybridů pomocí Southernovy hybridizace a FISH poskytují nové důkazy o příbuznosti genomů a umožňují identifikovat některé chromozómy. Všechny čtyři repetice se v genomech zástupců obou rodů vyskytují v menším počtu kopií a jejich genomická distribuce se liší mezi druhy. Získané výsledky analýzy tandemově uspořádaných repetitivních sekvencí DNA u *Triticeae* nepodporují všeobecně uznávanou představu o fylogenezi tohoto tribu.

Práce byla podporována grantem reg. č. S5038104 poskytnutým Akademií věd ČR.

## **19. J. Bartoš, P. Binarová, J. Doležel**

(Laboratoř molekulární cytogenetiky a cytometrie a Laboratoř cytoskeletu a buněčného cyklu, Ústav experimentální botaniky AV ČR, Sokolovská 6, 772 00 Olomouc)

### **Analýza buněčného cyklu a genové exprese pomocí průtokové cytometrie.**

Buněčný cyklus je jedním z nejdůležitějších dějů odehrávajících se v průběhu života eukaryontních i prokaryontních organismů. Regulace buněčného cyklu má navíc velmi blízko k nekontrolovanému dělení buněk a programované buněčné smrti (apoptóze). Nejpřesnější analýzu kinetiky buněčného cyklu umožňuje biparametrická analýza inkorporovaného 5'-bromo-2'-deoxyuridinu (BrdU) a jaderné DNA pomocí průtokové cytometrie. Pomocí průtokové cytometrie lze rovněž detekovat expresi genů účastnících se regulace buněčného cyklu. K tomu je možné použít zelený fluorescenční protein (GFP), který si zachovává schopnost fluorescence i po fúzi s jiným proteiny. Přestože metody využívající průtokovou cytometrii se běžně využívají při studiu buněčného cyklu živočichů, u rostlin se podobné práce vyskytují sporadicky. Cílem tohoto projektu bylo vypracování metody pro detekci BrdU a pro detekci GFP pomocí průtokové cytometrie u rostlin. V průběhu řešení byla vypracována metoda značení jader v S fázi buněčného cyklu rostlin pomocí BrdU, založená na inkorporaci BrdU do nově syntetizované DNA. Po izolaci jader a částečné denaturaci DNA deoxyribonukleázou byl inkorporovaný BrdU detekován nepřímou imunofluorescencí pomocí průtokového cytometru. Tato metoda byla použita pro analýzu buněčného cyklu v kořenovém meristému bobu (*Vicia faba*) a ječmene (*Hordeum vulgare*). Značení buněk v S fázi pomocí BrdU bylo rovněž použito ke studiu kinetiky buněčného cyklu a ke stanovení doby trvání jednotlivých fází buněčného cyklu. Metoda detekce GFP byla vypracována na listech tabáku (*Nicotiana tabacum*) fixovaných paraformaldehydovou fixací. GFP vydává po excitaci 488 nm laserem fluorescenci s emisním maximem 509 nm. Pro detekci GFP průtokovým cytometrem bylo použito GFP transportovaného do jádra. To umožnilo provádět analýzy na izolovaných jádrech a tak se vyhnout autofluorescenci cytoplazmy, která jinak u rostlinných buněk výrazně ztěžuje kvantifikaci fluorescence GFP. Nově vypracovaná metoda byla použita pro studium exprese fúzního proteinu GFP a cyklin-dependentní kinázy u suspenzních kultur tabáku. Cílem další práce bude kombinace obou metod a studium exprese genů v průběhu jednotlivých fází buněčného cyklu pomocí víceparametrické průtokové cytometrie.

Práce byla podporována grantem Evropské unie „ECCO“ reg. č. QLG2-CT-1999-00454.



## **20. S. Hlaváčová, P. Lízal, J. Řepková**

(MU v Brně, Přírodovědecká fakulta, Katedra genetiky a molekulární biologie, Kotlářská 2, 611 37 Brno)

### **Využití molekulárních markerů při genetickém mapování mutací *Arabidopsis thaliana*.**

Cílem této práce byla lokalizace genů pro pozdní kvetení a genů determinujících některé morfologické znaky a chlorofylové defekty do genetické mapy *Arabidopsis thaliana*. Mutantní linie byly získány jak klasickou, tak inzerční mutagenézí (T-DNA).

Ke genetickému mapování byly využity DNA markery, mikrosatelity (SSLP – Simple Sequence Length Polymorphism) a CAPS markery (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences). Výhodou této metody je větší přesnost, spolehlivost, menší počet křížení a testovaných rostlin, a tedy i menší náročnost na prostor oproti klasické metodě, která využívá jako markerů morfologické mutace.

U námi použitých DNA markerů bylo využito délkového (SSLP) a restrikčního polymorfismu (CAPS) mezi ekotypy S96 popř. Di-G (genetické pozadí testovaných mutací) a ekotypu Columbia (standardní genotyp použitý pro křížení). Polymorfismus byl detekován pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) a produkty amplifikace byly zviditelněny elektroforeticky v agarózovém gelu. Podíl rekombinant byl vyhodnocen v generaci F<sub>2</sub> a pomocí Kosambiho mapovací funkce byly provedeny odhady mapových vzdáleností.

Chlorofylově defektní mutace *lucida* a *lucida(S)* byly lokalizovány do 4. vazbové skupiny. 4 pozdně kvetoucí mutace *L4*, *L5*, *M63* a *Sparsipila* byly lokalizovány na krátkém rameni 4. chromozomu a mutace *dentata* na 1. chromozomu.

*Práce je podporována grantem MSM 143100008 MŠMT ČR.*

## 21. A. Kormuťák, T. Salajová, B. Vooková

(Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, Akademická 2, P.O.Box 39A, SK-950 07 Nitra, Slovenská republika)

### **Morfometrická a genetická analýza postulovaného hybridného komplexu *Pinus sylvestris* x *Pinus mugo* v Hábovke.**

Spomedzi viacerých miest výskytu introgresívnej hybridizácie medzi borovicou lesnou (*Pinus sylvestris* L.) a kosodrevinou (*P. mugo* Turra) na európskom kontinente sa na území Slovenska uvádzajú iba lokality Tisovnica a Hábovka na Orave, na ktorých sa nachádzajú morfológicky veľmi variabilné populácie borovíc, o ktorých sa predpokladá, že vznikli spontánnou hybridizáciou oboch vyššie uvedených druhov. Hybridný charakter týchto populácií odvodený na základe morfometrických analýz Musilom (1977) a Vieweghom (1981) bol však spochybnený restričnou analýzou chloroplastovej DNA (cpDNA) príslušných jedincov (Filppula et al. 1992). Nami uskutočnená morfometrická analýza jedincov predpokladaného hybridného komplexu *P. sylvestris* x *P. mugo* v Hábovke naznačuje intermediárny charakter ich šišíek, ktorých dĺžka činila v priemere 3.25 cm. Zodpovedajúce charakteristiky šišíek pri štyroch populáciách borovice lesnej sa pohybovali v rozmedzí 4.00-4.52 cm, zatiaľ čo pri dvoch populáciách kosodreviny v rozmedzí 3.14-3.15 cm. Intermediárne hodnoty vykazovalo aj usporiadanie prieduchov na dorzálnnej strane ihlíc. Pri borovici lesnej sú tieto štruktúry usporiadané v 7.48 radoch, pri kosodrevine v 10.14 radoch, zatiaľ čo pri hybridnom komplexe v 9.19 radoch. Iba v priemernej dĺžke uhlíc sa postulovaný hybridný komplex výrazne odlišoval svojimi krátkymi ihlicami (4.35 cm) od borovice lesnej (5.64 cm), ako aj od kosodreviny (5.21 cm). V protiklade s výsledkami morfometrických analýz, restričná analýza cpDNA uskutočnená pri 41 jedincoch hybridného komplexu, 19 jedincoch borovice lesnej a 16 jedincoch kosodreviny nepotvrdila hybridný charakter populácie v Hábovke. Amplifikácia intergénovej oblasti trn V-H pomocou primeru podľa Parducci a Szmidta (1999) a následná digescia PCR produktu endonukleázami odhalila diferencovaný výskyt 4072 bp fragmentu Hinf I iba u borovice lesnej, 3000 bp fragmentu Cla I u borovice lesnej, 5090 bp fragmentu Cla I u kosodreviny, 2036 bp fragmentu Taq I u borovice lesnej a 2050 bp fragmentu Taq I u kosodreviny. Restričné spektrá všetkých analyzovaných jedincov oboch druhov borovíc boli uniformné. Žiadne náznaky hybridity sa však nezistili pri jedincoch postulovaného hybridného komplexu, ktorý v skutočnosti predstavuje iba zmes jedincov borovice lesnej a kosodreviny so značne modifikovaným habitusom na rašelinovom substráte.

Práca vznikla za finančnej podpory GA VEGA, projekt č. 2/7250/20.

**22. M. Kubaláková, K. Rychtarová, J. Vrána, M. Valárik, J. Číhalíková,  
J. Doležel**

(Laboratoř molekulární cytogenetiky a cytometrie, Ústav experimentální botaniky AV  
ČR, Sokolovská 6, 77200 Olomouc)

**Třídění chromozómů žita (*Secale cereale* L.) pomocí průtokové cytometrie.**

Frakce jednotlivých typů chromozómů, které představují definované části genomu, umožňují efektivní analýzu a mapování velkých genomů rostlin. U některých druhů rostlin byly tříděné chromozómy již dříve použity pro konstrukci chromozómově specifických knihoven DNA, fyzické mapování a cílenou izolaci molekulárních markerů. Větší množství chromozómů jednoho typu lze získat pouze pomocí průtokové cytometrie. Cílem této práce bylo vypracovat metodu třídění jednotlivých typů chromozómů žita ( $2n = 14$ ), jehož genom dosahuje velikosti 8000 Mbp. Suspenze intaktních chromozómů byly připraveny mechanickou homogenizací kořenových špiček po synchronizaci buněčného cyklu a fixáží roztokem formaldehydu. Buněčný cyklus byl synchronizován pomocí hydroxymočoviny a buňky byly akumulovány v metafázi působením oryzalinu. Suspenze intaktních chromozómů byly barveny fluorescenčním barvivem DAPI a relativní intenzita fluorescence byla analyzována pomocí průtokového cytometru. Bylo zjištěno, že u odrůd žita se standardním karyotypem je možné rozlišit a třídít pouze chromozóm 3R. Jako alternativní strategie pro třídění dalších chromozómů bylo zvoleno použití adičních linií pšenice „Chinese Spring“ / žito „Imperial“. Bylo zjištěno, že chromozómy 2R, 4R, 6R a 7R, které jsou delší než nejdelší pšeničný chromozóm 3B, je možné snadno odlišit a třídít. Vedle třídění standardních chromozómů je pro fyzické mapování rovněž výhodné použití translokovaných chromozómů. Možnost třídění takových chromozómů byla ověřena u dvou linií nesoucích reciproké translokace 4RS.6RS a 4RL.6RL nebo 2RS.5RS a 2RL.5RL. Pro identifikaci tříděných chromozómů a stanovení čistoty tříděných frakcí bylo použito buď fluorescenční značení oblastí bohatých na mikrosatelity GAA metodou PRINS, nebo FISH se sondami pro 5S rDNA a repetici pSc119.2. Čistota tříděných frakcí přesahovala 90%. Chromozómy byly rovněž tříděny do mikrozkupek a identifikovány pomocí PCR s chromozómově specifickými primery. Vedle vypracování postupu pro třídění vybraných typů chromozómů žita tato práce ukázala, že průtoková cytometrie je dostatečně citlivá nejen pro identifikaci adice či translokace v dané linii, ale i pro určení podílu zrn ve vzorku nesoucích danou translokaci nebo adici.

Práce byla podporována grantem reg. č. 521/96/K117 poskytnutým Grantovou agenturou ČR.

### **23. P. Lízal, K. Cetkovská, J. Relichová**

(Masarykova Univerzita Brno, Přírodovědecká fakulta, Katedra genetiky a molekulární biologie, Kotlářská 2, 611 37 Brno)

#### **Dědičnost genů pro pozdní kvetení a jejich interakce s geny odlišného genetického pozadí u *Arabidopsis thaliana*.**

V posledních několika letech probíhá u *Arabidopsis thaliana* intenzivní výzkum problematiky indukce kvetení. K tomuto účelu je využíváno zejména pozdně kvetoucích mutantů. Cílem této práce bylo stanovit dědičnost genů pro pozdní kvetení a jejich interakci s dalšími geny.

Bylo analyzováno celkem 9 pozdních mutantů získaných na katedře genetiky a molekulární biologie PřF MU v Brně.

Dědičnost těchto mutací byla stanovena na základě generace F<sub>1</sub> po křížení s časně kvetoucím standardním genotypem (*S96* nebo *Di-G*), který představuje genetické pozadí, na němž byla daná mutace indukována. Závěry učiněné na základě generace F<sub>1</sub> byly potvrzeny v generaci F<sub>2</sub>. U dvou mutantů *dn* a *psv* bylo zjištěno, že pozdnost má recesivní charakter. U ostatních genotypů (*L4*, *L5*, *L6-1*, *L6*, *Spi*, *M63* a *M73*) byl nalezen dominantní charakter mutace způsobující pozdní kvetení.

Extrémní zpoždění doby do kvetení v F<sub>1</sub> a F<sub>2</sub> generaci po křížení s odlišným genetickým pozadím standardní linie *Columbia* ukazuje na interakci mutantních genů *L4*, *L5*, *L6-1*, *L6*, *Spi*, *M63* a *M73* s geny *Columbia*. Byl učiněn předpoklad, že se jedná o doposud jediný popsáný „modifikátorový“ gen *FLC*, jehož účinek na fenotypový projev mutace závisí na genetickém pozadí. Navazující analýza na úrovni DNA upřesní, zda je gen *FLC* skutečně modifikátorem exprese studovaných genů pro pozdní kvetení.

*Práce je podporována grantem MSM 143100008 MŠMT ČR.*

**24. M. Pidra, M. Baránek, M. Kafaňková, J. Létal, J. Raddová, M. Vachůn**

(Mendeleum, Zahradnická fakulta MZLU, 691 44 Lednice na Moravě)

**Využití DNA analýz pro charakterizaci genových zdrojů rostlin.**

V poslední době zaznamenáváme dramatický nárůst využití molekulárně genetických technik pro řešení problémů spojených s uchováním a analýzou genových zdrojů rostlin. Potenciální přínos využití těchto technik pro přesnou charakterizaci jednotlivých genotypů je nesporný. Na druhé straně s nárůstem databází s uloženými DNA fingerprinty uchovávaných genových zdrojů narůstají také komunikační problémy mezi tvůrci databází a uložených dat a potenciálními uživateli popisovaných genových zdrojů, tj. konvenčními šlechtiteli. Dlouhodobým cílem je vytvoření strukturovaných databází DNA markerů, které by mohly sloužit jako spolehlivý zdroj informací pro šlechtitele. Základ takových databází je v současné době vytvářen na pracovišti Mendeleum Zahradnické fakulty MZLU v Lednici. Pro analýzy DNA se využívá metod založených na PCR.

Na Zahradnické fakultě v Lednici jsou v rámci Národního programu konzervace a využití genových zdrojů rostlin udržovány kolekce teplomilných peckovin (meruňky, broskvoně, mandloně), interspecifických hybridů révy vinné a několik menších kolekcí (soja, vegetativně množené zeleniny, některé druhy letniček). Celkový počet položek v uchovávaných kolekcích v roce 2001 byl 1650.

Do konce roku 2001 bylo pomocí RAPD profilů charakterizováno 50 genotypů meruněk, 60 genotypů broskvoní a 19 genotypů soji. Pro vytvoření každého fingerprintu bylo použito 12 až 15 primerů, které poskytovaly nejvyšší míru polymorfismu pro daný druh.

**25. K. Rychtarová<sup>1</sup>, D. Ohri<sup>2</sup>, J. Vrána<sup>1</sup>, J. Číhalíková<sup>1</sup>, G. Kahl<sup>3</sup>, J. Doležel<sup>1</sup>**

(<sup>1</sup>Laboratoř molekulární cytogenetiky a cytometrie, Ústav experimentální botaniky AV ČR, Sokolovská 6, 77200 Olomouc; <sup>2</sup>National Botanical Research Institute, Rana Pratap Marg, Lucknow 226 001, India; <sup>3</sup>Plant Molecular Biology Group, Biozentrum, Marie-Curie-Str. 9, D-60439 Frankfurt, Germany)

### **Využití průtokové cytometrie pro třídění chromozómů cizrny (*Cicer arietinum* L.)**

Cizrna ( $2n = 16$ ) je celosvětově třetí nejdůležitější luštěnina pěstovaná převážně v Indii, východní Africe, latinské Americe, středozemních státech a Austrálii. V rozvojových zemích představuje cizrna významný zdroj proteinů. Jejím největším producentem je Indie, kde je díky špatné půdě, nedostatku srážek a pěstování nešlechtěných odrůd dosahováno velmi nízkých výnosů. Vedle klasického šlechtění se jeví jako aktuální využití moderních biotechnologických postupů. Ty jsou závislé na znalosti struktury genomu a izolaci důležitých genů. Třídění mitotických chromozómů pomocí průtokové cytometrie může značně ulehčit mapování genomu. Proto jsme se v této práci zaměřili na vypracování postupu pro přípravu suspenze intaktních chromozómů z meristémů kořenových špiček a zhodnotili jsme možnost třídění jednotlivých typů chromozómů. Buněčný cyklus v kořenových meristémech byl synchronizován pomocí hydroxymočoviny. Následné ošetření oryzalinem a ledovou vodou vedlo k akumulaci 44% buněk v metafázi. Synchronizované kořenové špičky byly fixovány v roztoku formaldehydu a mechanickou homogenizací špiček byly mitotické chromozómy uvolněny do izolačního pufru. Před analýzou průtokovým cytometrem byla chromozomální DNA barvena pomocí fluorescenčního barviva DAPI. Výsledkem analýzy byl histogram relativní intenzity fluorescence, který obsahoval osm píků představujících jednotlivé chromozómy. Chromozómy reprezentované jednotlivými píky byly tříděny na mikroskopická sklíčka a identifikovány pomocí fluorescenční mikroskopie. Chromozómy byly rovněž tříděny do mikrozkumavek a použity pro PCR s primery pro STMS („sequence-tagged microsatellite site“) markery. Předběžné výsledky vedly k přiřazení nejmenšího chromozómu cizrny k vazebné skupině LG8. Získané výsledky jasně ukazují na možnost využití průtokové cytometrie pro fyzické mapování a integraci genetických a fyzických map cizrny.

Práce byla podporována grantem reg. č. 521/96/K117 poskytnutým Grantovou agenturou České republiky.

## 26. J. Šmerda, I. Überall, P. Mlejnek, L. Havel

(Ústav botaniky a fyziologie rostlin, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita,  
Zemědělská 1, 613 00 Brno)

### **Použití celogenomové sondy pro testování cytologických preparátů pro FISH u smrku ztepilého.**

Fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je technika umožňující vizualizaci a lokalizaci specifických sekvencí nukleových kyselin v cytologických preparátech pomocí sondy značené fluorochromem nebo sondy vážící fluorochrom. V poslední době došlo k rozšíření aplikace této techniky i na studium rostlinných objektů. Hlavní překážkou, která omezuje rutinní používání metody FISH u rostlinných objektů, je složitější příprava preparátů pro vlastní hybridizaci. Dostatečná permeabilizace buněčné stěny a odstranění některých sekundárních rostlinných metabolitů bývají často rozhodujícími faktory, jež ovlivňují úspěšnost *in situ* hybridizace. Testování kvality rostlinných preparátů fázovým, popř. Nomarského diferenciálním kontrastem se ukazuje jako ne vždy dostatečné. Alternativní možností je využití komerčně dostupných protilátek, které však umožňují testovat jen některé rostlinné druhy a navíc jsou příliš finančně nákladné. Naším cílem tedy bylo vyvinout jednoduchou, obecně použitelnou a cenově dostupnou metodu, která umožní otestovat připravenost vytvořených preparátů pro FISH. Těmto účelům nejvíce vyhovovala celogenomová sonda připravená z jaderné DNA druhu, jež je předmětem studia. Takto připravená sonda by měla rovnoměrně hybridizovat se všemi přístupnými DNA sekvencemi na chromozomech, respektive na interfázním jádře.

Celogenomová sonda izolovaná z děložních lístků smrku ztepilého (*Picea abies* (L.) Karst.) byla naznačena biotin-16-dUTP metodou "nick translace". Takto připravená sonda byla hybridizována s roztlakovými preparáty ze synchronizovaných kořenových meristémů smrku ztepilého.

Výsledky jednoznačně ukazují, že distribuce fluorescenčního signálu přesně odpovídá přístupnosti sondy k templátu jak v rámci preparátu, tak i jednotlivých genomových struktur. Námi navržená metoda oproti standardně používaným metodám nejlépe postihuje skutečnou připravenost preparátů pro FISH.

Poděkování: Projekt byl uskutečněn s podporou FRVŠ, grant č.: 1135/2001

**27. M. Valárik, E. Hřibová, J. Šafář, M. Doleželová, H. Šimková, O. Alkhimova, J. Doležel**

(Laboratoř molekulární cytogenetiky a cytometrie, Ústav experimentální botaniky AV ČR, Sokolovská 6, 77200 Olomouc)

**Izolace a charakterizace repetitivních sekvencí DNA u banánovníku (*Musa* spp.).**

Banánovník (*Musa* spp.) má obrovský význam pro ekonomiku tropických oblastí Afriky Ameriky a Asie a výživu jejich obyvatel. V poslední době je produkce banánů ohrožována řadou chorob a škůdců. Většina pěstovaných odrůd jsou sterilní triploidní hybridy pocházející z křížení *M. acuminata* a *M. balbisiana*. Jejich šlechtění klasickými metodami naráží na řadu problémů způsobených mimo jiné také nedostatečnou znalostí struktury genomu. Cílem této práce bylo izolovat repetitivní sekvence DNA banánovníku a určit jejich distribuci na chromozómech. Částečné genomické knihovny DNA byly připraveny u *M. acuminata* "Pisang Mas" a *M. balbisiana* "Cameroun" a použity k vyhledání klonů obsahujících sekvence homologní s geny pro 5S rDNA rýže a 45S rDNA bobu. Izolované sekvence (*Radka1* a *Radka2*) byly vysoce homologní s 26S rDNA a 5S rDNA řady druhů rostlin. Dvacet dalších klonů, označených *Radka3* až *Radka22*, bylo vybráno z knihovny *M. acuminata* na základě viditelných signálů po hybridizaci s genomickou DNA. Sekvence všech klonů byly porovnány s položkami uloženými v GenBank. Dále byl stanoven počet kopií všech sekvencí. Tyto sekvence byly rovněž lokalizovány pomocí FISH na mitotických chromozómech *M. acuminata* "Calcutta 4" a *M. balbisiana* "Tani". Klon *Radka7* byl u obou druhů lokalizován do oblasti organizátoru jadérka, ačkoliv nevykazoval žádnou homologii s klonem *Radka1*. Klony *Radka3*, 5, 6, 8, 9 a 12 byly lokalizovány v centromerických oblastech všech chromozómů u obou druhů. To ukazuje na malé rozdíly v genomické distribuci repetitivních sekvencí DNA mezi *M. acuminata* a *M. balbisiana*. Jedinou výjimkou byla 5S rDNA, u které se oba druhy lišily počtem lokusů. Všechny repetitivní sekvence mají větší počet kopií v genomu *M. acuminata*, který je asi o 12% větší než genom *M. balbisiana*. Získané výsledky naznačují, že repetitivní sekvence DNA přispívají k rozdílu ve velikosti genomů obou druhů, i když ne každá sekvence stejnou měrou. Izolace a charakterizace repetitivních sekvencí DNA podstatně zlepšuje současné znalosti o struktuře chromozómů banánovníku a perspektivně umožní analyzovat evoluci genomů u dnes pěstovaných klonů.

Tato práce byla podpořena projektem reg. č. 8145/RB Mezinárodní agentury pro atomovou energii.



## GENETIKA MIKROORGANISMŮ

28. M. HAVELKOVÁ<sup>1</sup>, E. UNGER<sup>2</sup>, K. AUGSTEN<sup>2</sup>

(1- MU, Pedagogická fakulta, Katedra biologie, Poříčí 7, 603 00 Brno; 2-Ústav molekulární biologie a biotechnologie AV SRN, Jena, SRN)

### Regulace buněčné morfogeneze u kvasinek.

Cílem pokusů bylo získat přesnější znalosti o výskytu a lokalizaci proteinu *calmodulinu* v kvasinkových buňkách a dále zjistit, jaký má tento protein konkrétní význam pro základní životní procesy kvasinek. Přítomnost kalmodulinu byla již dříve popsána u celé řady eukaryontních buněk, včetně buněk kvasinkových. Bylo na příklad zjištěno, že buňky *Saccharomyces cerevisiae* /1/ a *Shizosaccharomyces pombe* /2/, nejsou bez kalmodulinu schopny proliferace. Jaký je však konkrétní význam kalmodulinu pro proliferaci kvasinek, se doposud zjistit nepodařilo. Je známo, že klíčovou roli v proliferaci a v morfogenezi kvasinek plní cytoskelet, zejména jeho aktinová komponenta. Bezchybné fungování aktinového cytoskeletu je mj. podmíněno těsnou kooperací aktinu s některými specifickými proteiny. Chtěli jsme zjistit, zda k těmto důležitým proteinům patří i kalmodulin. Našimi modelovými objekty byly pučící dimorfní kvasinky druhu *Yarrowia lipolytica*. Pracovali jsme jednak s divokým haploidním kmenem /3,4,5/ a jednak s cíleně připravenými mutantami tohoto kmene /6/. Zjistili jsme, že v průběhu buněčného cyklu jsou struktury aktinového cytoskeletu a protein kalmodulin přísně kolokalizovány a že se koncentrují výlučně do těch míst, kde dochází k masivní syntéze buněčné stěny a k proliferaci buněk - tj. do místa tvorby pupene a do místa vzniku septa mezi mateřskou a dceřinnou buňkou. Kalmodulin se však v průběhu buněčného cyklu objevuje na příslušných místech buňky vždy o něco dříve než aktin. Vznikla proto domněnka, že hlavní úloha kalmodulinu spočívá v tom, aby přesně navigoval struktury aktinového cytoskeletu do těch lokalit, ve kterých je buňka právě potřebuje. Studium mutanty A224 (jejíž buňky mají sníženou hladinu kalmodulinu) ukázalo, že aktin je v těchto buňkách polarizován do těchže lokalit, jako v buňkách divokého kmene, které mají kalmodulinu dostatek. Tento výsledek naznačoval, že buďto není kalmodulin pro specifickou distribuci aktinu v buňce nezbytně nutný, anebo, že k distribuci aktinového cytoskeletu postačí jen velice nepatrné množství kalmodulinu. Toto dilema rozhodly pokusy s další mutantou - A225. V buňkách této mutanty dochází v průběhu jediného buněčného

cyklu k prudkému poklesu koncentrace kalmodulinu na hodnoty extrémně nízké. Výsledky pokusů prokázaly, že kalmodulin je pro koncentraci aktinových struktur a pro jejich přesun do potřebných buněčných lokalit naprosto nepostradatelný. Navíc bylo zjištěno, že určitá kritická hladina kalmodulinu je bezpodmínečně potřebná pro završení jaderného dělení. Buněčný cyklus mutant A225 se totiž zastavuje v M-fázi. Další zajímavé poznatky poskytl pozorování buněk ts- mutanty A223. Při kultivaci v restriční teplotě, tj. při 37<sup>0</sup>C, nejsou buňky této mutanty schopny vytvářet pupen. Za čtyři hodiny po přenesení do restriční teploty přestávají buňky pučet, ztrácejí svůj typický tvar kvasinky a mění se ve velké kulaté útvary, obsahující dvě až tři jádra. Jak aktin tak i kalmodulin jsou v těchto vícejaderných buňkách pouze homogenně rozptýleny - bez jakéhokoliv náznaku koncentrace nebo polarizace. Pokusy s buňkami mutanty A223 tak naznačily, že jeden ze základních morfogenetických procesů kvasinky - tj. zahájení tvorby pupene - je těsně spjat s nápadnými změnami v distribuci a koncentraci kalmodulinu a následně i aktinu. Nabízí se proto domněnka, že tyto procesy mohou být regulovány stejným genem. Pro tuto domněnku svědčí i výsledky našich nejnovějších – doposud ještě definitivně neuzavřených - pokusů.

/1/ Davis, T. N., Urdea, M. S., Masiarz, F. R., Thorner, J.: Cell, 47, p. 523 (1986).

/2/ Kilmartin, J. V., Adams, A. E. M.: J. Cell Biol., 98, 922, (1984).

/3/ Hönes, I., Havelková, M., Böhm, K.J., Unger, E.: Cell Biol. Int. 18:5, p. 440 (1994).

/4/ Havelková, M., Unger, E.: Folia Microbiol., 40 (5), p. 556 (1995).

/5/ Havelková, M., Unger, E.: In "Cells" (Ed. J. Berger), p. 61 (1999).

/6/ Havelková, M., Unger, E., Hönes, I.: Folia Microbiol., 45 (1), p. 74 (2000).

**29. E. Miadoková<sup>1</sup>, I. Mašterová<sup>2</sup>, V. Vlčková,<sup>1</sup> V. Dúhová<sup>1</sup>, D. Vlček<sup>1</sup>, J. Tóth<sup>2</sup>**

(<sup>1</sup>Department of Genetics, Faculty of Sciences, Comenius University, 84215 Bratislava, Slovakia; <sup>2</sup>Department of Pharmacognosy and Botany, Faculty of Pharmacy, Comenius University, 83232 Bratislava, Slovakia)

**Antimutagenicity of homoisoflavonoids.**

Extract isolated from *Muscari racemosum* bulbs (EMR), containing three homoisoflavonoids, has an evident antioxidant activity. Its antimutagenic potential was investigated using the *Salmonella typhimurium* mutagenicity assay, the *Saccharomyces cerevisiae* toxicity and mutagenicity assay, and the *Vicia sativa* chromosomal aberration assay. It was an effort to study EMR in relation to mutagenicity/carcinogenicity of some agents. The antimutagenic capacity of EMR was evaluated as its ability to facilitate the mutagenicity reduction of direct-acting and indirect-acting mutagens/carcinogens. EMR was applied on bacterial strains *Salmonella typhimurium* TA97, TA98, TA100 and TA102, and the significant dose-dependent antimutagenic effect of EMR was proved. The extract exerted the significant dose-dependent antimutagenic effect against 4-NQO-induced mutagenesis in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. At the highest concentration used EMR 3-fold decreased the frequency of gene convertants at the *trp5* locus and revertants at the *ilvI* locus. After application on *Vicia sativa* EMR significantly reduced maleic hydrazide-induced clastogenicity. Our data indicate that homoisoflavonoids in EMR possess antimutagenic and anticlastogenic properties and can be included in the group of natural antimutagens acting in a desmutagenic manner.

**Aknowledgements**

This investigation was supported by grants of the Slovak Grant Agency VEGA number 1/8214/01, 1/9152/02

**30. E. Miadoková<sup>1</sup>, G. Kogan<sup>2</sup>, D. Liszeková<sup>1</sup>, P. Rauko<sup>3</sup>**

(<sup>1</sup>Department of Genetics, Faculty of Sciences, Comenius University, 845 15 Bratislava, Slovakia; <sup>2</sup>Institute of Chemistry of Slovak Academy of Sciences, 842 38 Bratislava, Slovakia; <sup>3</sup>Cancer Research Institute, 833 91 Bratislava, Slovakia)

**Different genotoxicological potential of mine waters containing heavy metals.**

Two samples of the acid-mine water containing heavy metals, collected in the year 1995 and 1998 in the former mining area of Banská Štiavnica-Šobov (Slovakia) were assayed for their genotoxic potential by the Ames assay and DNA-topology assay. The sample collected in the year 1995 significantly increased the frequency of his<sup>+</sup> revertants after its application on bacterial strain *Salmonella typhimurium* TA97 (without metabolic activation), and TA102 (with metabolic activation). However, the sample collected in the year 1998 did not increase the frequency of his<sup>+</sup> revertants in the same bacterial strains. But, the DNA-topology assay, based on electrophoretically monitored changes induced in the DNA topology, indicated the changed electrophoretic mobility of the plasmid DNA treated by this sample, probably due to the high content of iron. As the DNA-topology assay sensitively responded to metal(s) occurrence in the sample collected in the year 1998, results obtained proved that it might be still hazardous for the environment.

**Aknowledgements**

This investigation was supported by grants of the Slovak Grant Agency VEGA number 2/7048/2000, 1/9152/02, 2/1048/21

**31. B. Nagyová, M. Slaninová, A. Ševčovičová, D. Vlček**

(Katedra Genetiky PriFUK, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava 4)

**Funkcia *UVS11* génu riasy *Chlamydomonas reinhardtii* vo vzťahu k bunkového cyklu a jeho analógia s *RAD9* génom kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*.**

*RAD9* gén *Saccharomyces cerevisiae* je súčasťou signálnej dráhy aktivovanej po poškodení DNA. Výsledkom aktivácie je zastavenie bunkového cyklu v kontrolnom bode a indukcia transkripcie génov podieľajúcich sa na metabolizme a reparácii DNA. U *Chlamydomonas reinhardtii* bol izolovaný reparačne-deficitný mutant *uvs11*, ktorého fenotypový prejav po pôsobení UV-žiarenia sa podobal *rad9* mutantovi *S. cerevisiae*. Porovnali sme reakcie oboch mutantov na úrovni fenotypu po ovplyvnení UV 254 nm a MMS a vplyv mikrotubulového inhibítora MBC na zmenu prežívania buniek. Tiež sme skonštruovali plazmid pBN9 s *RAD9* génom, vhodný na komplementáciu *uvs11* mutantu optimalizovanou transformačnou metódou. Výsledky našej práce naznačujú analógiu reparačných stratégií bunky po poškodení DNA u heterotrofných a fotoautotrofných organizmov.

### **32. J. Nosek, E. Tomáška**

(Katedry biochémie a genetiky Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského, Mlynská dolina CH-1 a B-1, 842 15 Bratislava)

#### **Lineárne mitochondriálne genómy kvasiniek: Model pre štúdium alternatívnych, na telomeráze nezávislých, mechanizmov replikácie telomér.**

Štúdium replikačných stratégií, ktoré využívajú chromozómy eukaryotických i prokaryotických buniek, plazmidy, vírusy a organelové genómy môže odhaliť alternatívne riešenia problému replikácie koncov lineárnych molekúl DNA (*end replication problem*) ako aj objasniť ich evolučný pôvod. Analýza lineárnych mitochondriálnych genómov ukázala, že ich vznik bol sprevádzaný vytvorením špecifických terminálnych štruktúr (mitochondriálnych telomér) a adaptáciou existujúcej replikačnej mašinerie, ktoré umožnili replikáciu lineárnej formy organelového genofóru.

S cieľom pochopiť biologickú úlohu mitochondriálnych telomér sme náš výskum zamerali na lineárny mitochondriálny genóm patogénnej kvasinky *Candida parapsilosis*. Jej mitochondriálne teloméry pozostávajú z tandemových repetícií 738 bp dlhého sekvenčného motívu, pričom variabilita počtu repetitívnych jednotiek vytvára populáciu molekúl mtDNA s heterogénnou dĺžkou koncových sekvencií. Na oboch koncoch molekuly mtDNA je prečnievajúce 5' vlákno, ktoré je rozpoznávané špecifickým mitochondriálnu teloméru viažúcim proteínom (mtTBP). Tento proteín chráni jednovláknový úsek molekuly pred enzymatickou degradáciou a participuje tak na ochranej (*capping*) funkcii telomér.

Analýza replikačných intermediátov lineárnej mtDNA *C. parapsilosis* dvojrozmernou gélovou elektroforézou navyše viedla k identifikácii série extragenomických minicirkulárnych molekúl derivovaných výlučne z telomerickej sekvencie. Ich molekulárna povaha naznačuje, že tieto molekuly sa podieľajú na novom, na telomeráze nezávislom, mechanizme replikácie telomér.

### **33. E. Oráčová, V. Kvardová, R. Pantůček, J. Doškař**

(Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity v Brně, Katedra genetiky a molekulární biologie, Kotlářská 2, 611 37 Brno)

#### **Detekce profágů v kmenech *Staphylococcus aureus* pomocí multiplex PCR.**

V genomech typizačních fágů *S. aureus* mezinárodní řady byly vyhledány sekvence specifické pro fágové druhy séroskupin A (fág 3A, 5 003 bp), B (fág 53, 3 926 bp), F (fág 77, 3 398 bp) a L (fág 187, 1 927 bp). Hybridizační sondy připravené z těchto sekvencí detekují v lyzogenních kmenech *S. aureus* profágy příslušných fágových druhů. K usnadnění detekce profágů byly pro každou ze specifických sond stanoveny sekvence a navrženy PCR-primery, umožňující získat pro každý fágový druh amplifikační produkt charakteristické velikosti (pro fágy serologické skupiny A: 3A-F 5' CTT TGA CAT GAC ATC CGC TTG AC 3' a 3A-R 5' TAT CAG GCG AGA ATT AAG GG 3', produkt 745 bp; pro fágy serologické skupiny B: 53-F 5' ACT TAT CCA GGT GGY GTT ATT G 3' a 53-R 5' TGT ATT TAA TTT CGC CGT TAG TG 3', produkt 405 bp; pro fágy serologické skupiny F: 77-F 5' TAC GGG AAA ATA TTC GGA AG 3' a 77-R 5' ATA ATC CGC ACC TCA TTC CT 3', produkt 548 bp a pro fágy serologické skupiny L: 187-F 5' GTT ACC TGA AAT GTC CCC TCT 3' a 187-R 5' CTG TTT TAA GCC CAC CAT CAC 3', produkt 970 bp). Optimalizací sady primerů byla zavedena multiplex PCR pro přímý důkaz přítomnosti profágů jednotlivých druhů v jediné PCR-reakci. Metoda detekce profágů byla ověřena jak na uměle lyzogenizovaných kmenech připravených na našem pracovišti, tak na kmenech z klinického materiálu. S využitím této techniky byly prokázány významné rozdíly v obsahu profágů u meticilin-rezistentních kmenů. Srovnání diskriminační schopnosti několika genotypizačních metod (PFGE, ribotypizace) prokázalo, že stanovení rozdílů v obsahu profágů představuje velmi citlivou typizační metodu, která je vhodná i pro odlišení blízce příbuzných kmenů.

Práce je podporována granty FRVŠ 0565/2001 a MSM 143100008.

**34. V. Ružičková<sup>1</sup>, R. Hrstka<sup>1</sup>, J. Hradilová<sup>1</sup>, E. Michalová<sup>1</sup>, A. M. Mbaye<sup>1</sup>, P. Petráš<sup>2</sup>**

(<sup>1</sup>Katedra genetiky a mol. biologie, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity v Brně; <sup>2</sup>Státní zdravotní ústav, NRL, Praha 10)

**Molekulární identifikace genů kódujících tři typy toxinů u *Staphylococcus aureus*.**

*Staphylococcus aureus* je významným bakteriálním původcem závažných nozokomiálních infekcí. Některé jeho kmeny produkují toxiny, které mohou u lidí způsobit toxické epidermolýzy, alimentární enterotoxikózy anebo syndrom toxického šoku. S využitím specifických oligonukleotidových primerů byla v genomových DNA 84 toxinogenních kmenů *S. aureus* provedena identifikace strukturních genů kódujících exfoliatiny ETA a ETB, toxin syndromu toxického šoku TSST-1 a enterotoxiny SEA, SEB a SEC. Přítomnost jednotlivých genů byla potvrzena vznikem specifických PCR produktů (bp): *eta* ~119, *etb* ~200, *tsst* ~390, *sea* ~180 (jeden SEA-kmen měl 250bp amplikon, obsahující inzerci), *seb* ~478, *sec*<sub>1</sub> ~257 a *sec*<sub>2,3</sub> ~360. Hybridizací s digoxigeninem značenými molekulárními sondami, připravenými v PCR, byly lokalizovány sekvence genů kódujících jednotlivé exotoxiny na následujících DNA fragmentech: gen *tst* na 83bp *Sma*I fragmentu u 67 % TSST-kmenů a na 260bp fragmentu u 29 % TSST-1 kmenů. Sekvence genu *eta* byly u ET-pozitivních kmenů většinou lokalizovány na 6,2 a 4,2 bp *Hind*III fragmentech a na 4,9 a 2,5 bp *Eco*RI fragmentech. U tří kmenů, které tvořily exfoliatin ETB současně s exfoliatinem ETA, byla hybridizací prokázána lokalizace *etb* genu na 40kb plazmidu. Gen *sea*, kódující enterotoxin A, byl lokalizován na 8,6kb *Eco*RI a *Hind*III fragmentu u všech SEA-kmenů. U kmenů produkujících SEC<sub>1</sub> a SEC<sub>2,3</sub> molekulární sonda hybridizovala se třemi *Hind*III fragmenty (6, 5 a 3 kb), což indikuje výskyt více kopií sekvencí genů kódujících enterotoxiny skupiny C. Ukázalo se, že PCR s použitím specifických primerů je vhodnou metodou pro rychlou identifikaci toxinogenních kmenů *S. aureus*, avšak je třeba ji upřesnit hybridizací genomové DNA se specifickou molekulární sondou.



**35. M. Slaninová, E. Gálová, B. Nagyová, K. Bišová<sup>1</sup>, J. Hendrychová<sup>1</sup>, V. Zachleder<sup>1</sup>, D. Vlček**

(Katedra Genetiky PriFUK, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, <sup>1</sup>Laboratoř buněčných cyklů, Oddělení autotrofních mikroorganismů, Mikrobiologický ústav AVČR, 379 81 Třeboň, Opatovický mlýn)

**Štúdium regulácie bunkového cyklu po poškodení DNA u reparačne defektného kmeňa *uvs11 Chlamydomonas reinhardtii*.**

Bunky *Chlamydomonas* prechádzajú postupne niekoľkými rastovými fázami bunkového cyklu. Po ukončení rastu bunky prebehne za sebou niekoľko replikácií DNA a následne jadrových delení. Za reguláciu bunkového cyklu sú zodpovedné „cyklín-dependentné kinázy“, ktoré patria do rodiny kináz, ktoré fosforylujú serín a treonín. Aktivita kinázy, ktorá fosforyluje histón H1, osciluje v priebehu bunkového cyklu a dosahuje vrcholy pri prechode jednotlivými regulačnými bodmi. Ďalšie vrcholy dosahuje počas replikácie DNA a mitózy. Kmeň *uvs11* rias *Chlamydomonas reinhardtii*, štúdiom ktorého sa zaoberáme už niekoľko rokov, má po poškodení DNA rôznymi mutagénmi podobnú morfológiu buniek a kolónií ako kmeň *rad9* kvasiniek *S. cerevisiae*. *RAD9* gén je jedným z kľúčových génov, ktoré sa podieľajú na zastavení bunkového cyklu po poškodení DNA. Doterajšie výsledky naznačujú pravdepodobnosť analogickej funkcie *RAD9* génu *S. cerevisiae* a *UVS11* génu *Chlamydomonas reinhardtii*. Detailná analýza bunkového cyklu *uvs11* kmeňa umožnila určiť regulačné body bunkového cyklu a stanoviť aktivitu kinázy v jednotlivých fázach bunkového cyklu. Zároveň nám umožnila porovnanie aktivity kinázy u *uvs11* kmeňa a štandardného kmeňa po poškodení UV žiarením 254 nm.

### 36. V. Vlčková, K. Orlická, E. Miadoková

(Katedra genetiky Prírodovedeckej fakulty UK, Mlynská dolina B 1, 842 15 Bratislava, Slovenská republika)

#### **Antimutagenný efekt $\alpha$ -lipoovej kyseliny na modelovom testovacom objekte *Saccharomyces cerevisiae*.**

Oxidované bázy sa objavujú v DNA ako dôsledok ataku kyslíkových voľných radikálov. Tieto reaktívne kyslíkové radikály vznikajú s vysokou frekvenciou v rámci endogénnych metabolických procesov, ako aj po exogénnych chemických faktoroch. Mutagénny a karcinogénny účinok ako následok takýchto procesov môže byť znížený pomocou iných látok majúcich antimutagénne, resp. antikarcinogénne účinky. Medzi takéto látky patrí aj kyselina  $\alpha$ -lipoová (LA). LA vychytáva v bunkách reaktívne radikály prítomné v lipidickej aj vodnej fáze, čím pôsobí ako antioxidant v biologických systémoch (Packer a kol. 1995).

Potenciálny antimutagénny účinok kyseliny  $\alpha$ -lipoovej sme testovali v kombinácii s pozitívnym mutagénom 4-nitrochinolin 1-oxidom (4-NQO) na kvasinkovom testovacom modelovom objekte *Saccharomyces cerevisiae* D7.

LA v najvyššej použitej koncentrácii štatisticky preukazne znižovala frekvenciu génových reverzných mutácií v *ilv1* lokuse indukovanú 4-NQO až 7-násobne. LA taktiež preukazne (4-násobne) znižovala frekvenciu mitotických génových konvertantov v *trp 5* lokuse a 2-násobne frekvenciu celkových odchýliek v *ade2* lokuse indukovaných pomocou 4-NQO.

Uvedené výsledky potvrdili antimutagénny efekt kyseliny  $\alpha$ -lipoovej na kvasinkách.

Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J. (1995): Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. Free Radical Bio. Med., 19, 227-250.

Práca bola podporovaná grantom VEGA SR 1/6075/99).

## OBECNÁ GENETIKA

### 37. T. Pilčík

(Ústav molekulární genetiky AV ČR, Flemingovo nám. 2, Praha 6; Katedra genetiky a mikrobiologie, přírodovědecká fakulta UK, Viničná 5, Praha 2)

#### **Užití statistických metod v českých vědeckých časopisech z oblasti biologie a genetiky v roce 2000.**

Statistická analýza experimentálních dat je dnes nedílnou součástí převážné většiny vědeckých prací i v oblasti biologie a genetiky. Kvalitní analýza dat může ukázat na zatím neznámé vztahy mezi jevy, a tím přispět k rozšíření horizontu poznání, ledabylá analýza může zavést badatele na scestí.

Porovnávali jsme užití statistických metod v článcích ve třech vědeckých časopisech z oblasti biologie a genetiky, vydávaných ústavu Akademie věd České republiky v roce 2000: Folia Biologica (Ústav molekulární genetiky AV ČR), Folia Microbiologica (Mikrobiologický ústav AV ČR) a Physiological Research (Fyziologický ústav AV ČR).

Zaznamenávali jsme jak grafické, tak numerické prezentování výsledků. Při grafické prezentaci výsledků nás zajímala vhodnost zvoleného typu grafu pro prezentovaná data a případné užití metod průzkumové analýzy dat (EDA).

Při numerickém prezentování výsledků v práci jsme si všímali přiměřeného užití základních popisných statistik, vhodnosti a přiměřenosti použité statistické metody a splnění jejich vstupních podmínek. Dále jsme věnovali pozornost užití modernějších statistických metod.

Další sledované parametry byly: úplnost popisu experimentu nebo pozorování, popis nebo citování použitých statistických metod a citování statistického software, pokud byl k analýze dat použit.

Výsledky naší práce ukazují obdobnou či horší situaci v porovnání se světovými lékařskými časopisy, které podobné rozborů svých článků čas od času publikují. V časopise Transfusion (Transfusion 34: 697-701, 1994) v letech 92/93 bylo nedostatečně definováno vyjádření výsledků pomocí "±" ve 25% článků, ve Folia Biologica v roce 2000 ve 27%, 13% nedostatečně definovaných použitých statistických testů v Transfusion oproti cca 50% ve Folia Biologica. Některé jiné parametry nelze srovnávat, například použití parametrického testu pro analýzu dat s nenormální distribucí (v Transfusion v 8% článků, v našich časopisech se údaje o distribuci dat zpravidla neuvádějí). Z výše uvedeného plyne, že spolupráce s profesionálním statistikem by nebyla zbytečným luxusem pro redakci žádného z časopisů, které jsme zahrnuli do našeho rozboru.

### **38. P. Saxová, C. Keřmir, S. Buus, S. Brunak**

(Katedra experimentálnej botaniky a genetiky, Prír. Fakulta UPJŠ, Mánesova 23, 041 54 Kořice, Slovensko)

#### **Porovnanie troch dostupných metód na predikciu proteazomálnych řtiepných miest.**

Proteazóm hrá dôležitú úlohu v imunitnej odpovedi hostiteľa: degradovaním vlastných a cudzích proteínov produkuje podstatnú časť peptidov, ktoré sa nachádzajú na povrchu bunky a slúžia na ich rozpoznanie cytotoxickými T lymfocytmi. V súčasnosti sú dostupné tri rôzne metódy na predikciu špecifickosti proteazómu. V práci sme sa zamerali na porovnanie úspešnosti týchto metód v predikcii proteazomálnych řtiepných miest. Metódy boli testované na množine 249 peptidov, ktoré boli prevzaté z databázy SYFPEITHI. Podľa našich výsledkov najúspešnejšou bola metóda používajúca neurónové siete; dokázala určiť správne približne 70 % řtiepných miest. Tento príspevok poukazuje na to, že po nahromadení väčšieho množstva kvalitatívnych údajov o řtiepení proteínov proteazómom si tieto metódy budú vyžadovať ďalšie zdokonalenie.

---

### **39. E. Hlinková, T. Suchá**

(Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta UK, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava 4)

#### **Biochemické charakteristiky niektorých Pr a Dr proteínov identifikované v infikovaných listoch jačmeňa v období sporulácie múčnatky jačmenej.**

## Seznam účastníků Genetické konference

Radka Aixnerová  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

Olena Alkhimova, Ph.D.  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Mgr. Jan Bartoš  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Mgr. Zuzana Bartošová  
Ústav genetiky a biotechnologií rostlin SAV  
Akademická 2  
950 07 Nitra  
Slovenská republika

Hana Blažková  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Flemingovo nám. 2  
166 37 Praha 6  
Česká republika

Mgr. Eva Bozsakyova  
Ústav experimentálnej onkológie SAV  
Vlárská 7  
833 91 Bratislava  
Slovenská republika

Ing. Ingrid Brežňanová  
Jana Švermu 43  
674 04 Banská Bystrica  
Slovenská republika

Prof. RNDr. Eva Čellárová, CSc.  
Katedra experimentálnej botaniky a genetiky  
Prírodovedecká fakulta UPJŠ Košice  
Mánesova 23  
04 154 Košice  
Slovenská republika

RNDr. Jarmila Číhalíková  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

MUDr. Stoil Dimitrov, CSc.  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

Mgr. Petr Divina  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

Doc. Ing. Jaroslav Doležel, CSc.  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Ing. Marie Doleželová  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Doc. RNDr. Jiří Doškař, CSc.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Prof. Ing. Josef Dvořák, CSc.  
Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně  
Zemědělská 1  
613 00 Brno  
Česká republika

RNDr. Jiří Fajkus, CSc.  
Laboratoř funkční genomiky a proteomiky  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Doc. RNDr. Vlado Ferák, CSc.  
Katedra molekulárnej biológie  
Prírodovedecká fakulta UK  
Mlynská dolina B2  
842 15 Bratislava 4  
Slovenská republika

MUDr. Jiří Forejt, DrSc.  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

RNDr. Eliška Gálová, Ph.D.  
Katedra genetiky  
Prírodovedecká fakulta UK  
Mlynská dolina  
842 15 Bratislava 4  
Slovenská republika

RNDr. Soňa Gregorová  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

Doc. MUDr. Marie Havelková, CSc.  
Katedra biologie  
Pedagogická fakulta MU  
Poříčí 7  
603 00 Brno  
Česká republika

Bc. Sylva Hlaváčová  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

RNDr. Elena Hlinková, CSc.  
Katedra genetiky  
Prírodovedecká fakulta UK  
Mlynská dolina  
842 15 Bratislava 4  
Slovenská republika

David Homolka  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

Prof. RNDr. et MVDr. Petr Hořín, CSc.  
Fakulta veterinárního lékařství VFU  
Palackého 1/3  
612 00 Brno  
Česká republika

RNDr. Ivan Chalupa, CSc.  
Ústav experimentálnej onkológie SAV  
Vlárská 7  
833 91 Bratislava  
Slovenská republika

RNDr. Vlastimila Chalupová, CSc.  
Ústav biologie  
Lékařská fakulta UP  
Hněvotínská 3  
775 15 Olomouc  
Česká republika

RNDr. Ing. Karel Chroust, Dr.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Mgr. Jaroslav Janda  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Ing. Petr Jansa, CSc.  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

RNDr. Jana Kailerová, CSc.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Mgr. Katarína Klubicová  
Jana Švermu 43  
674 04 Banská Bystrica  
Slovenská republika

RNDr. Andrej Kormuťák, DrSc.  
Ústav genetiky a biotechnologií rostlin SAV  
Akademická 2  
P.O.Box 39A  
950 07 Nitra  
Slovenská republika

Mgr. Marcela Kosařová, Dr.  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Flemingovo nám. 2  
166 37 Praha 6  
Česká republika

Mgr. Jano Križan  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

Ing. Marie Kubaláková  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Blanka Kučejevová  
Katedra biochemie  
Přírodovědecká fakulta UK  
Mlynská dolina CH-1  
842 15 Bratislava 4  
Slovenská republika

RNDr. Petr Kuglík, CSc.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Mgr. Zdeňka Kyjovská  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

RNDr. Věra Lusková, Ph.D.  
Ústav biologie obratlovců AV ČR  
Oddělení ichthyologie  
Květná 8  
603 65 Brno  
Česká republika

Doc. RNDr. Jaroslav Mareš, CSc.  
ÚBLG  
2. Lékařská fakulta UK  
V úvalu 84  
150 00 Praha 5  
Česká republika

RNDr. Jan Martinec  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Rozvojova 135  
165 02 Praha 6  
Česká republika

Prof. RNDr. Eva Miadoková, DrSc.  
Katedra genetiky  
Přírodovědecká fakulta UK  
Mlynská dolina B1  
842 15 Bratislava  
Slovenská republika

Mgr. Ondra Mihola  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

Prof. Ing. Kyra Michalová, DrSc.  
Centrum nádorové cytogenetiky  
Všeobecná fakultní nemocnice  
III. interní klinika  
U Nemocnice 1  
120 00 Praha 2  
Česká republika

Mgr. Barbara Nagyová  
Katedra genetiky  
Přírodovědecká fakulta UK  
Mlynská dolina  
842 15 Bratislava 4  
Slovenská republika

RNDr. Jan Nedělník, Ph.D.  
Výzkumný ústav pícninářský, s.r.o.  
664 41 Troubsko  
Česká republika

Doc. RNDr. Jozef Nosek, CSc.  
Katedra biochémie  
Přírodovědecká fakulta UK  
Mlynská dolina CH-1  
842 15 Bratislava 4  
Slovenská republika

Doc. RNDr. Miloš Ondřej, DrSc.  
Ústav molekulární biologie rostlin AV ČR  
Branišovská 31  
370 05 České Budějovice  
Česká republika

RNDr. Roman Pantůček, Ph.D.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Doc. RNDr. Miroslav Pidra, CSc.  
Zahradnická fakulta MZLU  
Mendeleum  
691 44 Lednice na Moravě  
Česká republika

Doc. RNDr. Petr Pikálek, CSc.  
Katedra genetiky a mikrobiologie  
Přírodovědecká fakulta UK  
Viničná 5  
128 44 Praha 2  
Česká republika

Mgr. Tomáš Pilčík  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Flemingovo nám. 2  
166 37 Praha 6  
Česká republika

RNDr. Miroslav Piršel, CSc.  
Ústav experimentálnej onkológie SAV  
Vlárská 7  
833 91 Bratislava 37  
Slovenská republika

Ing. Radomír Pokorný, Ph.D.  
Výzkumný ústav pícninářský, s.r.o.  
664 41 Troubsko  
Česká republika

Mgr. Hana Radilová  
Pohranovská 296  
533 53 Pardubice  
Česká republika

Prof. RNDr. Jiřina Relichová, CSc.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Prof. RNDr. Stanislav Rosypal, DrSc.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

RNDr. Vladislava Růžičková, CSc.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Mgr. Kateřina Rychtářová  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

RNDr. Jana Řepková, CSc.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Judita Sadovská  
Katedra biochémie  
Přírodovědecká fakulta UK  
Mlynská dolina CH-1  
842 15 Bratislava 4  
Slovenská republika



RNDr. Patricia Saxová  
Katedra experimentálnej botaniky  
a genetiky  
Prírodovedecká fakulta UPJŠ Košice  
Mánesova 23  
04 154 Košice  
Slovenská republika

Doc. Ing. Zdeněk Sedláček, CSc.  
ÚBLG  
2. lékařská fakulta UK  
V úvalu 84  
150 06 Praha 5  
Česká republika

David Schlegl  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Flemingovo nám. 2  
166 37 Praha 6  
Česká republika

Mgr. Kamila Skalická  
Biofyzikální ústav AV ČR  
Královopolská 135  
612 65 Brno  
Česká republika

Mgr. Miroslava Slaninová, Ph.D.  
Katedra genetiky  
Prírodovedecká fakulta UK  
Mlynská dolina  
842 15 Bratislava 4  
Slovenská republika

RNDr. Marta Smolíková  
Výzkumný ústav pícninářský, s.r.o.  
664 41 Troubsko  
Česká republika

Mgr. Jan Šafář  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Mgr. Dana Šafářová  
Katedra buněčné biologie a genetiky  
Prírodovedecká fakulta UP Olomouc  
Šlechtitelů 11  
783 71 Olomouc-Holice  
Česká republika

Ing. Anita Ševčenková  
Jana Švermu 43  
674 04 Banská Bystrica  
Slovenská republika

Ing. Jana Šimurková  
SELEKT, VŠÚ a.s. Bučany  
919 28 Bučany  
Slovenská republika

Doc. RNDr. Jan Šmarda, CSc.  
Katedra genetiky a molekulární biologie  
Masarykova univerzita Brno  
Přírodovědecká fakulta  
Kotlářská 2  
611 37 Brno  
Česká republika

Ing. Jakub Šmerda  
Agronomická fakulta MZLU  
Ústav botaniky a fyziologie rostlin  
Zemědělská 1  
613 00 Brno  
Česká republika

RNDr. Dana Šubová, CSc.  
Slovenské muzeum ochrany přírody a jaskyniarstva  
Sokolská 4  
033 01 Liptovský Mikuláš  
Slovenská republika

Ing. Zdeněk Trachtulec, CSc.  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Vídeňská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

RNDr. Marie Trková, Ph.D.  
ÚBLG  
2. lékařská fakulta UK  
V úvalu 84  
150 06 Praha 5  
Česká republika

Ing. Ivo Ůberall  
Agronomická fakulta MZLU  
Ústav botaniky a fyziologie rostlin  
Zemědělská 1  
613 00 Brno  
Česká republika

Ing. Tomáš Vacík  
Ústav molekulární genetiky AV ČR  
Víteňská 1083  
142 20 Praha 4  
Česká republika

Mgr. Miroslav Valárik  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Mgr. Pavlína Váňová  
Tyršovo nábřeží 824  
756 61 Rožnov p. Radhoštěm  
Česká republika

Prof. RNDr. Daniel Vlček, DrSc.  
Katedra genetiky  
Přírodovědecká fakulta UK  
Mlynská dolina B1  
842 15 Bratislava  
Slovenská republika

Doc. RNDr. Viera Vlčková, CSc.  
Katedra genetiky  
Přírodovědecká fakulta UK  
Mlynská dolina B1  
842 15 Bratislava  
Slovenská republika

Doc. RNDr. Vladimír Vondřejš, CSc.  
Katedra genetiky a mikrobiologie  
Přírodovědecká fakulta UK  
Viničná 5  
128 44 Praha 2  
Česká republika

Mgr. Jan Vrána  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Jitka Weiserová  
Ústav experimentální botaniky AV ČR  
Sokolovská 6  
772 00 Olomouc  
Česká republika

Prof. RNDr. Stanislav Zadražil, DrSc.  
Katedra genetiky a mikrobiologie  
Přírodovědecká fakulta UK  
Viničná 5  
128 44 Praha 2  
Česká republika

Mgr. Eva Zahradníčková  
Příční 9  
602 00 Brno  
Česká republika

## Seznam firem, které se podílely na financování Genetické konference

**Applera Česká republika, s.r.o.**

Křenová 7  
162 00 Praha 6

**Bio-Rad, s. r. o.**

Nad Ostrovem 1119/7  
147 00 Praha 4

**East Port Praha, s.r.o.**

Rubličova 1/969  
161 00 Praha 6

**CHEMOS Cz, s.r.o.**

Štěrboholská 28  
102 00 Praha 10

**DYNEX technologies, s.r.o.**

Na čihadle 32  
160 00 Praha 6

**KRD molecular technologies**

Plzeňská 552/265  
155 00 Praha 5

**Laboratory Imaging, s.r.o.**

Pod Úpadem 901/63  
149 00 Praha-Háje

**Roche Molecular Biochemicals**

Roche, s.r.o.  
Dukelských hrdinů 52  
170 00 Praha 7

**Schoeller Instruments, s.r.o.**

Polední 22  
147 00 Praha 4

**Sigma-Aldrich, s.r.o.**

Pobřežní 46  
186 21 Praha 8

Reagencie pro PCR a RT-PCR

Termocyklery pro PCR

Systémy pro izolaci DNA a RNA

TaqMan™ - Přístroje a chemikálie pro kvantitativní PCR v reálném čase



**ABI PRISM**™

Automatické genetické analyzátoři

Sekvenátory DNA

Syntežátory DNA

Reagencie a software pro:

Sekvenování DNA

Fragmentační analýzu

Diagnostické soupravy

Aplikační kity

**Proteomika**

Sekvenátory proteinů

Syntežátory peptidů

Bio-specifické HPLC

Perfusní chromatografy

POROS- náplně do chromatografických kolon

Systémy pro organickou syntézu

**Hmotnostní spektrometrie**

LC/MS a LC/MS/MS  
spektrometry

MALDI-TOF spektrometry

ESI-TOF spektrometry

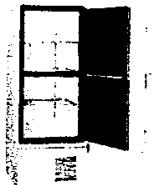
Zastoupení v České republice – prodej, podpora, servis:  
Applera Česká republika s.r.o., Křenova 7, 162 00 Praha 6;  
Tel: 02 - 353 651 89 – 90; Fax:02 - 353 643 14



## SANYO

### **-86 °C mrazící boxy**

- nové VIP izolace
- tloušťka stěny 7 cm!
- 519 l = 352 2" krabiček
- 728 l = 528 2" krabiček
- libovolná rozteč polic



Samostatně uzavíratelné sekce, levné tuzemské racky a krabičky.

## SANYO

### **CO<sub>2</sub> inkubátory**

- IR senzor
- vnitřní prostor ze slitiny mědi a nerezové oceli
- užitný objem 164, 195 l
- UV sterilizace



Inteligentní systém regulace - nezávislé vyhřívání stěn, dna a dveří boxu.

## LIEBHERR

### **Profi lednice**

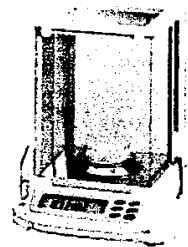
- FKS 3600 (360l) 23 170 Kč
  - FKS 5000 (500l) 24 400 Kč
  - UKS 5000 (500l) 31 700 Kč
- displej, nucená cirkulace

### **Profi mrazící boxy**

- TGS 4000 (400l) 34 200 Kč
- TGS 5200 (520l) 36 600 Kč

## AND

- předvážky
- předvážky s int. kalibrací
- analytické váhy automatická kalibrace



GR 120 (120 g x 0,1 mg) - **75 300 Kč**

## TECAN-SLT

### **GENios ..... 450 000 Kč**

- fluorescence 340 - 700 nm
- luminiscence 400 - 700 nm
- absorbance 230 - 1000 nm
- měření v PCR mikrozkušavkách, kyvetách i destičkách do 384 jamek

Softwarové přepínání filtrů, měření horní a spodní fluorescence.

## BIOMETRA

### **Tgradient cykler**

- lineární teplotní gradient
- ohřev 4 °C/s
- chlazení 3 °C/s
- uniformita +/- 0,3 °C
- nastavitelné vyhř. víko



Kapacita 96 x 0,2 ml, 48 x 0,5 ml, *in situ* blok a 384-jamková destička.

East Port s.r.o. zastupuje v České republice níže uvedené zahraniční společnosti, a dovoluje si Vám nabídnout jejich následující produkty:

**Alpha Innotech:** digitální zobrazovací systémy pro dokumentaci gelů, archivací, fluorescenční a chemiluminiscenční CCD detektory, Gene Arrays ready, detekce radioaktivně značených vzorků

**Alpha Laboratories:** PCR kumavky volně vstřípech, výměnné špičky pro všechny druhy pipet, filtry, filtry, centrifugační mikrokumavky, mikrodestičky pro Elisa testy, kryozkumavky, plastové organizéry

**Berthold Detection systems:** luminometry s kyvet-portem, injektorové luminometry, mikrodestičkové luminometry, luminiscenční test plate

**Bibby Sterilin:** laboratorní nádoba jiného typu zeskla a plastu; *Azlon:* umělohmotné laboratorní potřeby navíc použití; *Cell Biology:* plastové nádoby pro kultivaci tkáňových kultur, *Hysil:* borosilikátové sklo, *Pyrex:* laboratorní sklo, *Sterilin:* umělohmotné laboratorní potřeby na jednorázové použití, *Stuart Scientific:* široké spektrum laboratorní techniky (třepačky, inkubátory, vodní lázně, sušárny, vyhřívaná míchadla, mixéry, aparatury proměření bodutí), *BS Equipment:* termostátová míchadla, pipetové dávkovače, destilační přístroje

**Biohit:** mechanická a elektronická pipety řady Proline a E-line, 1–12 kanálové, lahvové dávkovače, dispensery, špičky a příslušenství

**BioWhittaker (FMC):** bioprodukty pro separaci DNA a RNA, standardní agarózy, sekvenční roztoky pro analyzátoři, precast gely, DNA a RNA markery, produkty DNA a PCR purifikaci

**Heidolph:** třepačky 2–10 kg, vortex, termostaty, inkubátory, shakery

**Jenway:** spektrofotometry, elektrochemické analyzátoři, iontové selektivní analyzátoři, kolorimetry, plamenofotometry, konduktometry, pH-metry, DO<sub>2</sub> metry, chloridometry, fluorometry, měřiče vlhkosti, termometry

**MART Anoxomat:** řízený systém kultivace v anaerobním a mikroaerobním prostředí

**Medi-Cult:** produkty pro asistovanou reprodukci, média pro IVF program

**Molecular Devices:** *Spektrofotometrie:* UV/VIS ready mikrodestiček, ELISA ready; *Fluorescenční detektory:* GeminiXS, FLEXstation, FLIPR, SreenStation, AnalystAD, HT *Dispensery:* Aquamax96/1536 *Luminiscence:* Lmax microplate Promovačky destiček Skatron, buněčné Harvestery

**MWG-BIOTECH:** komplexní řada termocyklérů Primus 25/96/384, HTR technologie, PCR soustavy, PCR linky, DNA-oligosyntéza, Genomesequencing, DNA chips, cDNA knihovny, PCR produkty, Affymetrix Array Systems, micro Arrays a makro Arrays, funkční genomika a bioinformatika

**Molecular Probes:** unikátní barvicí systémy pro in situ hybridizaci, značené DNA, RNA a proteiny, fluorescenční průběhy sondy, technologie FISH v molekulární biologii

**Nonlinear Dynamics:** software pro 1Da2D elektroforetické gely, HT-arrays, databáze, bioinformatika

**Promega:** „Life Science products“ a „Human Identity Testing products“ – enzymy, nukleové kyseliny, reagenční systémy, clonování, molekulární diagnostika, sekvenace a mutagenese, expresové genů, systémy pro transkripci, purifikaci, purifikaci kromolekulární biologii a více...

**Photometrics, Roper Scientific:** CCD kamery a spektrofotometrické digitální detektory

**Systec:** sterilizační kama horkou párou, vertikální a horizontální autoklávy, sterilizátory a příslušenství

**Turner Designs:** kyvetové fluorometry a luminometry

**UVP:** transiluminátory, UV lampy, crosslinker, tmavé komory, UV radiometry, gel dokumentační systémy, UV ochranné pomůcky a příslušenství, UV laviče

**Vivascience:** ultrafiltrační zařízení, centrifugační jednotky pro ultrafiltraci, koncentrování a odsolování vzorků

Máte-li zájem o podrobnější informace, obraťte se prosím na naší kancelář. Rádi Vám zašleme katalogy uvedených firem a výrobků. Produkty označené ikonou „CD“ a ceny lze objednat zdarma na elektronických nosičích (CD-ROM nebo 3,5" diskety). Upozorňujeme na možnost stažení aktuálních ceníků, slev a speciálních akcí z našich webových stránek [www.eastport.cz](http://www.eastport.cz). Těšíme se na další spolupráci s Vámi.

ikona CD

East Port s.r.o. Rubličova 1/969, Praha 6, Tel.: 02/3018177, Fax: 02/33312428, e-mail: [eastport@login.cz](mailto:eastport@login.cz),

[www.eastport.cz](http://www.eastport.cz)