

ABSTRAKT

Předmětem této diplomové práce byla genetická modifikace lilku bramboru za účelem zvýšení jeho rezistence vůči patogenům a škůdcům. Při vývoji rezistence rostlin se často využívá podobných typů molekul, které rostliny samy využívají při svých obranných reakcích. V této práci byl pro genetickou modifikaci použit gen kódující zástupce inhibitorů serinových proteáz *SPI-2*, pocházející ze zavíječe voskového (*Galleria mellonella*). Jelikož se v předchozích pokusech týmu protein *SPI-2* nepodařilo v transformovaných rostlinách detekovat, byla základní forma genu upravena přidáním Kozakové sekvence do okolí iniciačního kodónu, čímž se měla zvýšit iniciace translace a tím hladina proteinu. Pro transformaci byly připraveny dva konstrukty, kódující proteiny *SPI-2-T* a *SPI-2-Y*, které se liší jednou aminokyselinou, a to mírně pozměňuje jejich inhibiční aktivitu. Konstrukt *SPI-2-T* byl nejprve pomocí infiltrace s *Agrobacterium tumefaciens* vnesen do listů tabáku *Nicotiana benthamiana*. Oba konstrukty *SPI-2-T* a *SPI-2-Y* byly poté použity pro stabilní transformaci lilku bramboru (*Solanum tuberosum* cv. *Desirée*). Přítomnost proteinu se však v rostlinách nepodařilo prokázat, přestože byl vnesený gen transkribován a jeho sekvence v rostlinách byla ověřena sekvenací. Je tedy pravděpodobné, že protein není v cytoplazmě stabilní. Byl proto vytvořen třetí konstrukt (*SPI-2-T-apo*), jehož produkt je směřován do apoplastu, kde by mohl být stabilnější. Tento konstrukt je nyní k dispozici pro výzkum v rostlinách. Vedlejším, nicméně z praktického hlediska důležitým výstupem práce bylo zjištění, že zvýšená hladina claforanu (ze 300 mg/l na 500 mg/l) výrazně urychluje regeneraci prýtů z kalusů po transformaci bramboru.

Klíčová slova: *Solanum tuberosum*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Galleria mellonella*, genetická modifikace, inhibitor proteáz *SPI-2*, patogen, škůdce, rezistence, Kozakové sekvence