Технология рекомбинантной ДНК

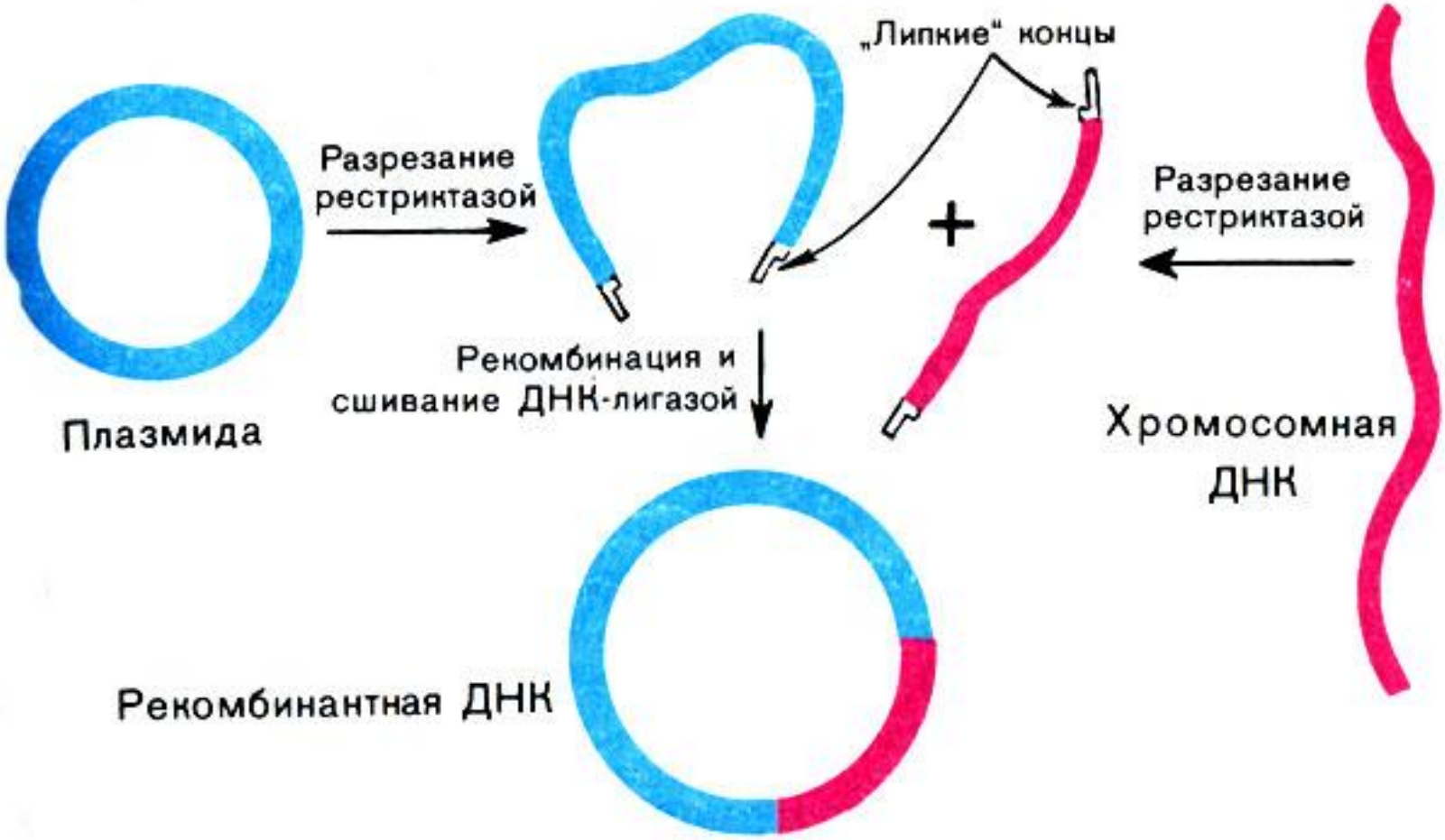
Рекомбинантная ДНК

— искусственно созданная последовательность ДНК путем объединения нескольких последовательностей ДНК

- Части рекомбинантной ДНК могут быть получены исскуственным путем или клонированы из организмов
- Рекомбинантную ДНК получают с использованием живых клеток

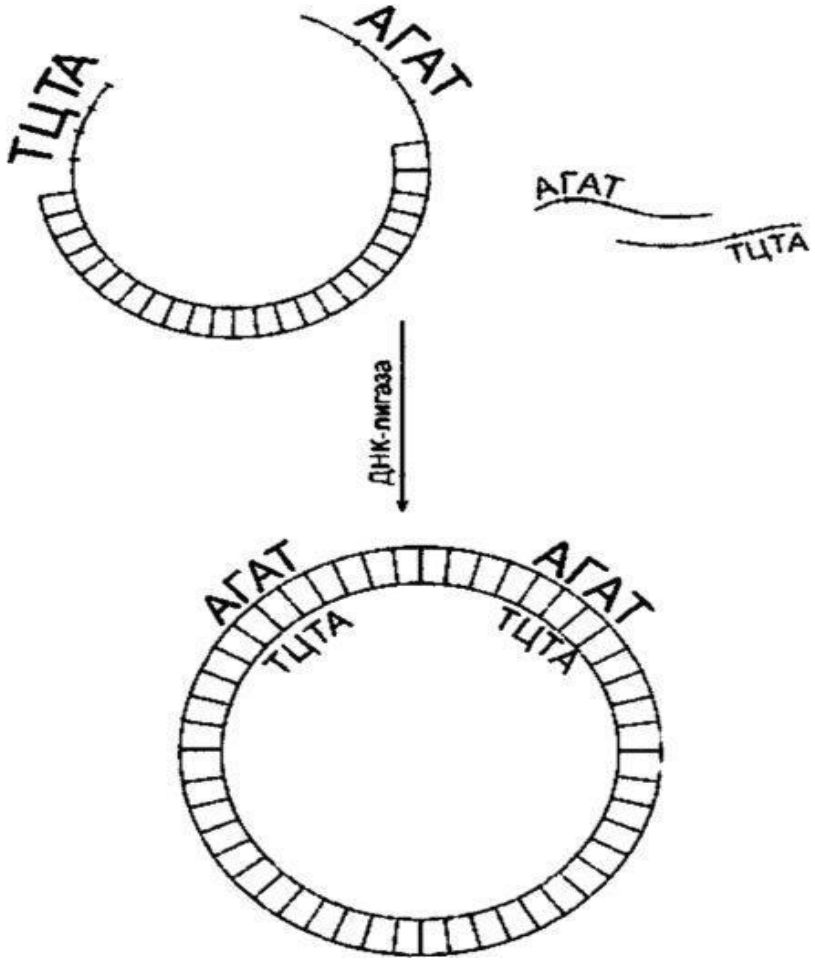
Создание рекомбинантной ДНК

с использование рестрикции

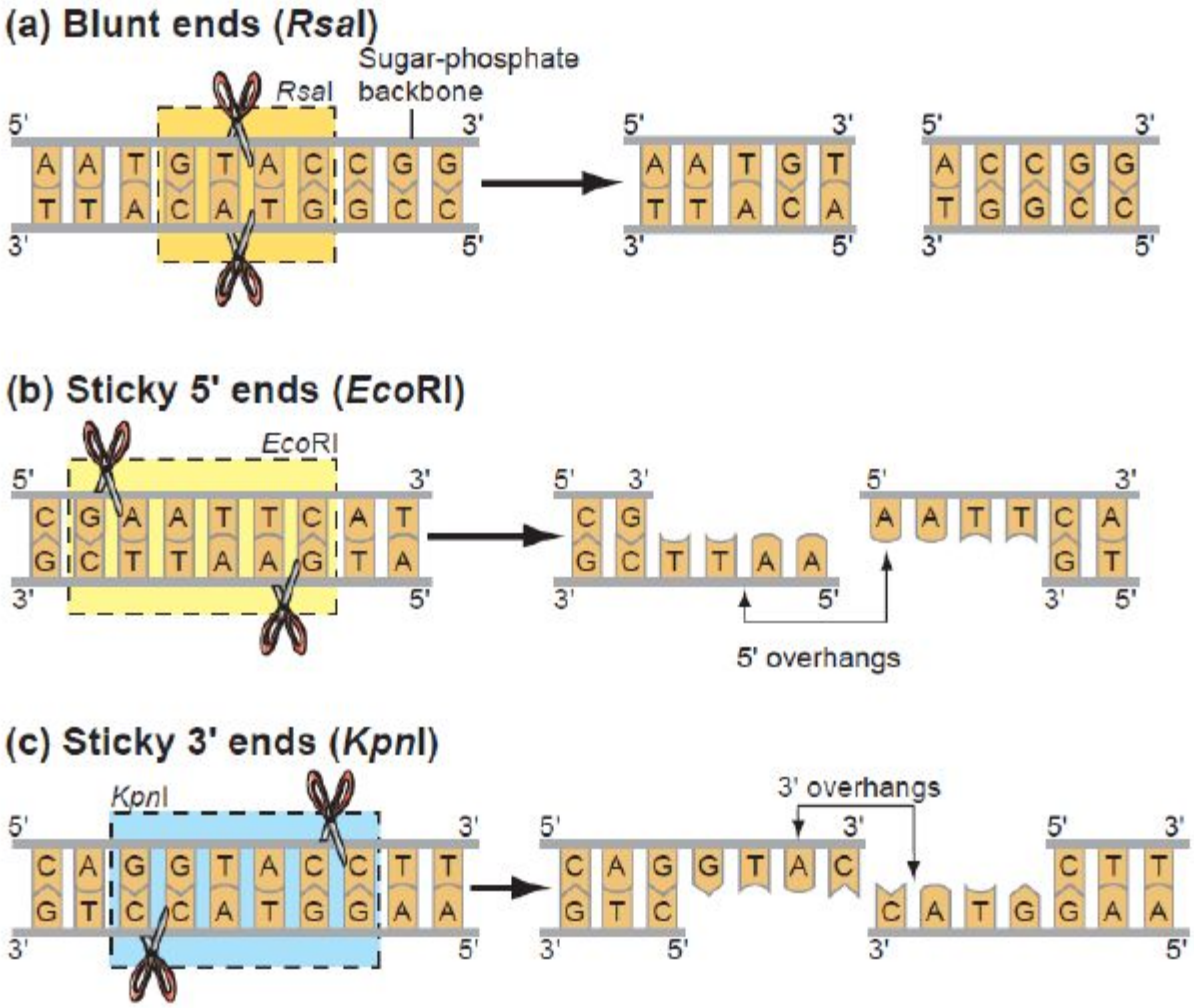


Создание рекомбинантной ДНК

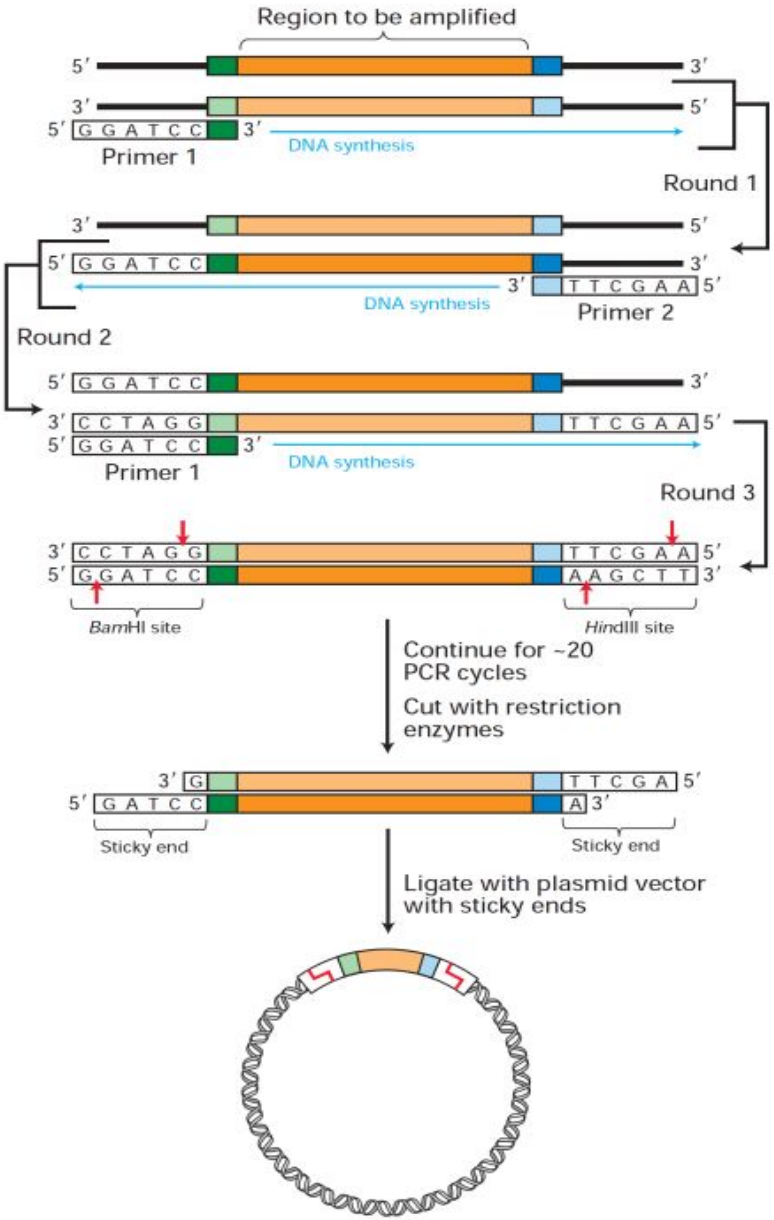
с использование рестрикции



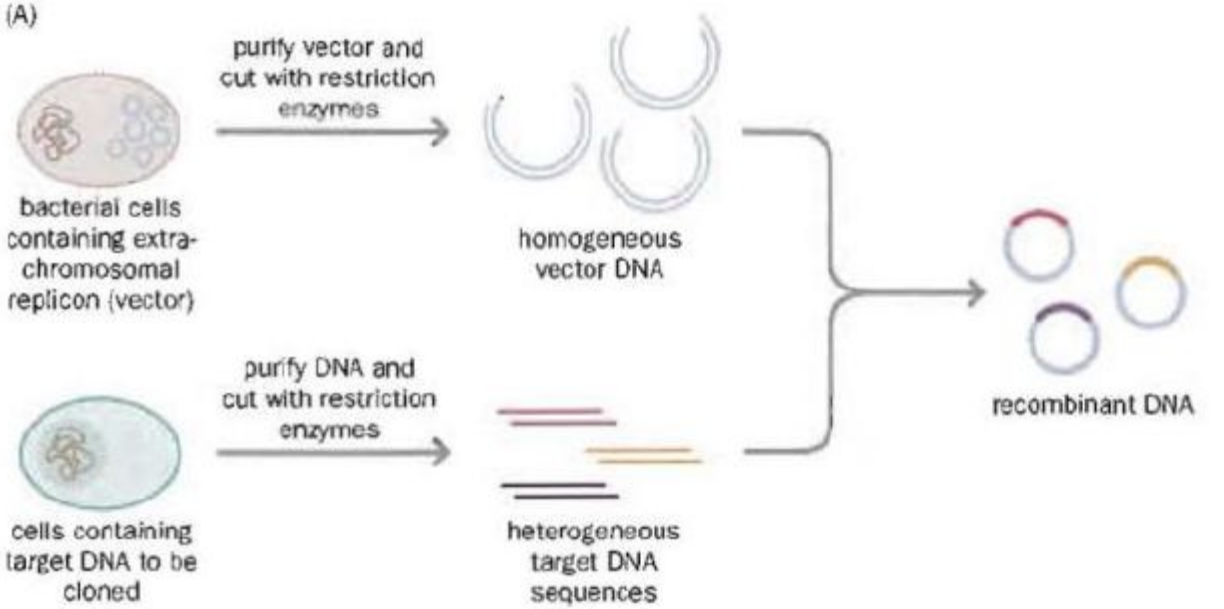
«Липкие» и «тупые» концы рестриктаз



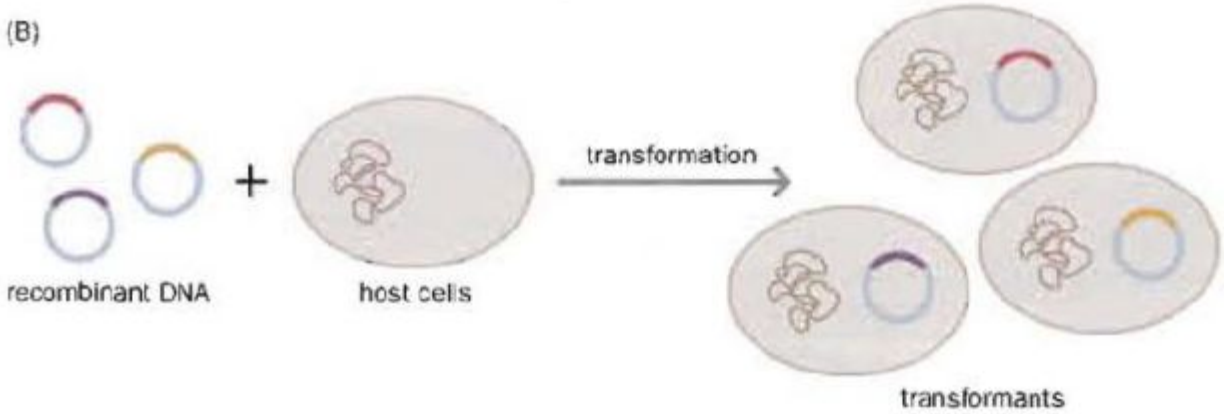
ПЦР для клонирования в



Ключевые этапы клонирования ДНК

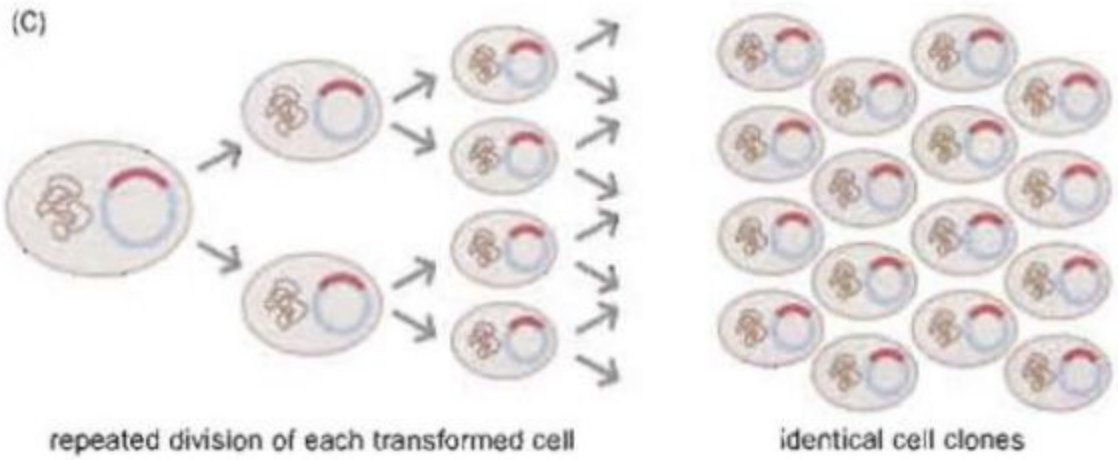


Создание рекомбинантной ДНК

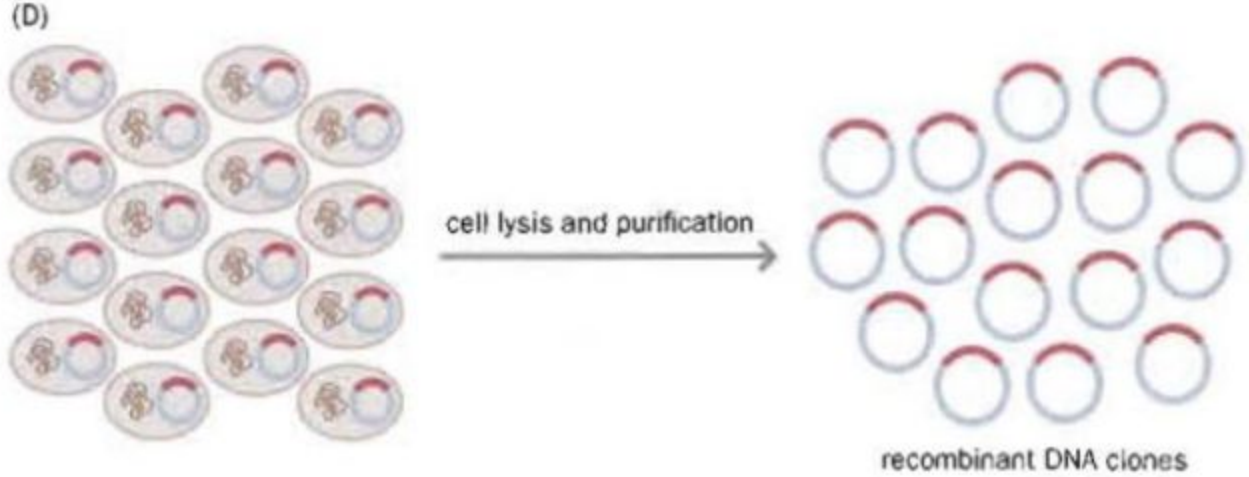


Трансформация

Ключевые этапы клонирования ДНК



Амплификация



Выделение рекомбинантной ДНК

Необходимые элементы

- Клонируемая ДНК (чужеродная ДНК)
- Вектор (молекула переносчик ДНК)
- Способ объединения вектора и клонируемой 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