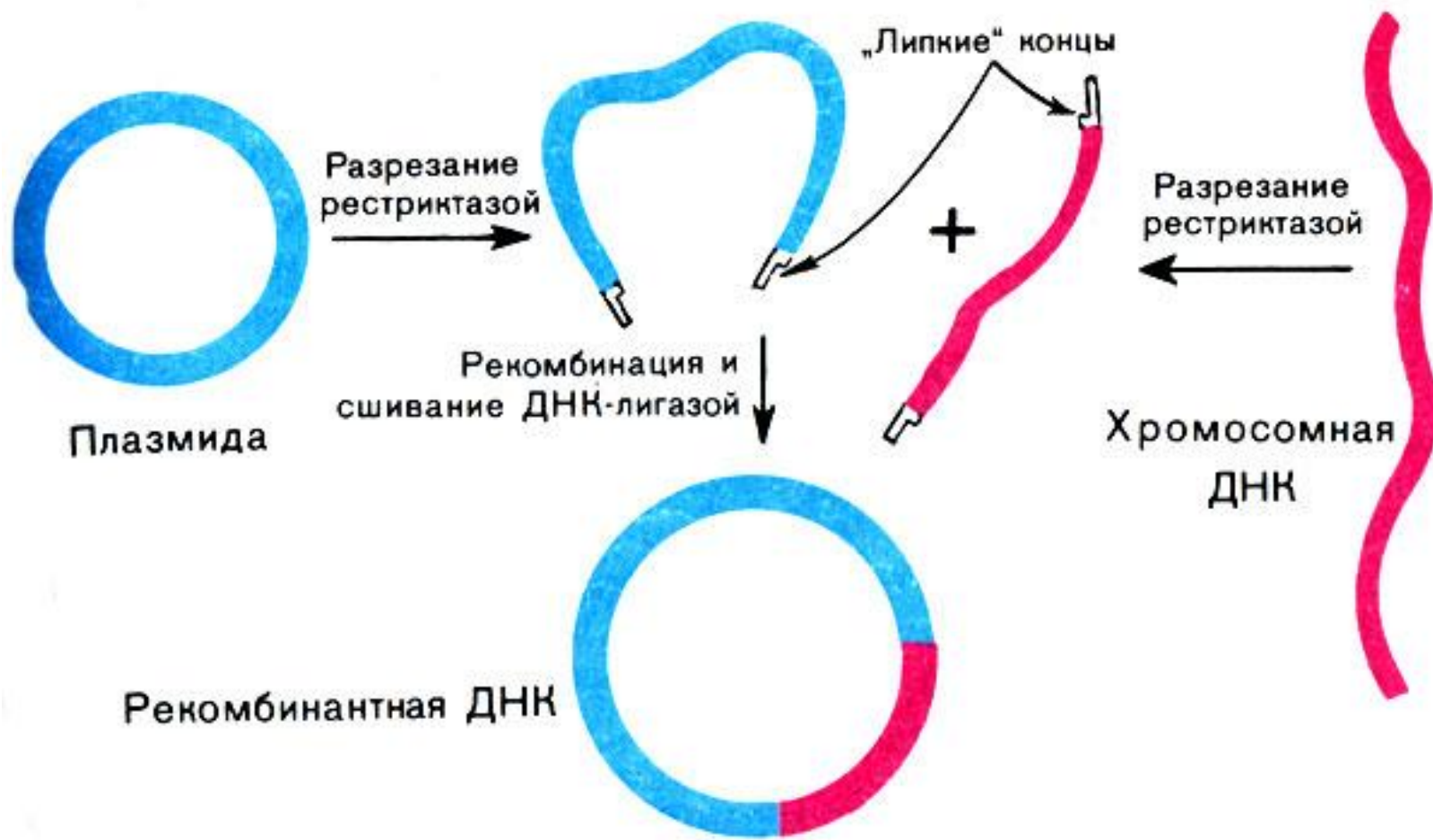


Технология рекомбинантной ДНК

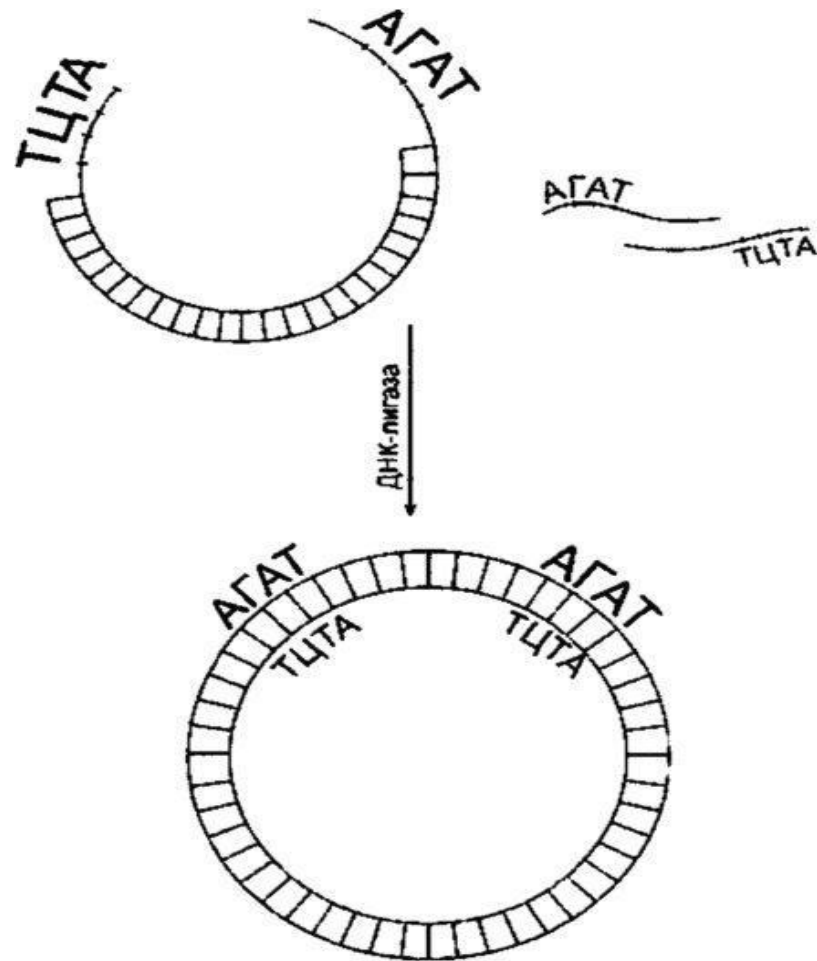
Рекомбинантная ДНК

- искусственно созданная последовательность ДНК путем объединения нескольких последовательностей ДНК
- Части рекомбинантной ДНК могут быть получены искусственным путем или клонированы из организмов
- Рекомбинантную ДНК получают с использованием живых клеток

Создание рекомбинантной ДНК с использованием рестрикции

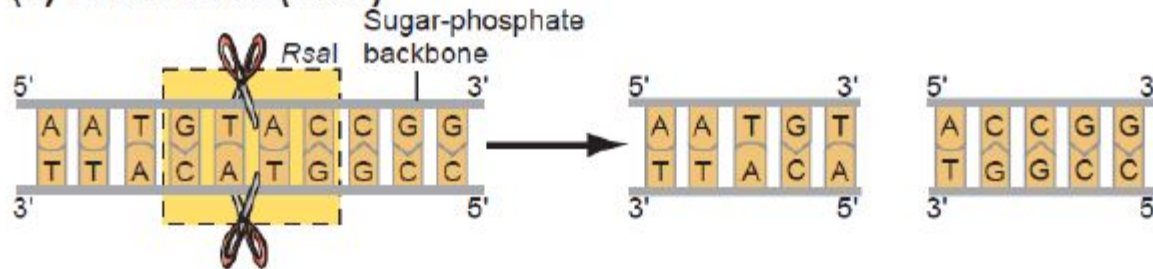


Создание рекомбинантной ДНК с использованием рестрикции

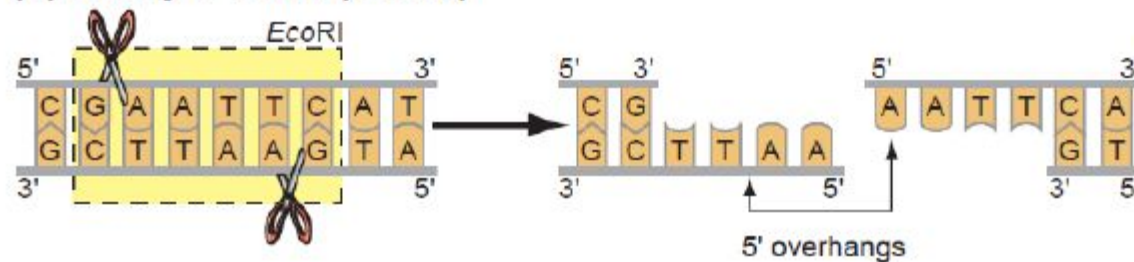


«Липкие» и «тупые» концы рестриктаз

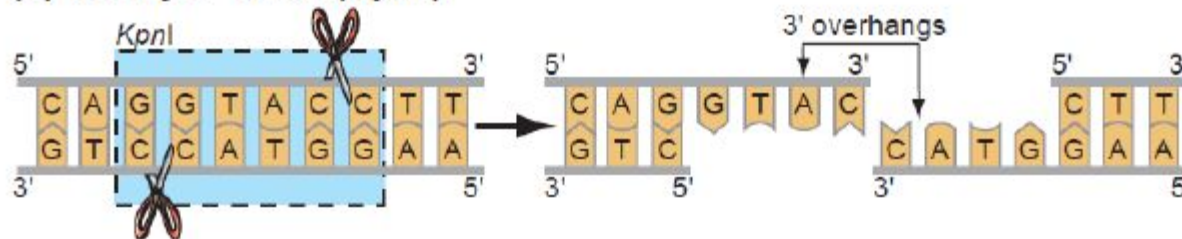
(a) Blunt ends (*RsaI*)



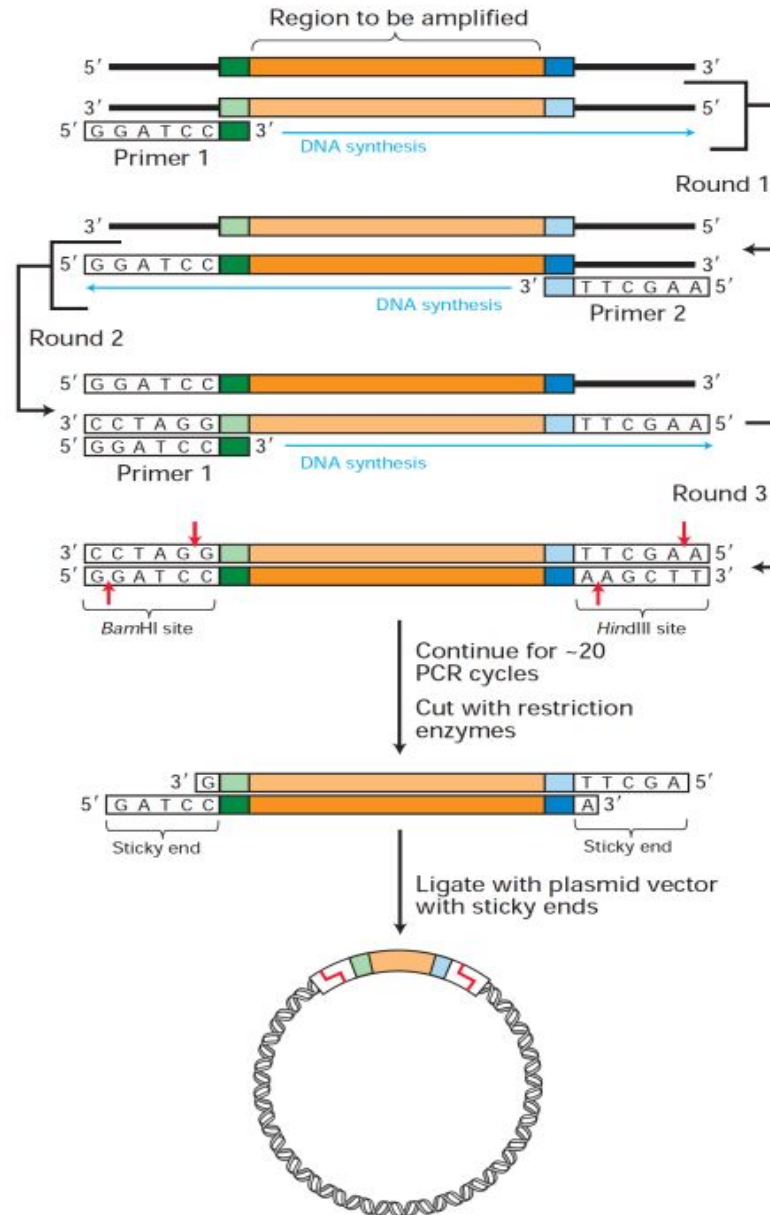
(b) Sticky 5' ends (*EcoRI*)



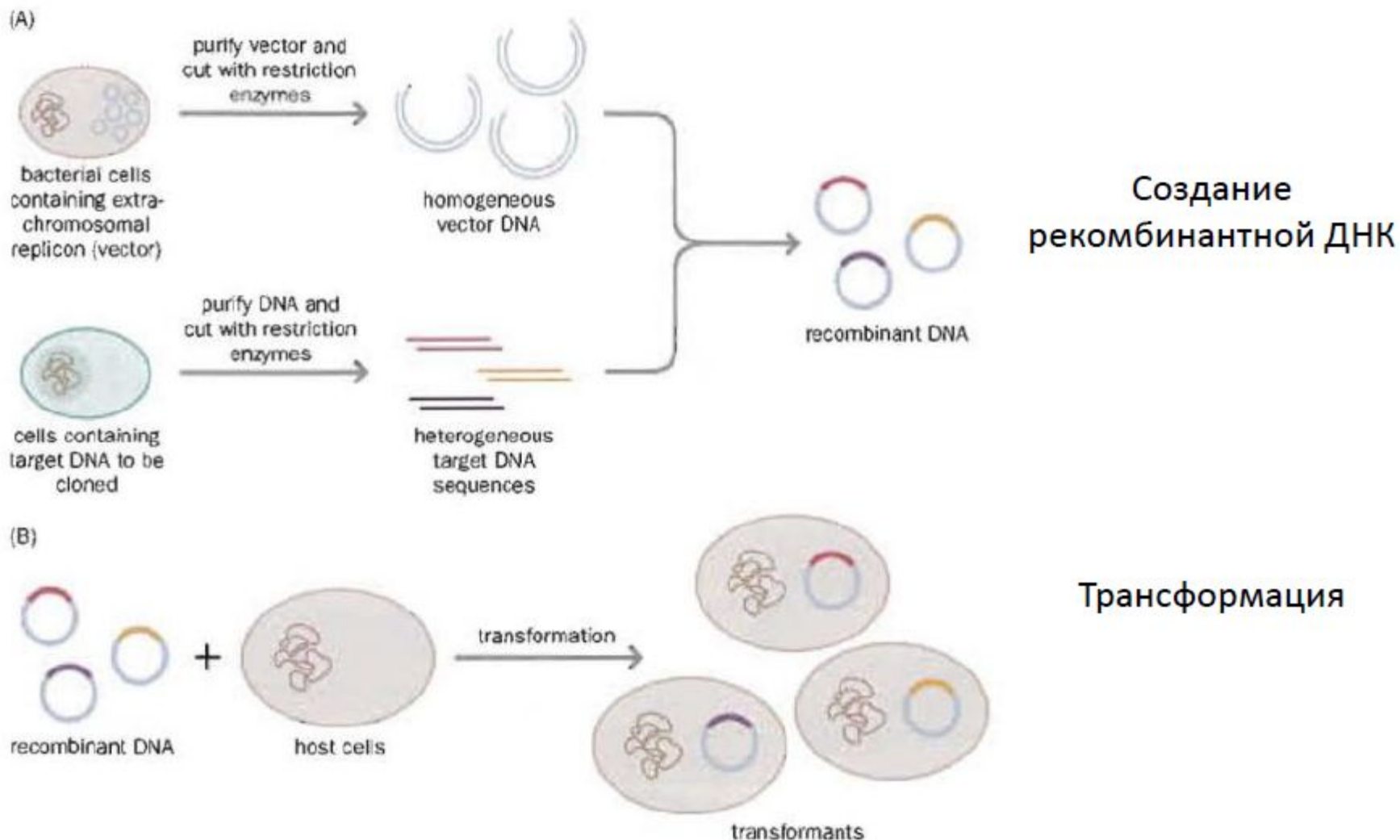
(c) Sticky 3' ends (*KpnI*)



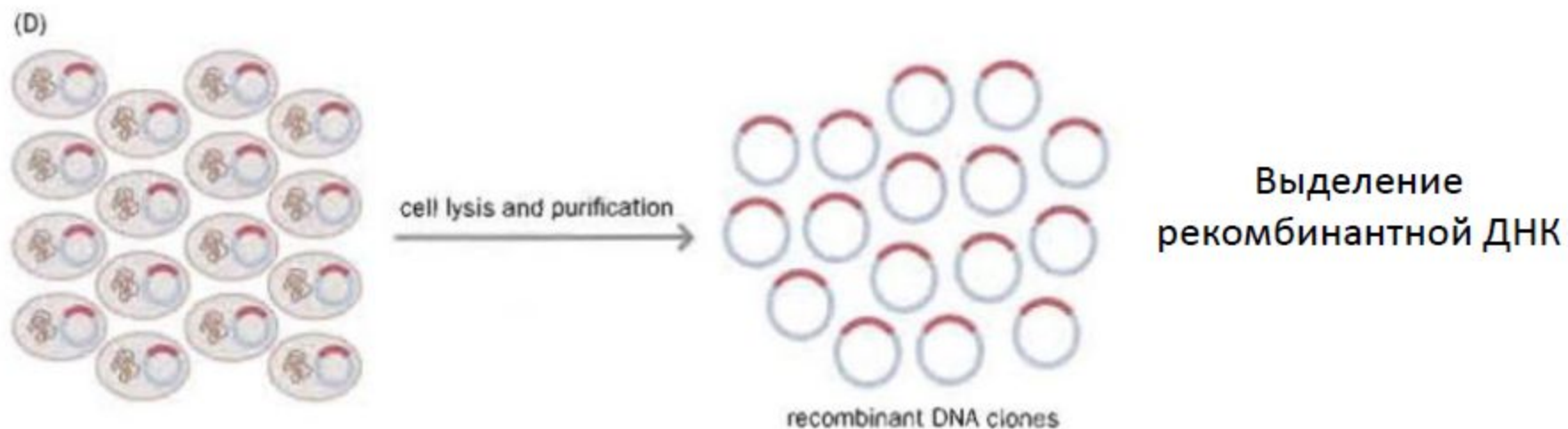
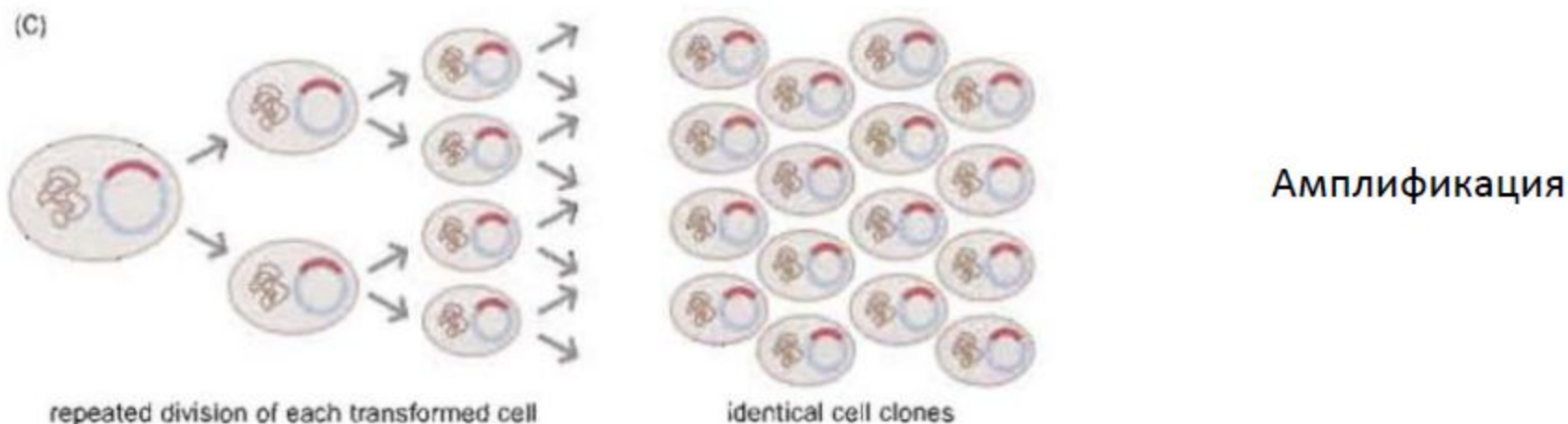
ПЦР для клонирования в



Ключевые этапы клонирования ДНК



Ключевые этапы клонирования ДНК



Необходимые элементы

- Клонлируемая ДНК (чужеродная ДНК)
- Вектор (молекула переносчик ДНК)
- Способ объединения вектора и клонлируемой ДНК
- Клетка-хозяин (host cell)
- Способ переноса ДНК в клетку-хозяин (трансформация)
- Способ отбора клеток, успешно прошедших трансформацию (селекция, скрининг)

Селекция

- Позитивная (прямая) – выживает лишь искомый тип клеток, несущий определенный ген
 - устойчивость к антибиотикам и другим токсичным агентам
 - способность расти на среде без какого-либо питательного вещества
- Негативная – избирательная гибель клеток, несущих определенный ген
- Визуальная
- Тотальный скрининг – индивидуально тестируются все клеточные клоны

Применение клонирования ДНК

- Изоляция и амплификация интересующего фрагмента ДНК
- Создание библиотек ДНК
- Секвенирование ДНК
- Изменение последовательности ДНК (мутирование)
- Синтез белков

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ