

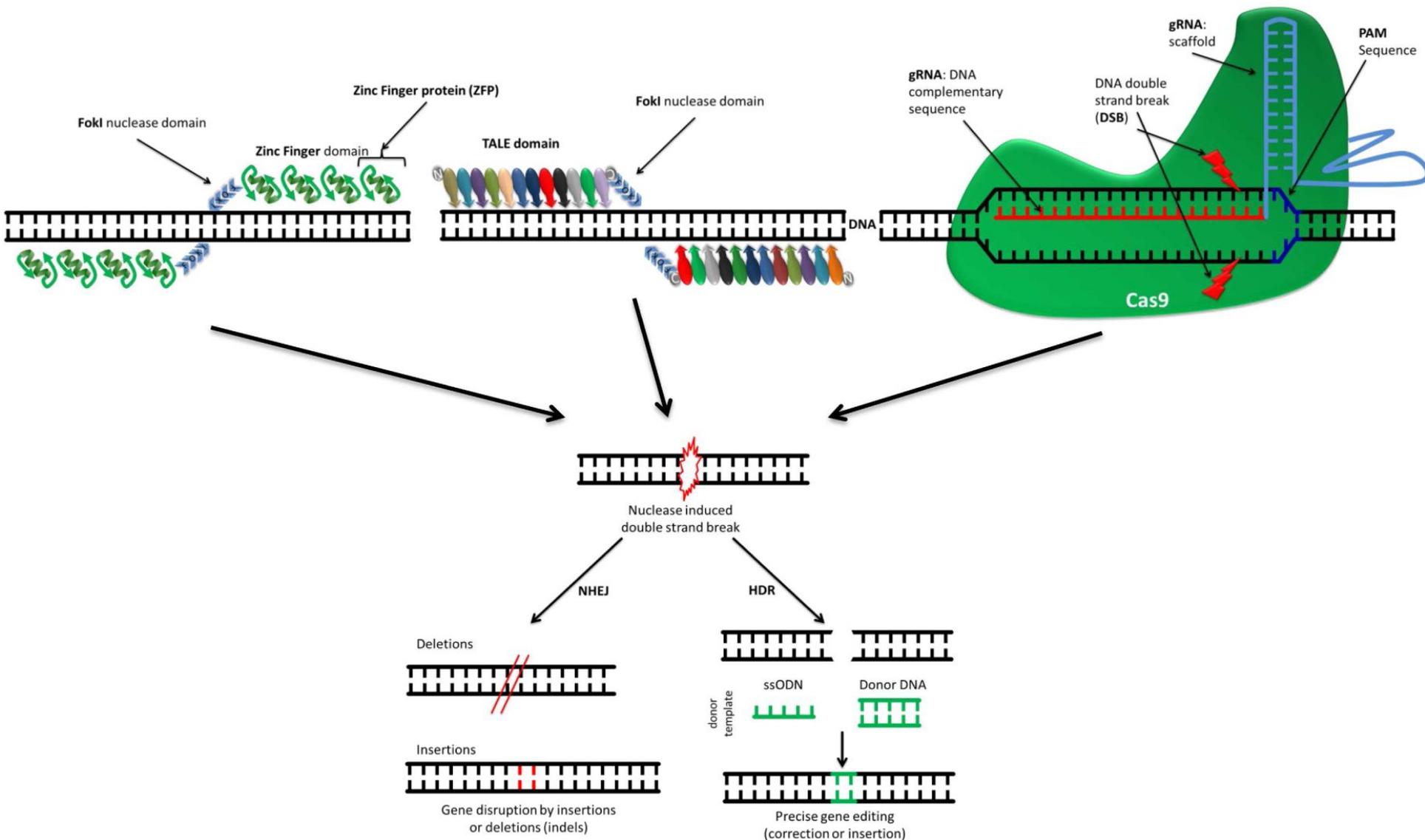
# Биотехнология

2

# ZFN

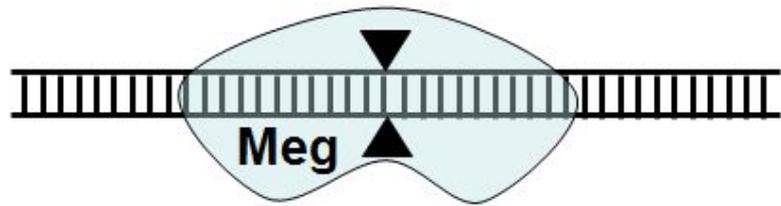
# TALEN

# CRISPR/Cas9



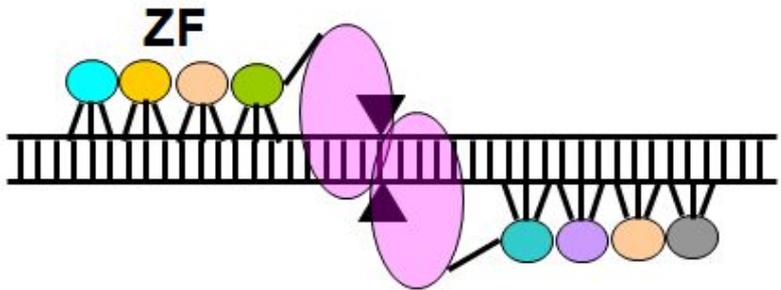
**ZFN**  
«Цинковопальцевые нуклеазы»  
нуклеазы на основе белков,  
содержащих домен «цинковые пальцы»

**TALEN**  
(Transcription Activator-Like Effector Nucleases;  
эффекторные нуклеазы, подобные активаторам  
транскрипции)



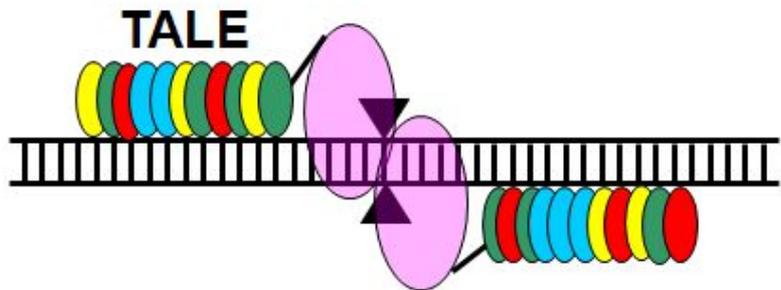
Meganuclease

20-40 bp/Enzyme



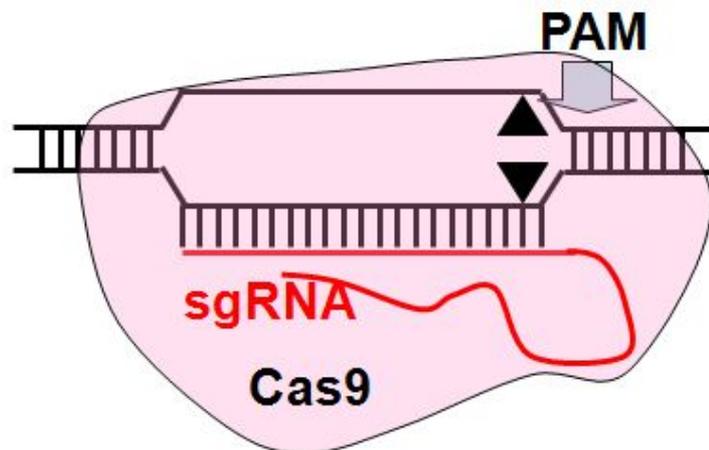
ZFN

3 bp/Finger



TALEN

1 bp/Module



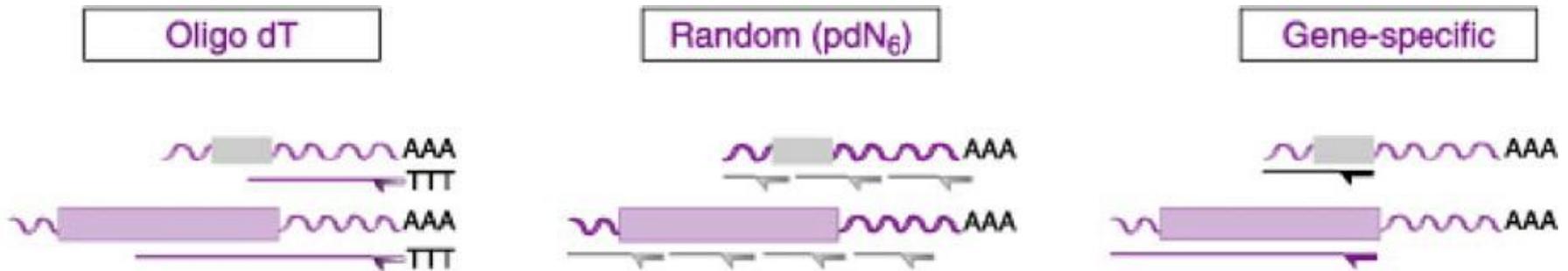
CRISPR-Cas

1 bp/Base

# Создание клонотеки кДНК

## Синтез первой цепи

Фермент — обратная транскриптаза



# Создание клонотеки кДНК

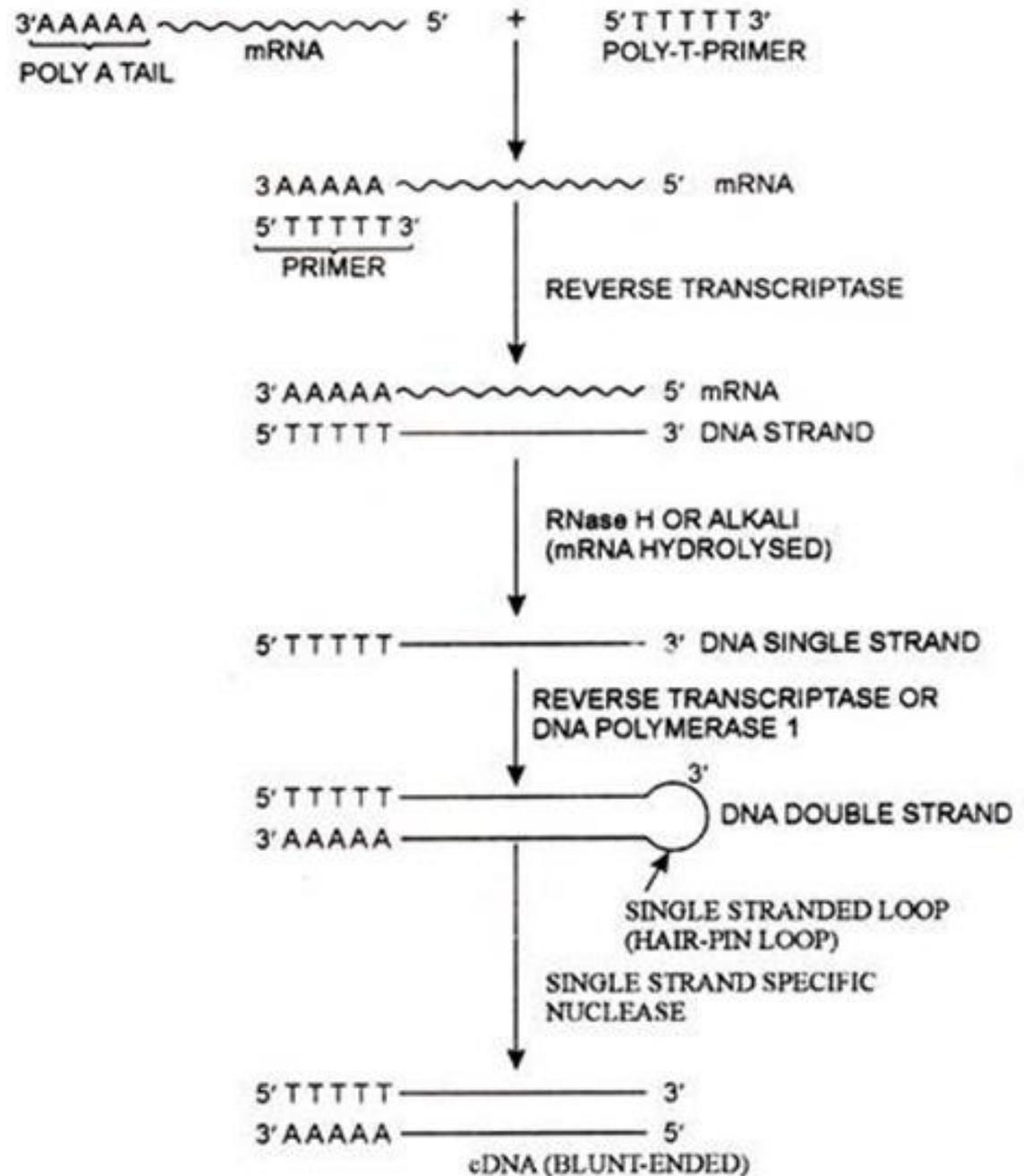
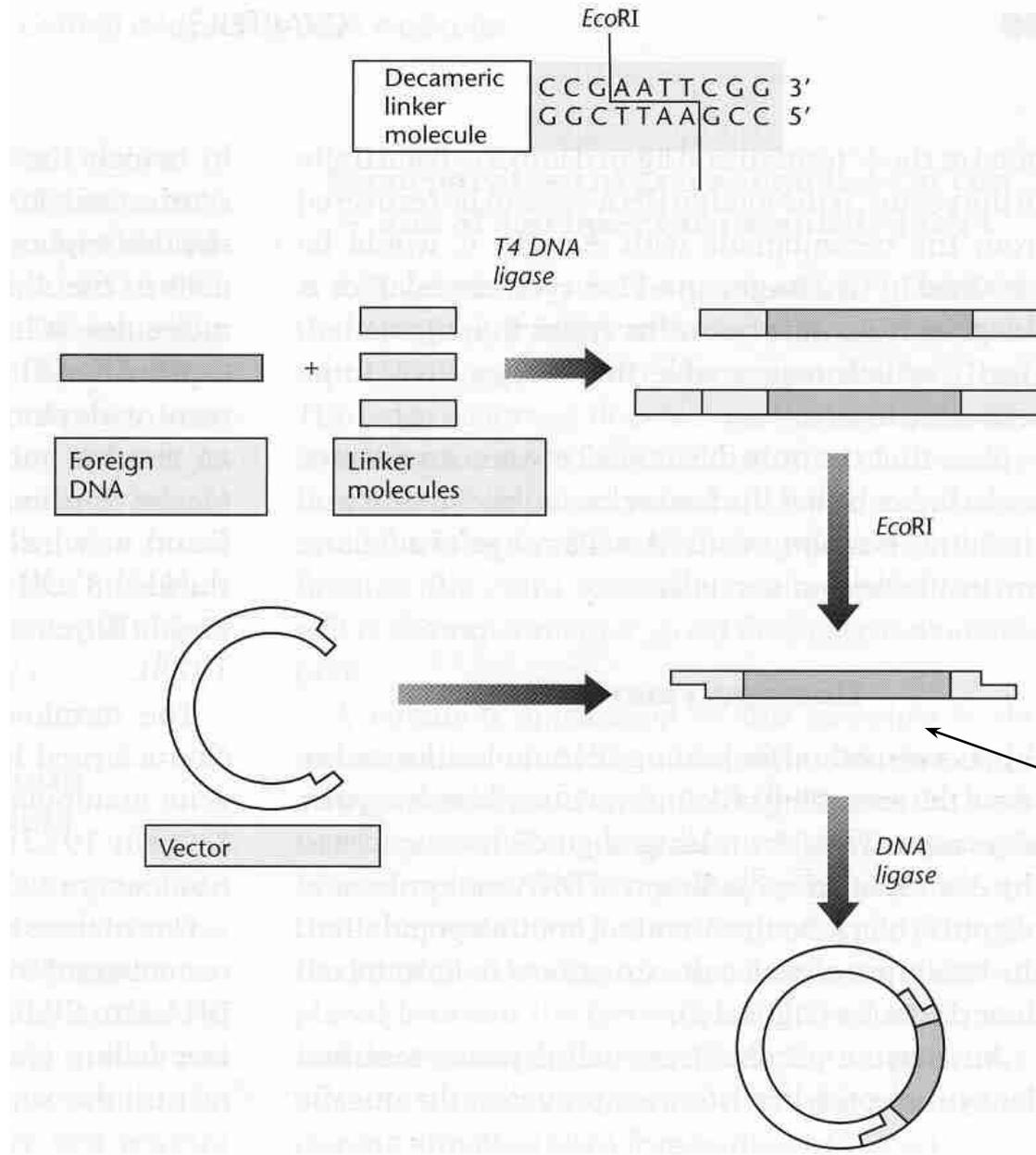


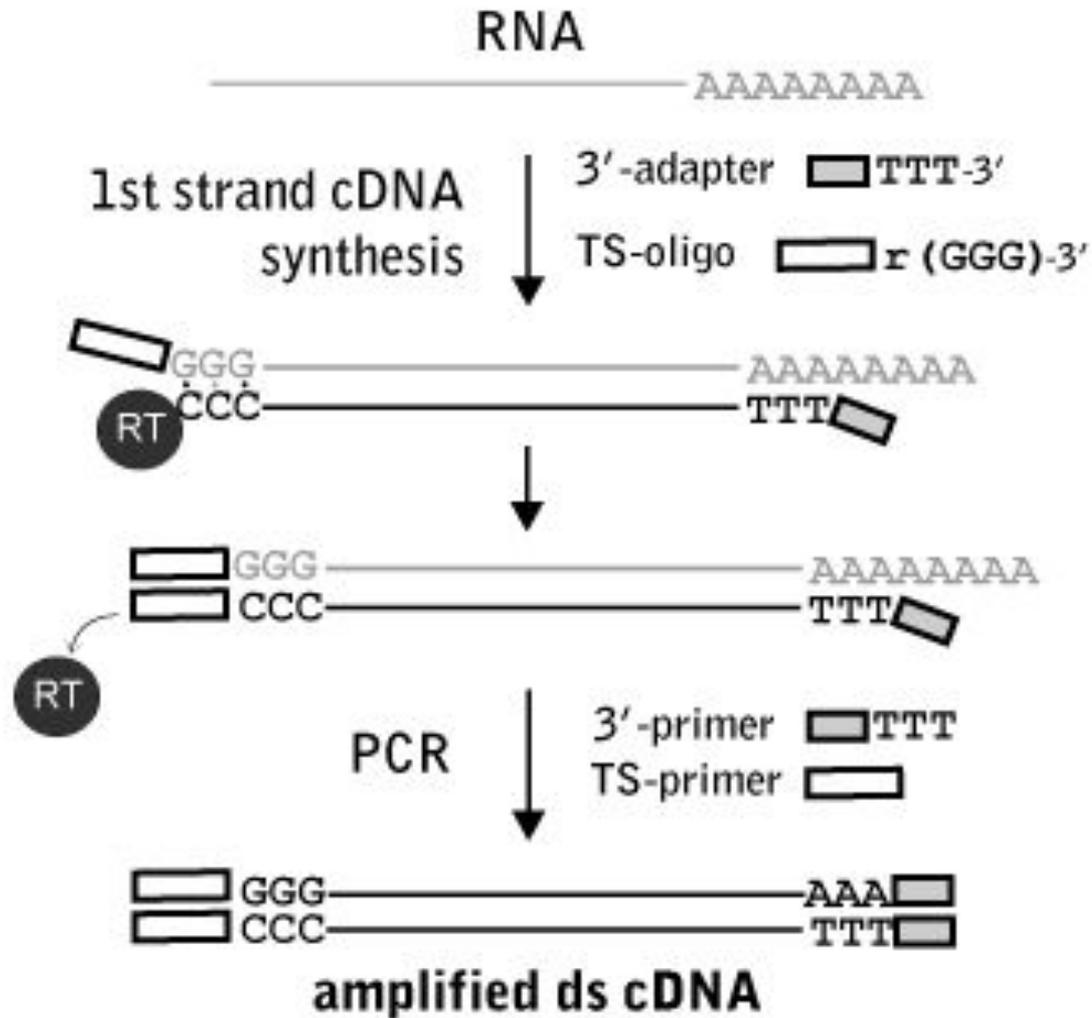
Fig. 10. Steps in construction of a c-DNA library.

# Клонирование с использованием ЛИНКЕРОВ

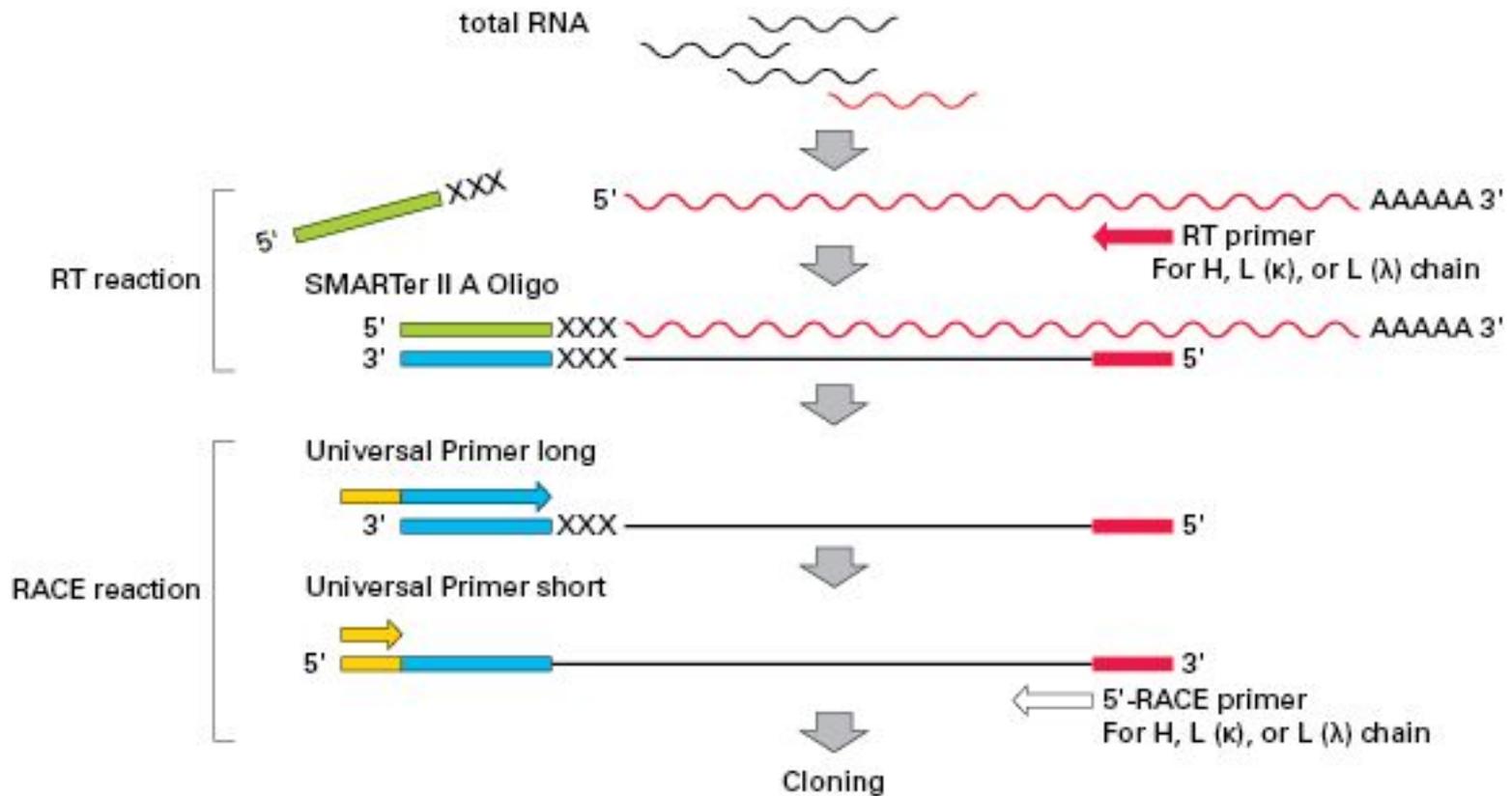


Вставка не содержит сайтов *EcoRI*?

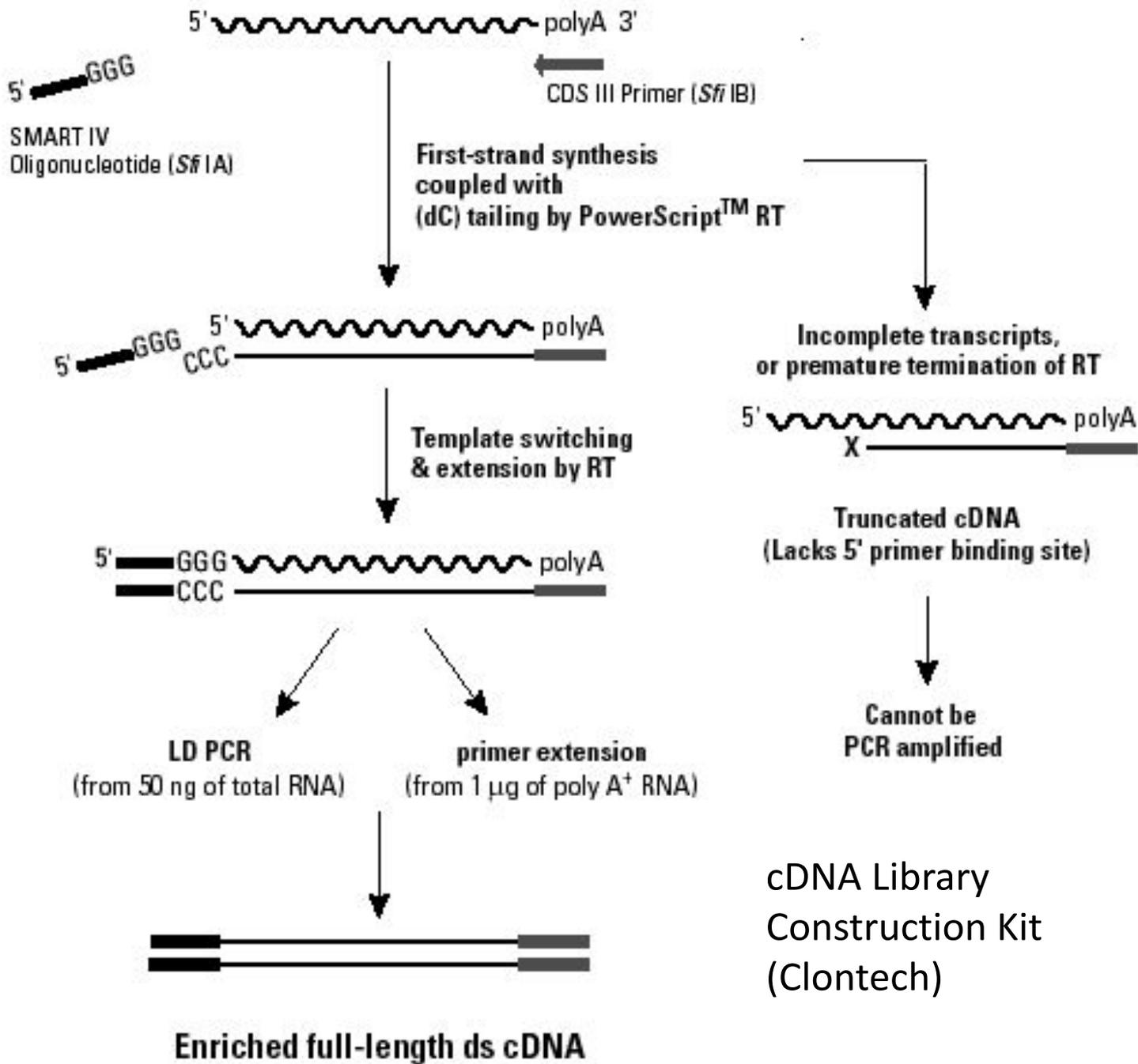
# Технология SMART



# Технология RACE



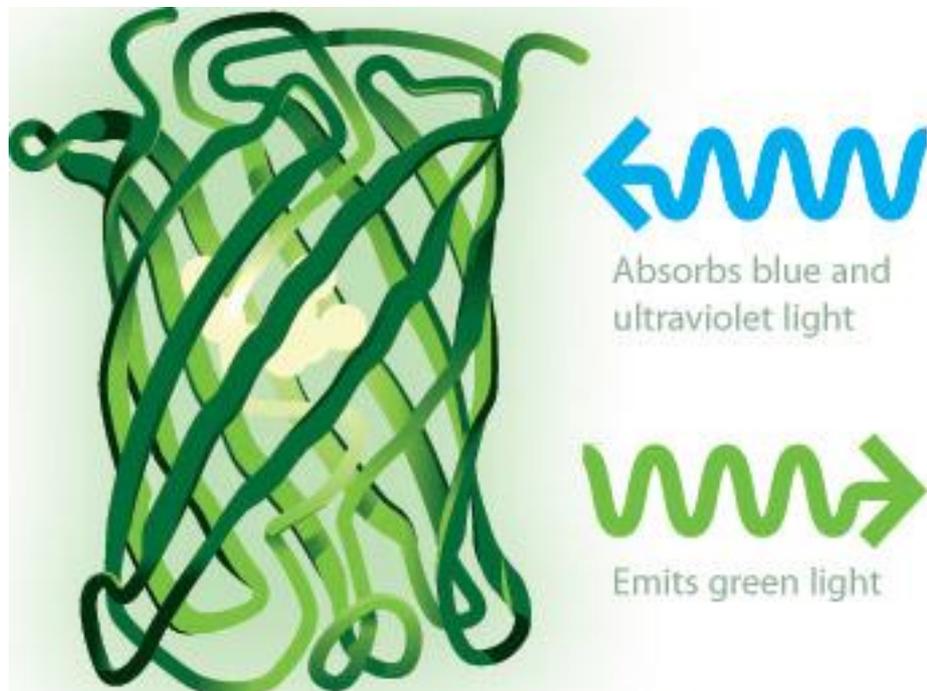
# Poly A<sup>+</sup> RNA



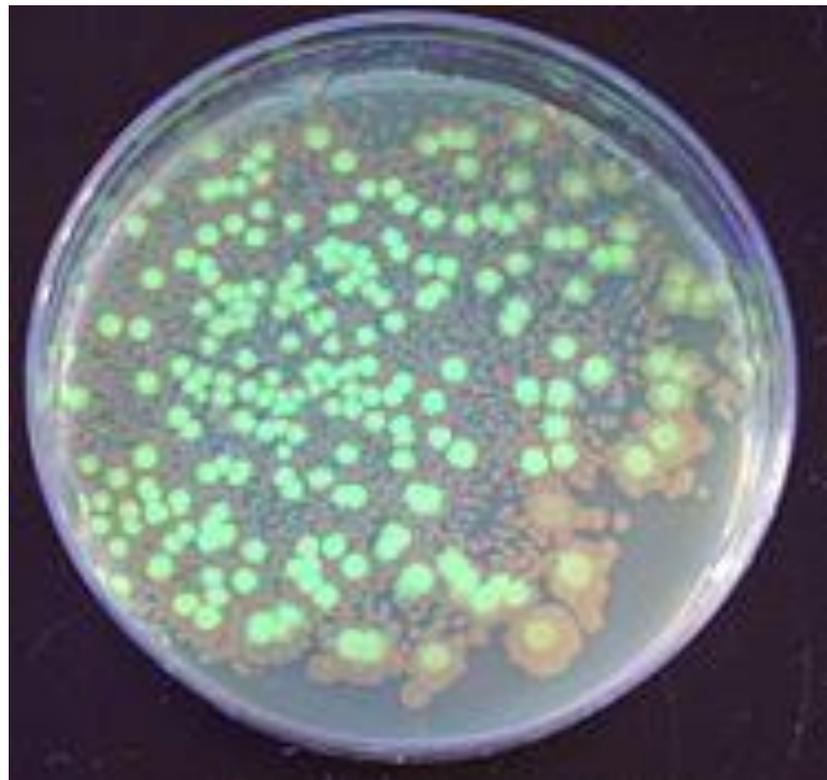
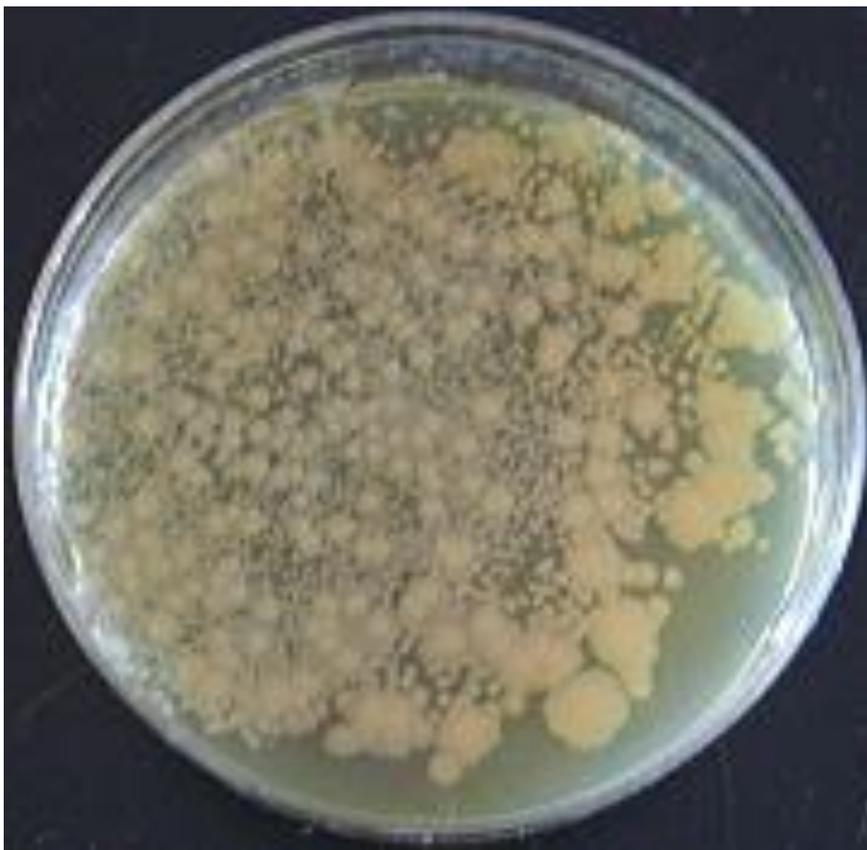
## Создание клонотеки cDNA

cDNA Library  
Construction Kit  
(Clontech)

# GFP-белок



# GFP-белок



# GFP-белок

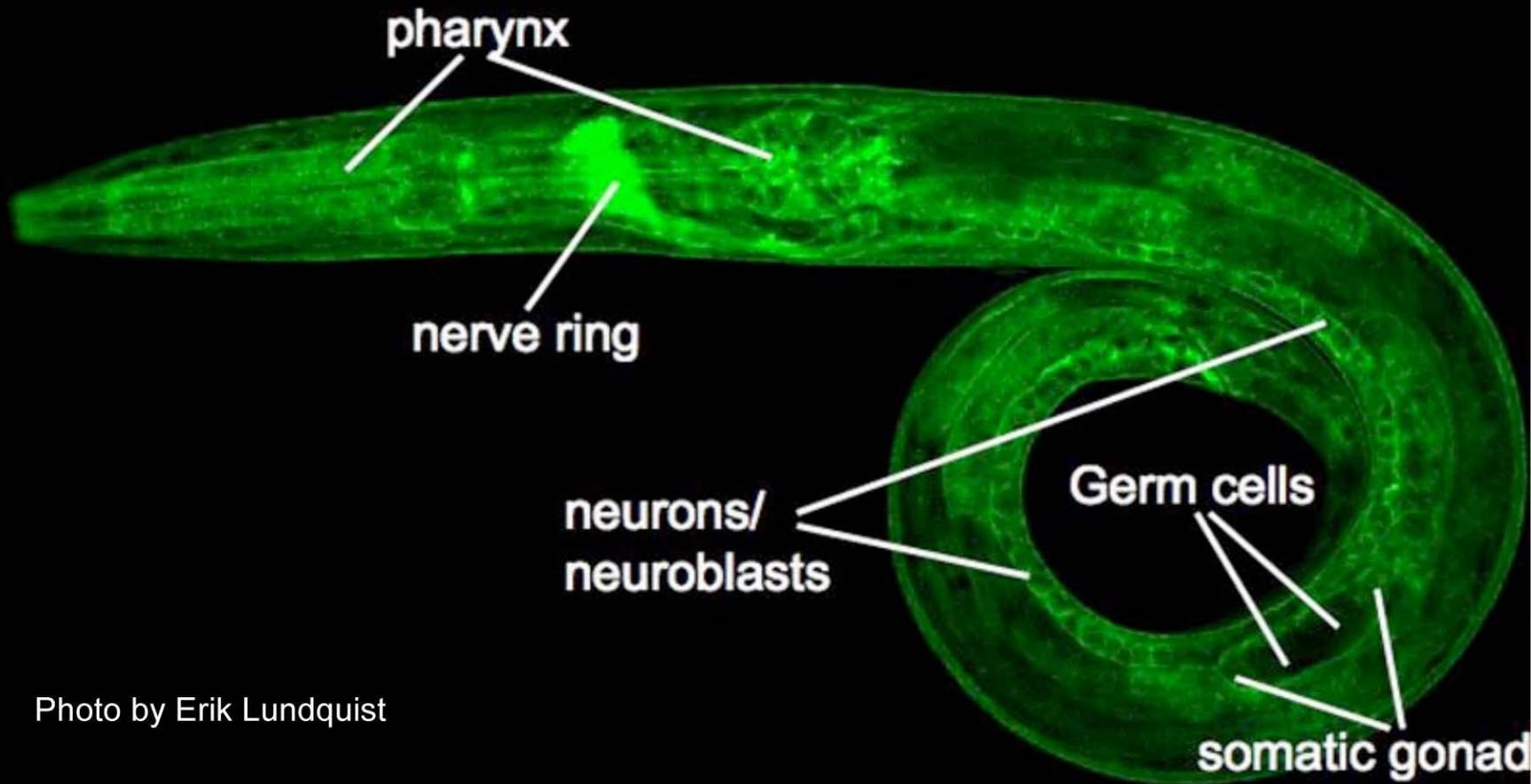
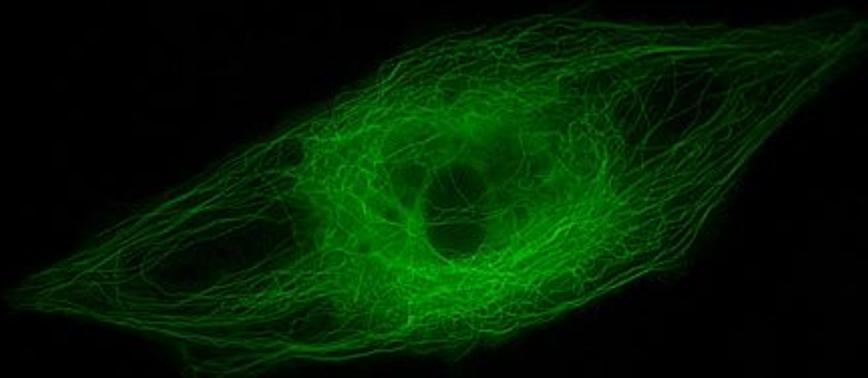
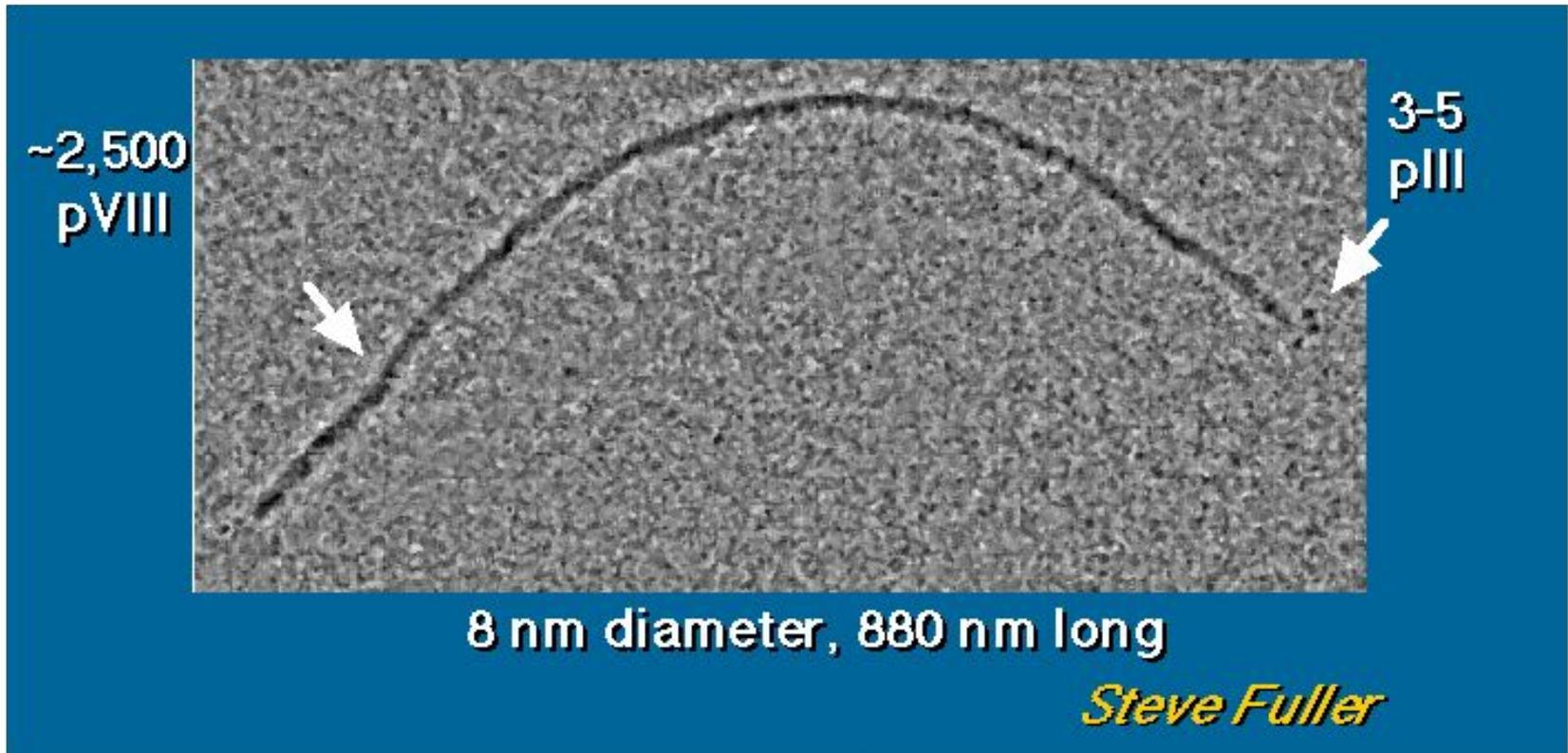


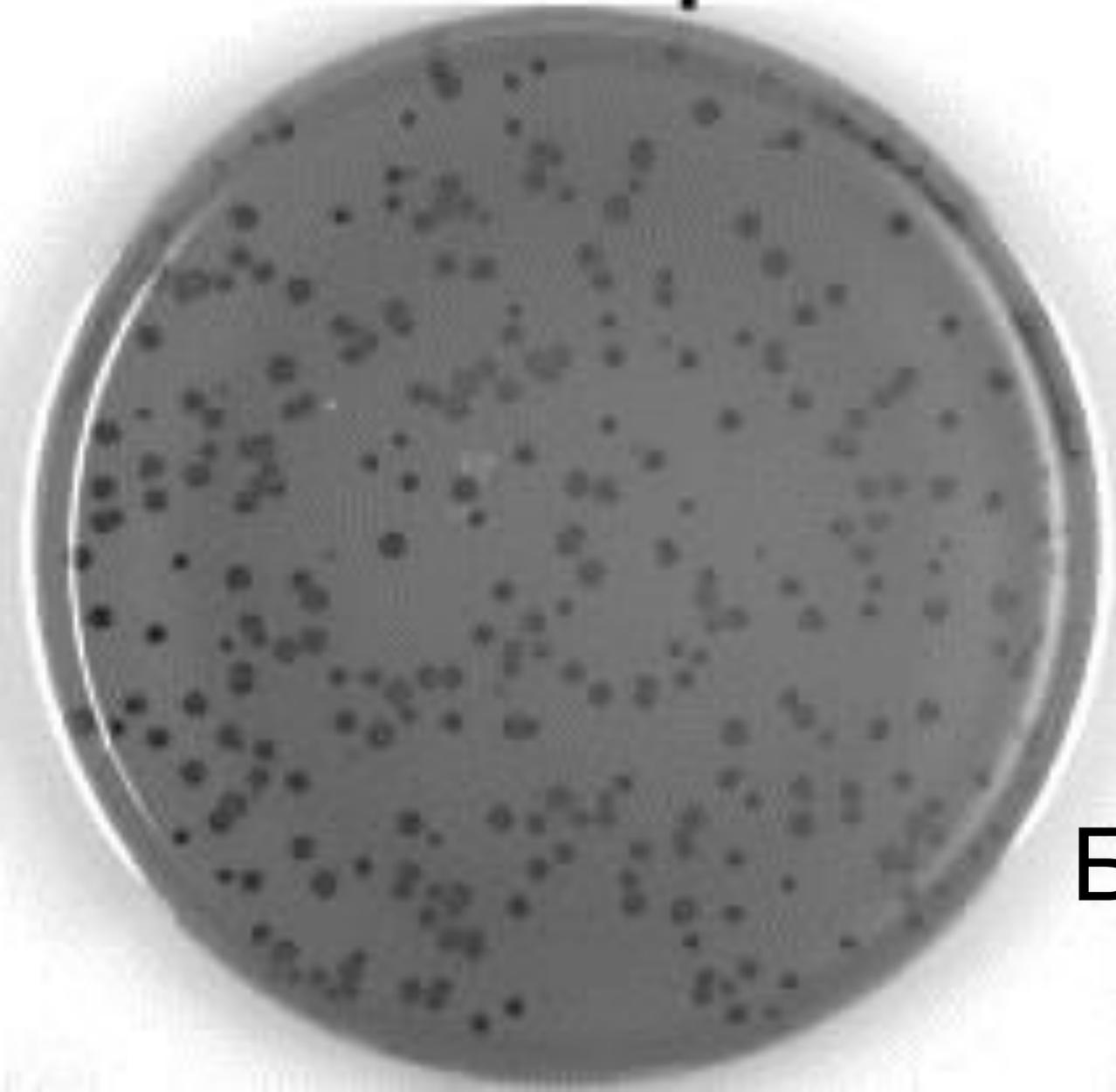
Photo by Erik Lundquist



# Phage Display Library



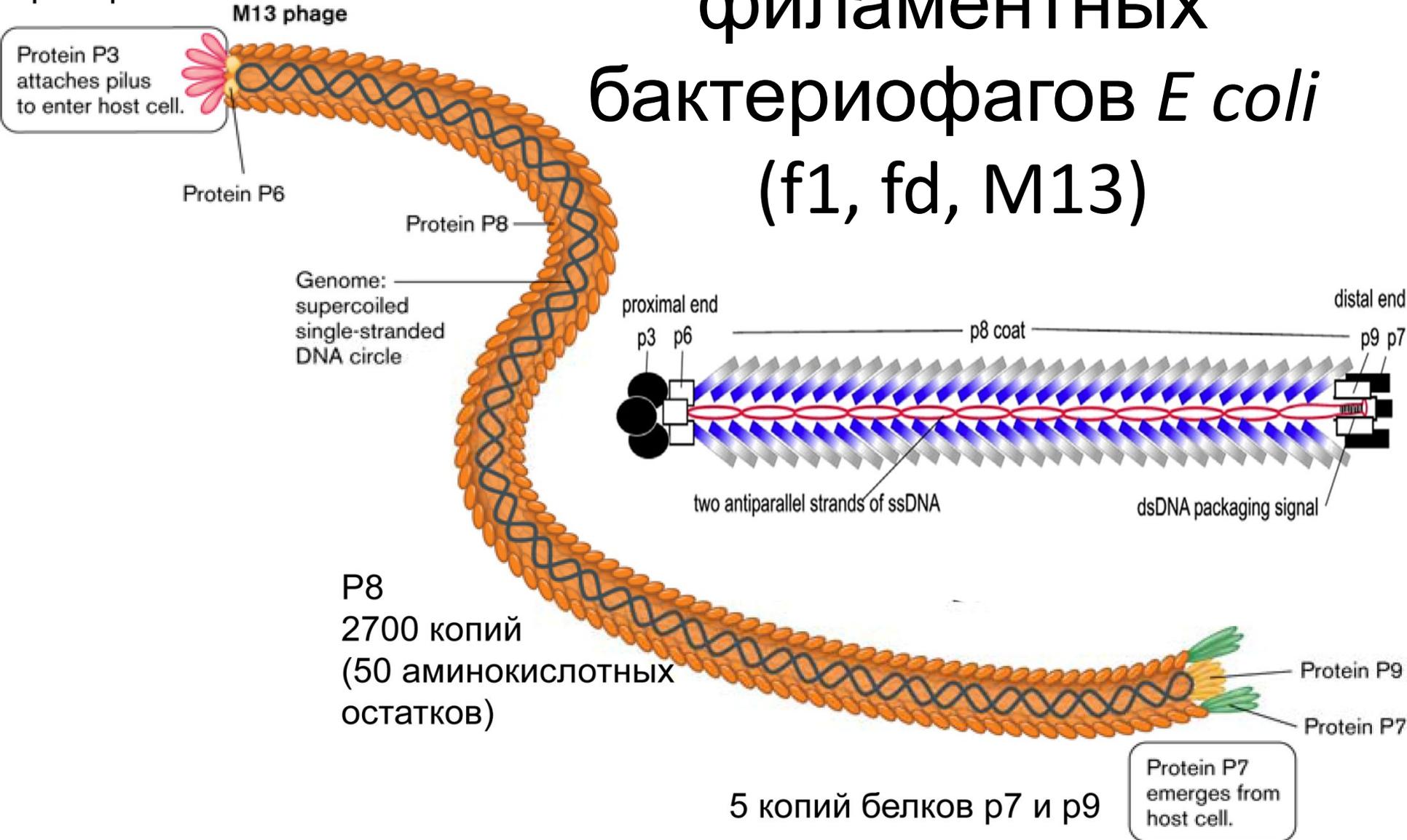
# M13 Plaques



Бактериофа  
г М13

# Строение филаментных бактериофагов *E coli* (f1, fd, M13)

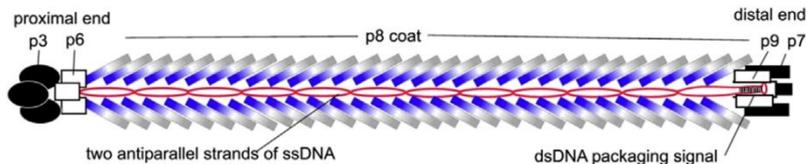
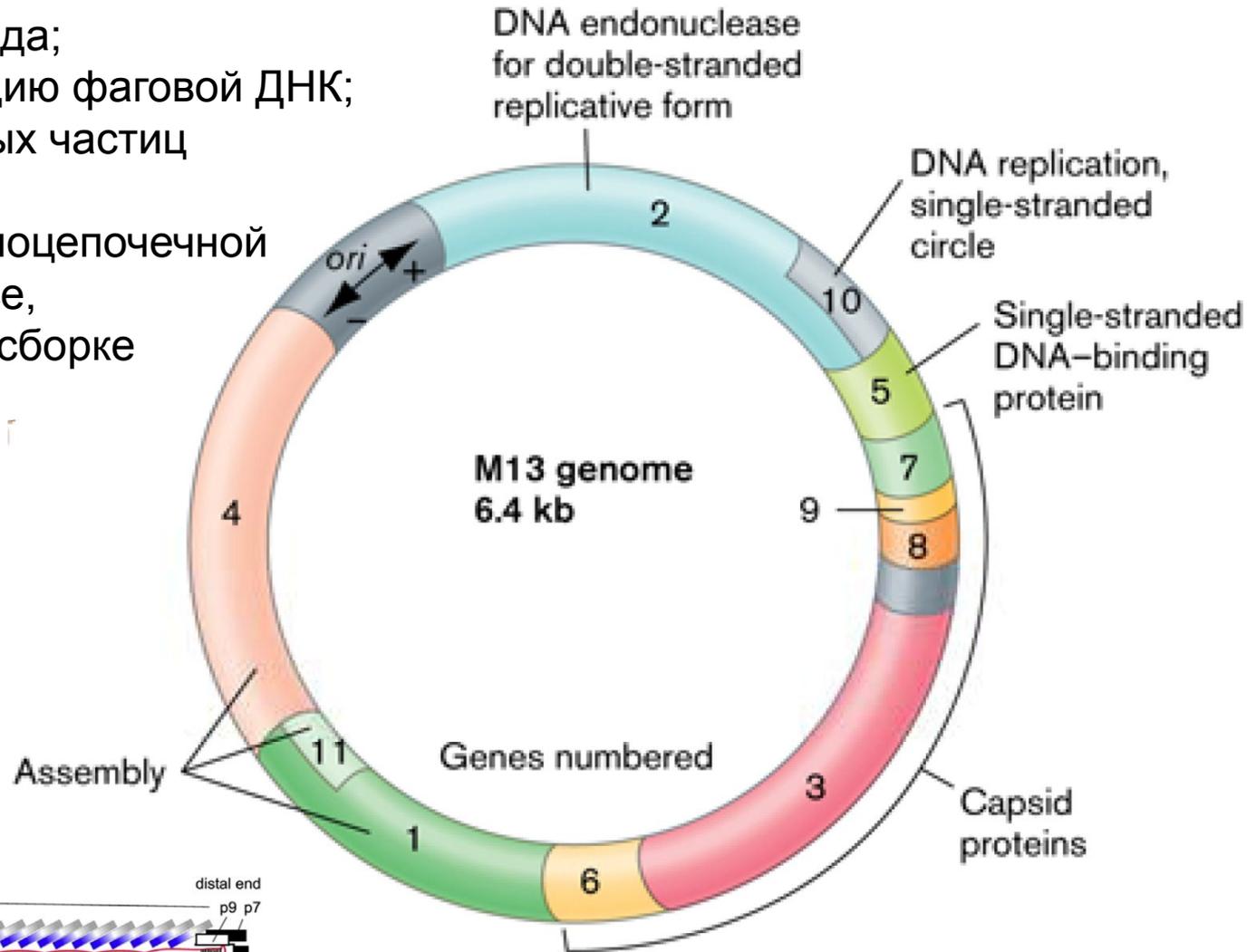
5 копий белков  
p3 и p6



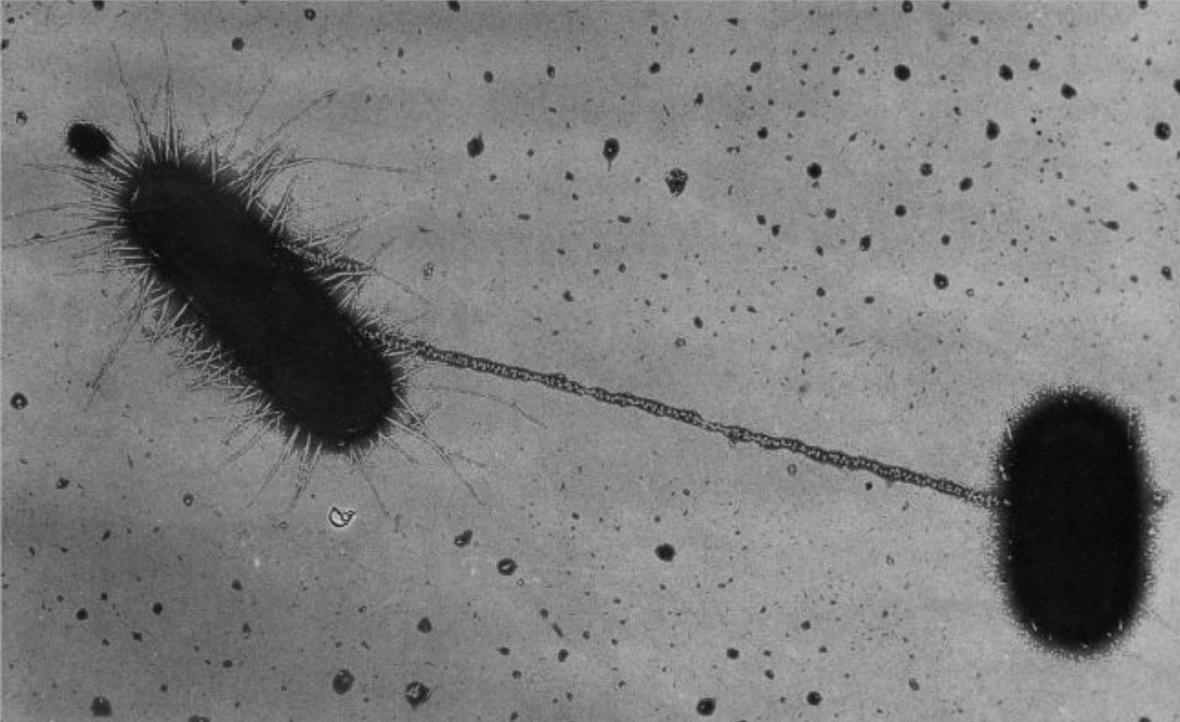
# Бактериофаг М13

11 генов

5 кодируют белки капсида;  
2 отвечают за репликацию фаговой ДНК;  
3 за самосборку фаговых частиц  
и секрецию;  
1 – за связывание с одноцепочечной  
фаговой ДНК в процессе,  
предшествующем самосборке  
фаговых частиц

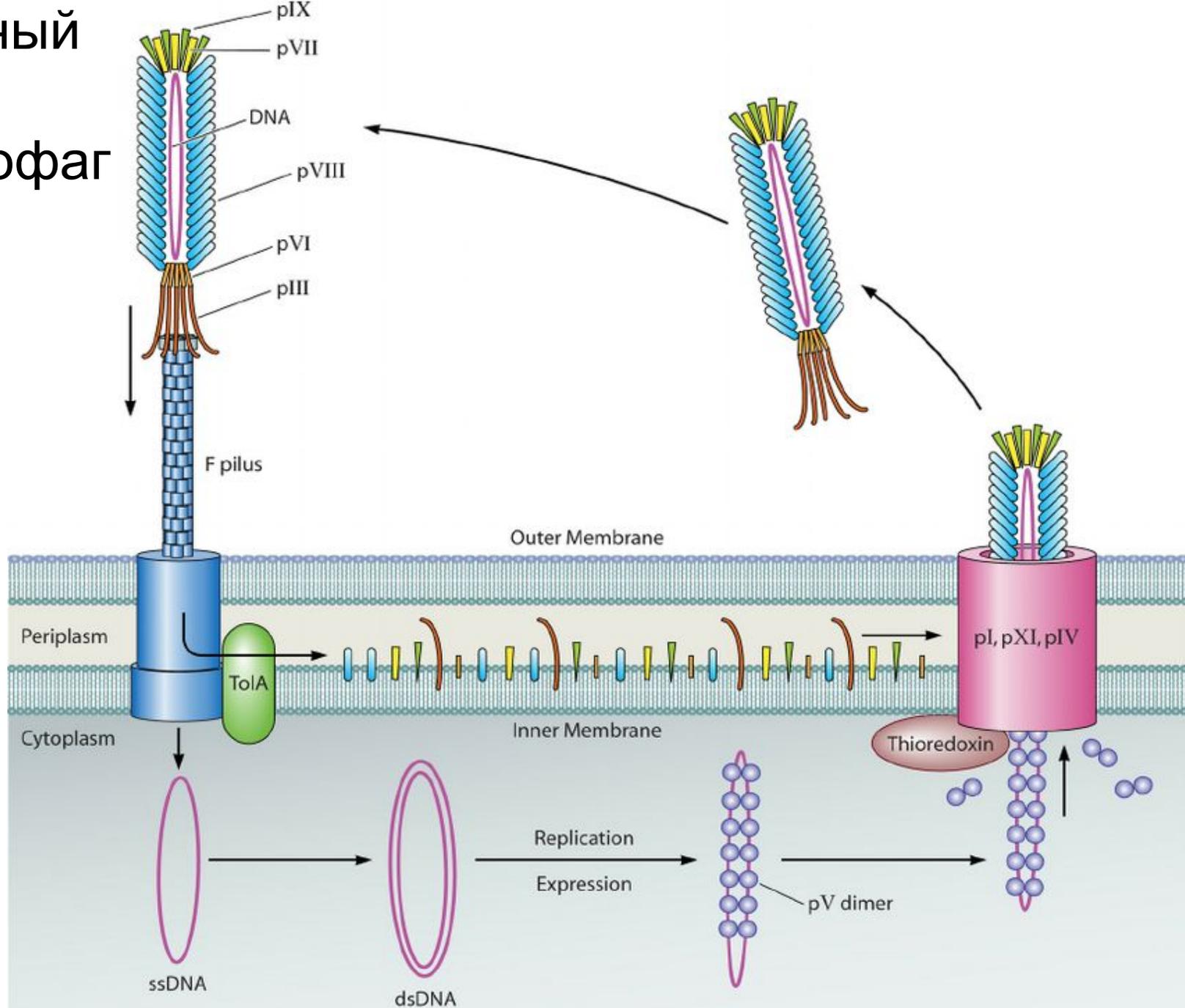


# F-плазмида

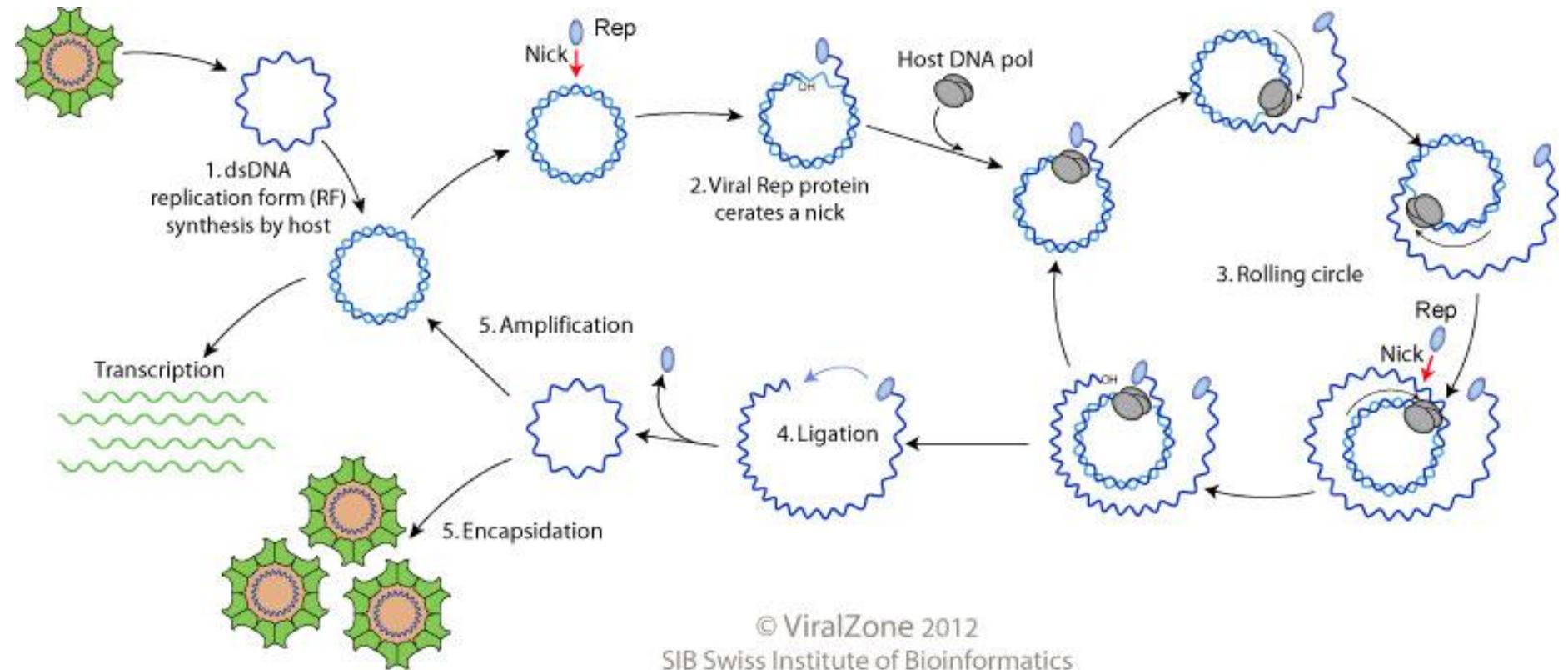


**Figure 5-7**  
*Introduction to Genetic Analysis, Tenth Edition*  
© 2012 W. H. Freeman and Company

# Жизненный цикл бактериофага

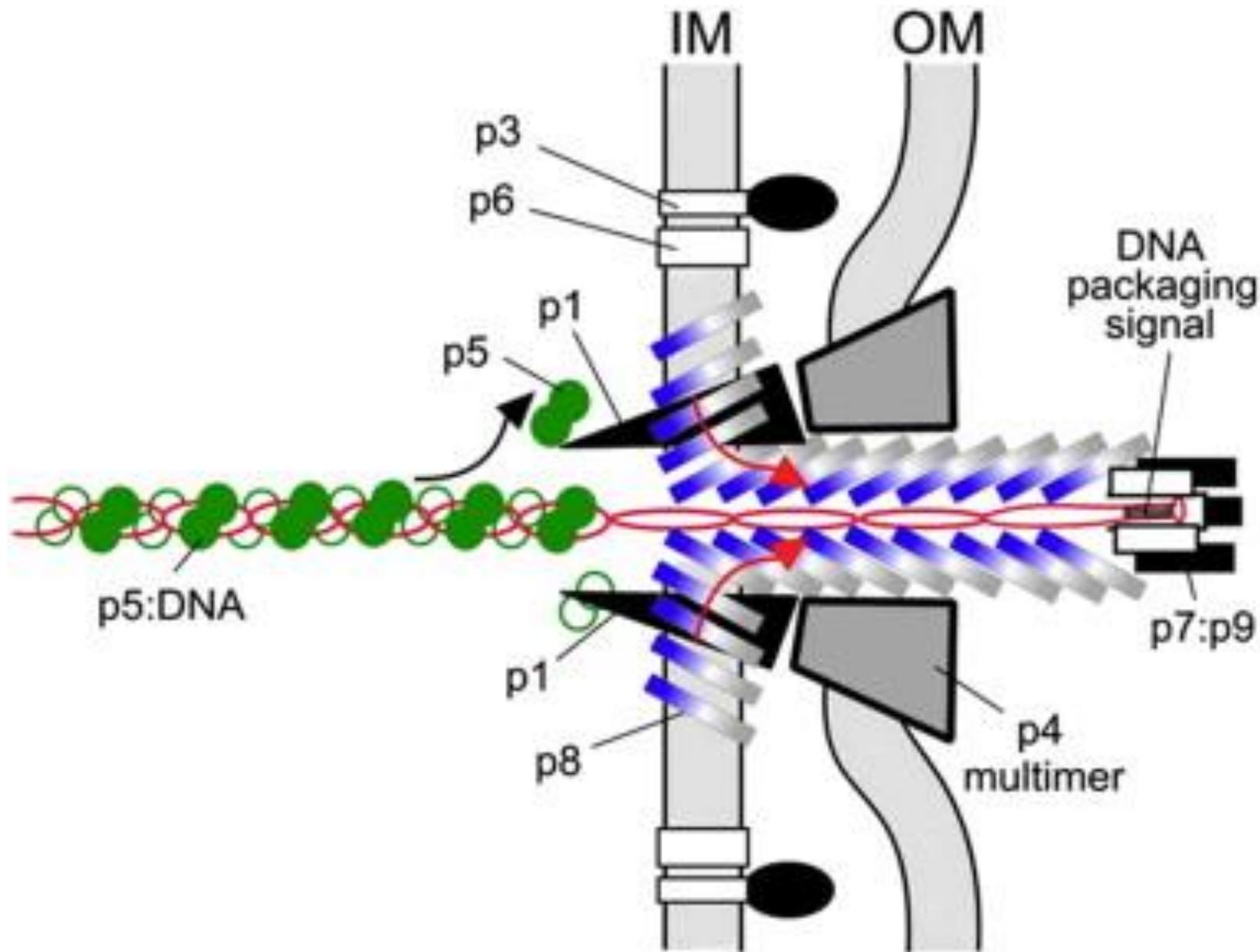


# Репликация бактериофага M13

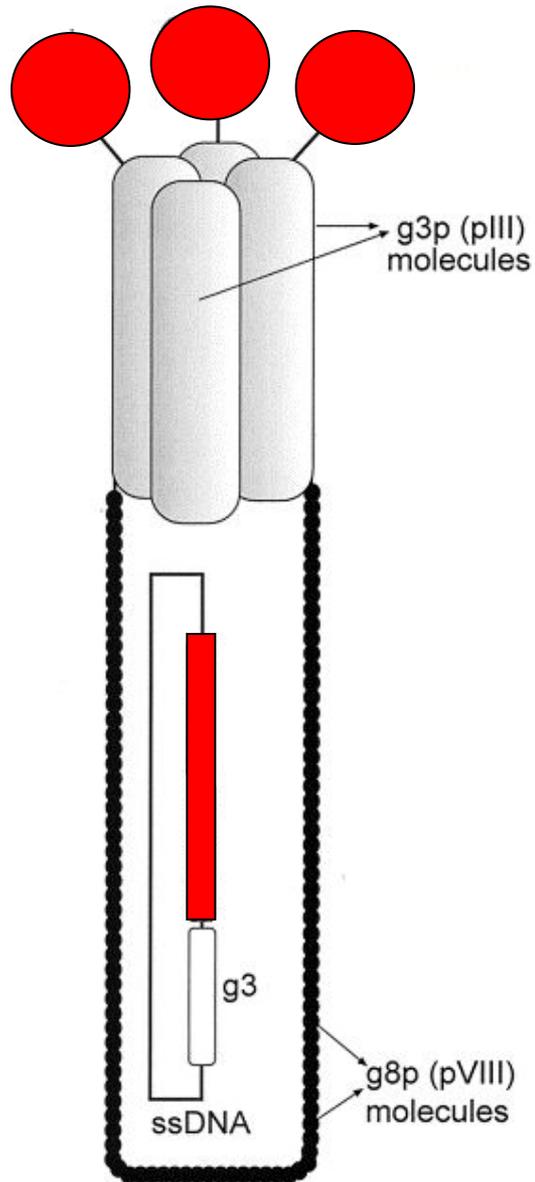


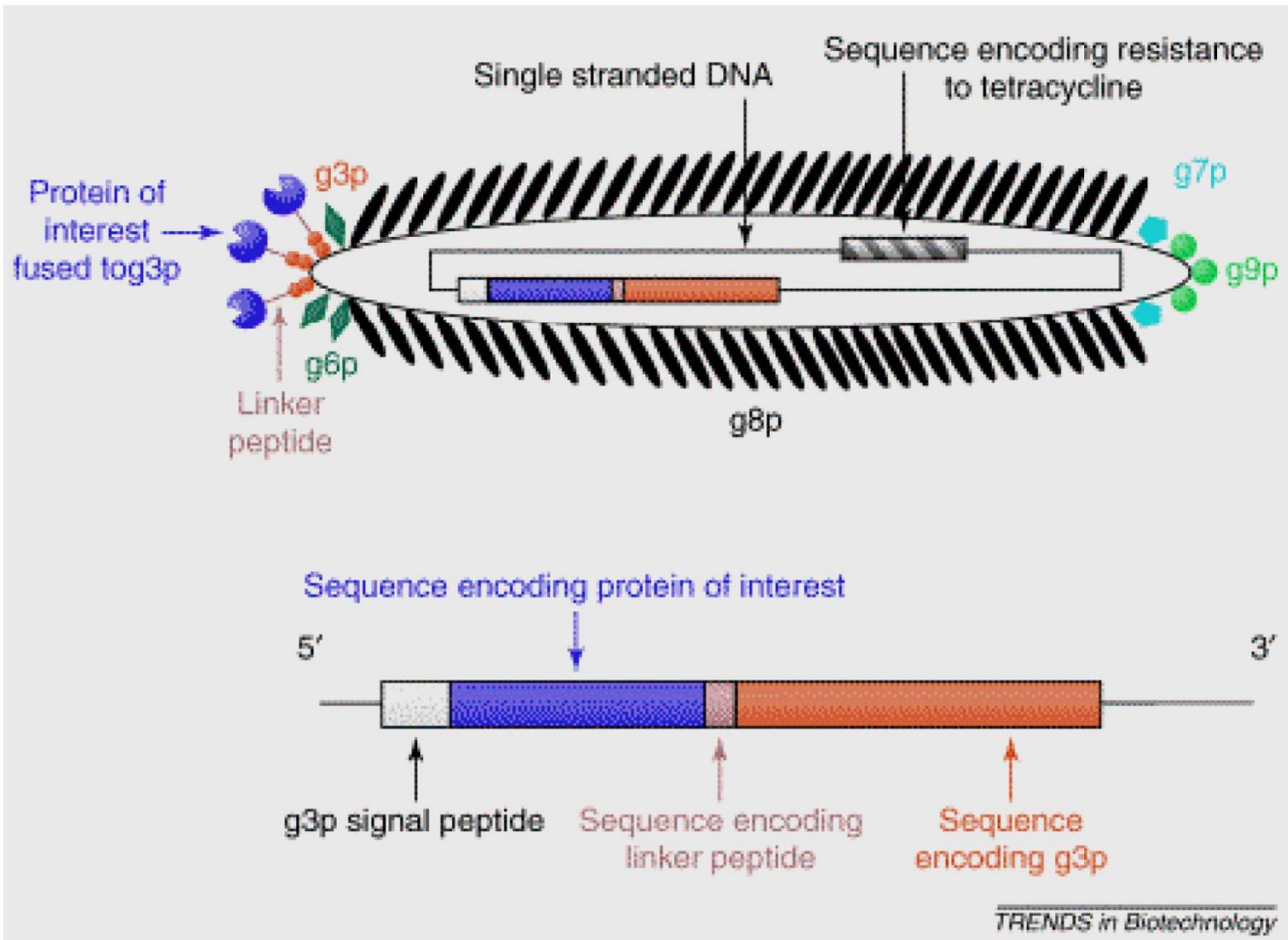
# Клинический цикл бактериофага

## Самосборка и секреция фаговых частиц

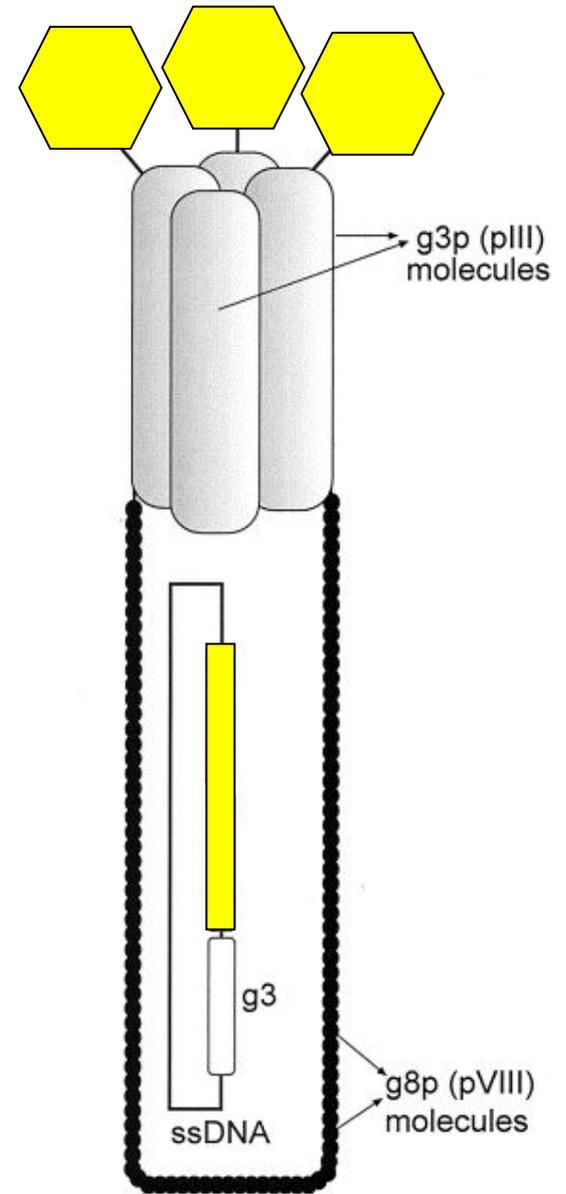
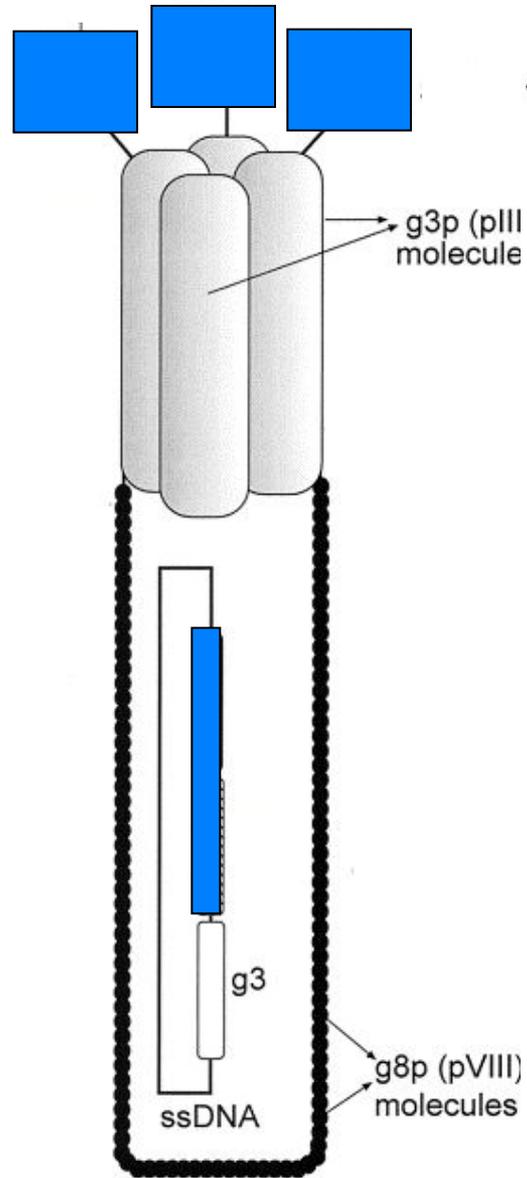
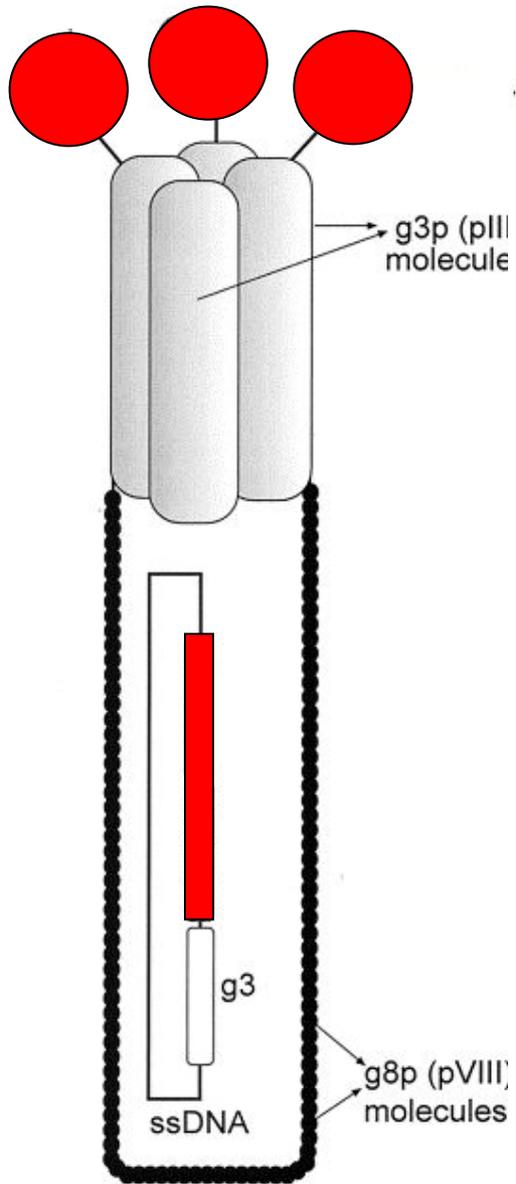


# Фаговый дисплей

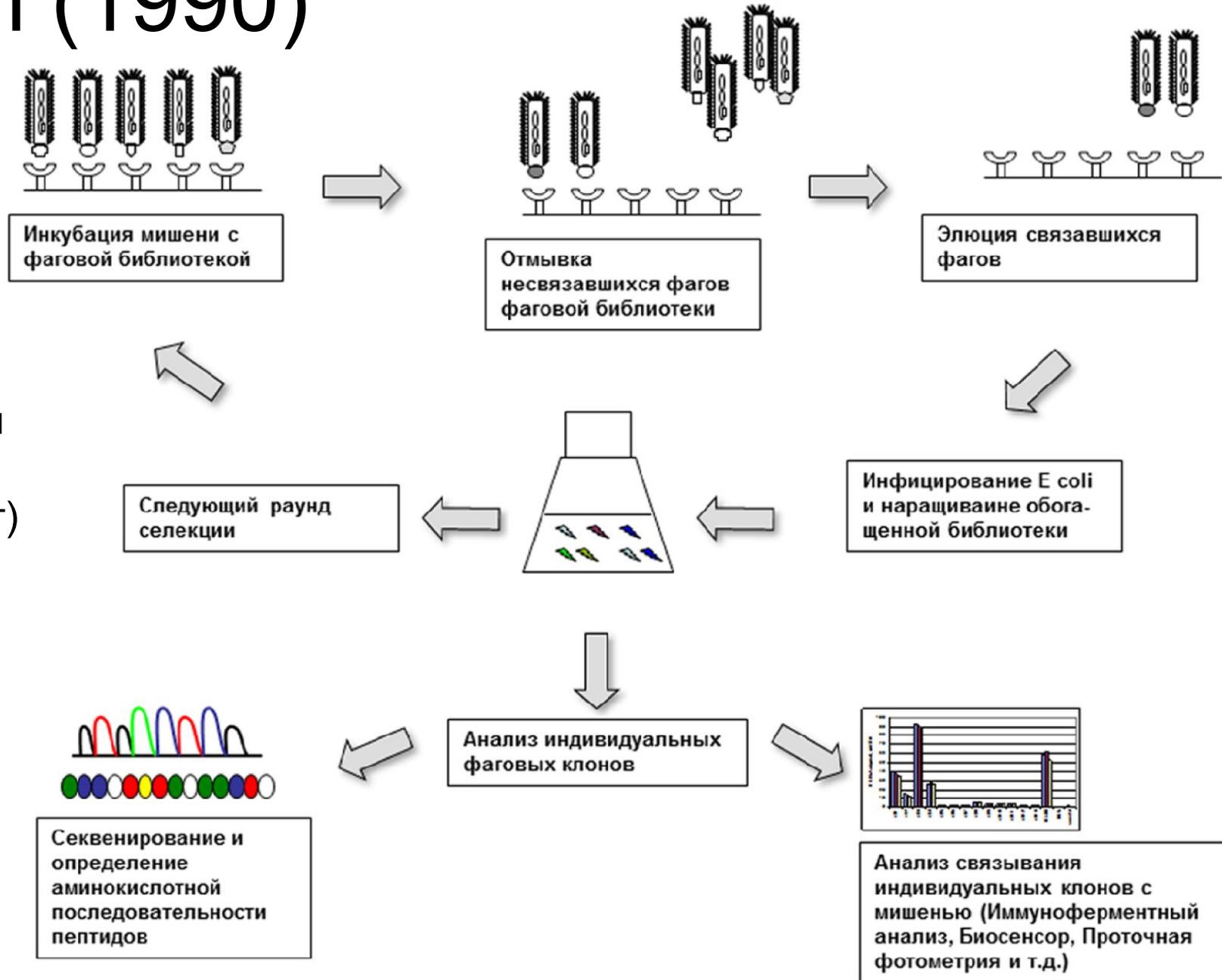




$10^8$ - $10^9$  вариантов



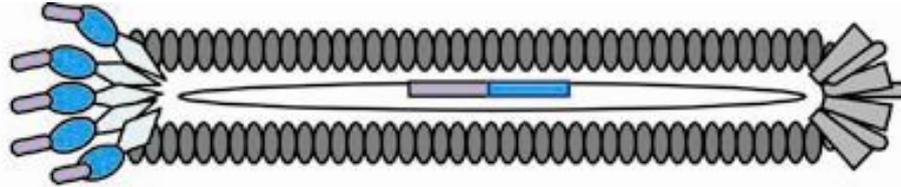
# Smith (1990)



Аффинная селекция (биопэнинг) фагов

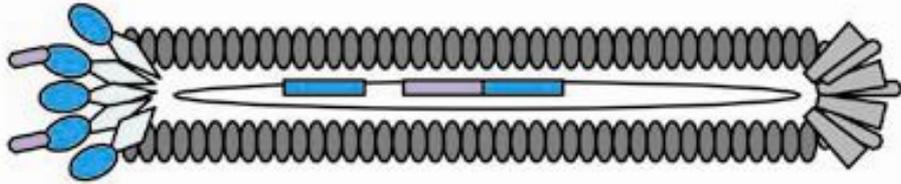
# Типы фаговых комбинаторных библиотек

3



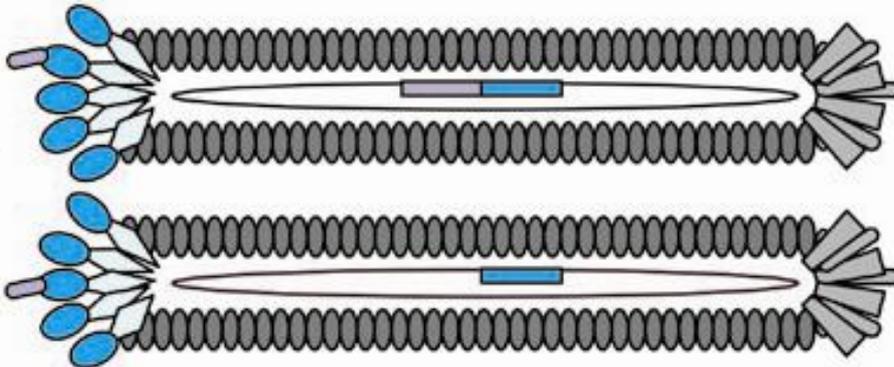
Основные типы пептидных библиотек различаются:  
1) количеством копий рекомбинантного белка с экспонированным чужеродным белком по отношению к белку дикого типа на одну фаговую частицу  
2) количеством векторных систем, обеспечивающих экспонирование.

33



3+3

фаг-помощник

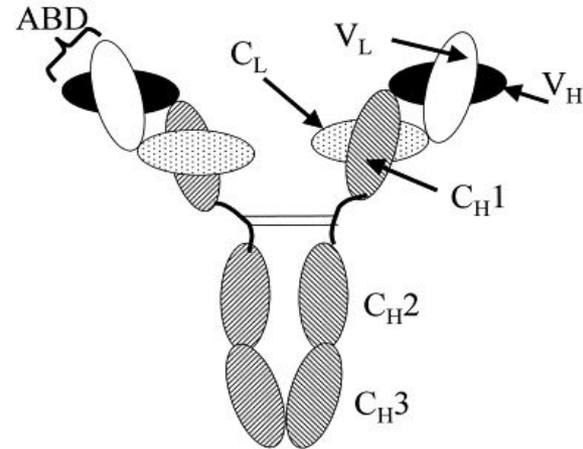
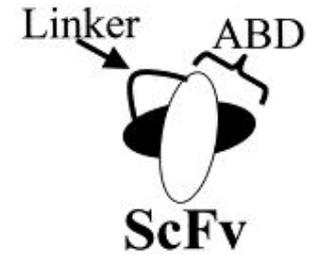
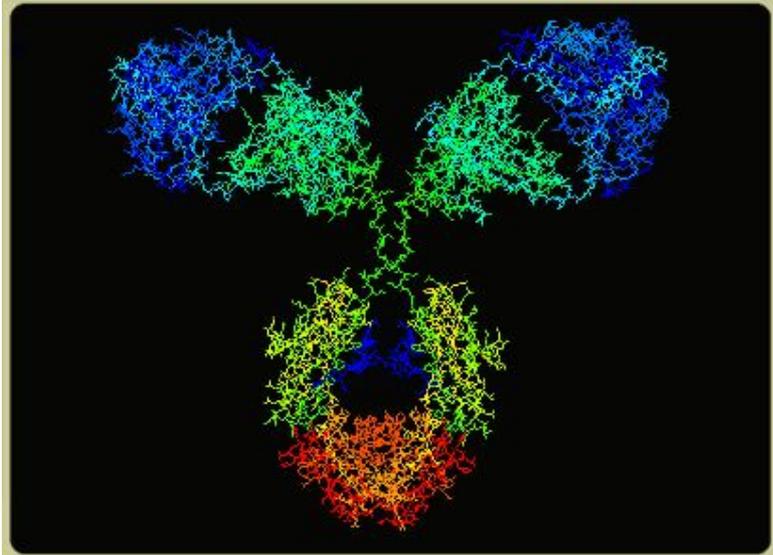


# Что можно «демонстрировать»?



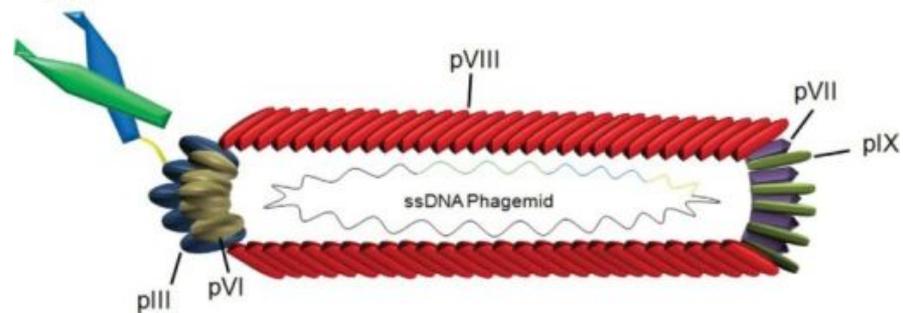
1. Пептиды со случайной последовательностью  
5-20 аминокислотных остатков

2. Антитела



Displayed scFv

M13 Bacteriophage



3. Фрагменты