

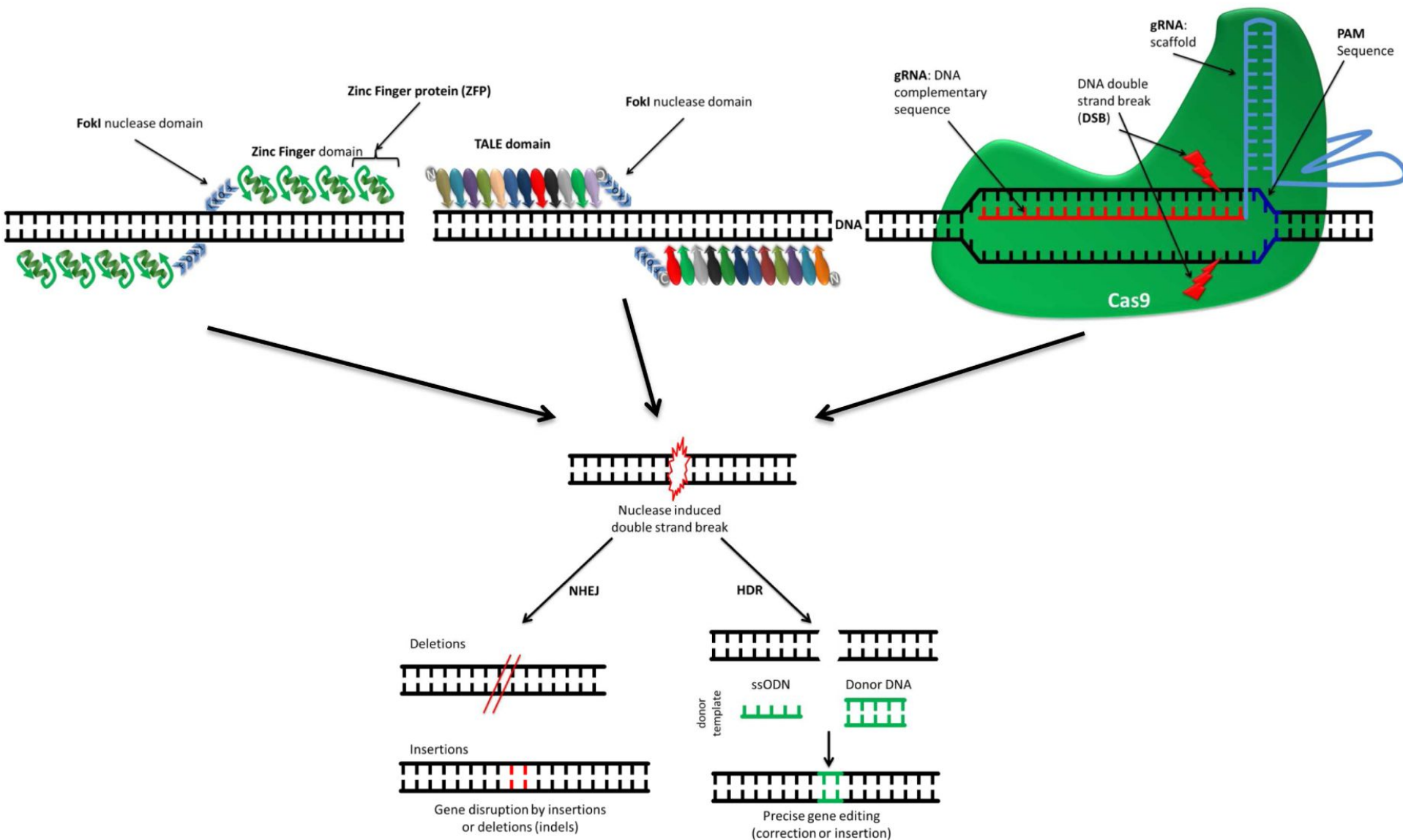
Биотехнология

2

ZFN

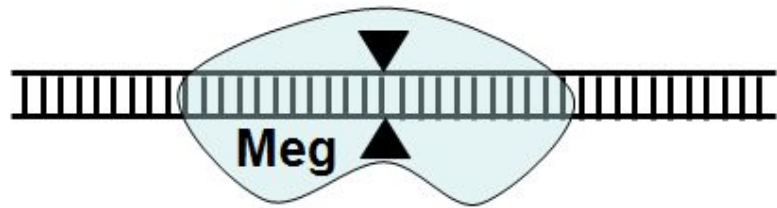
TALEN

CRISPR/Cas9



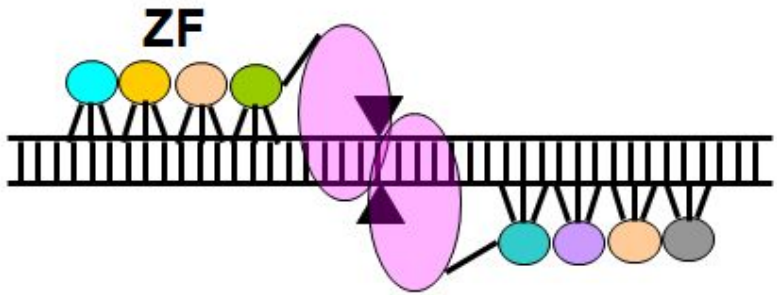
ZFN
«Цинковопальцевые нуклеазы»
нуклеазы на основе белков,
содержащих домен «цинковые пальцы»

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



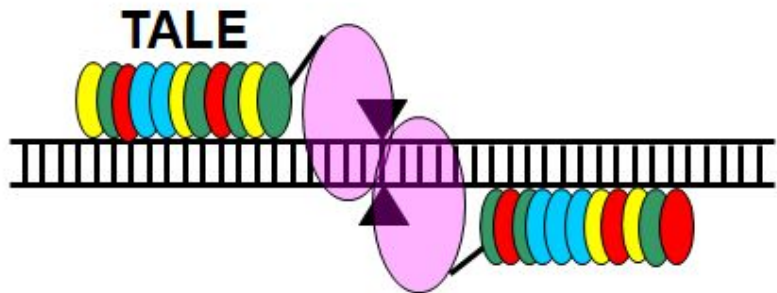
Meganuclease

20-40 bp/Enzyme



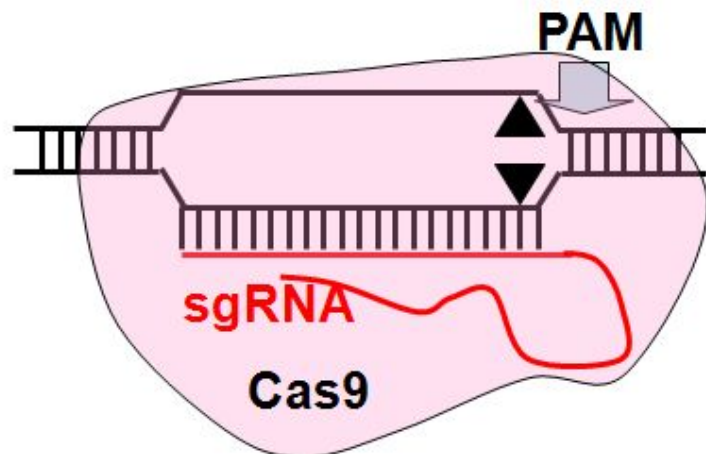
ZFN

3 bp/Finger



TALEN

1 bp/Module



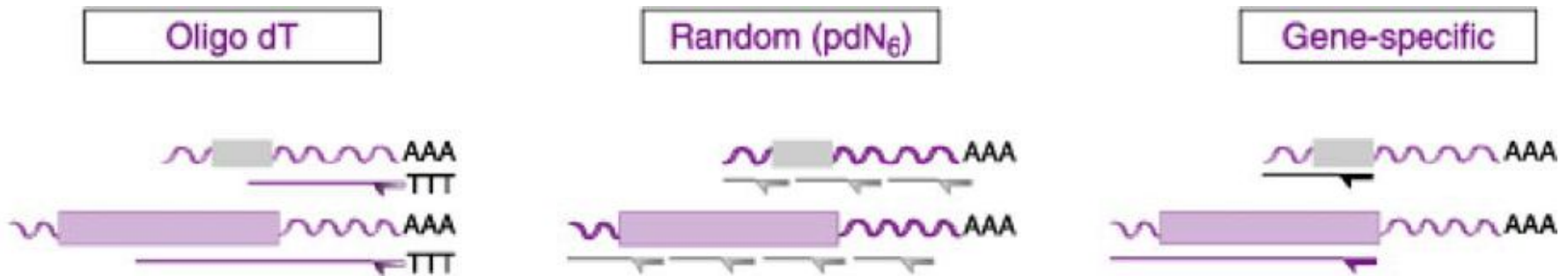
CRISPR-Cas

1 bp/Base

Создание клонотеки кДНК

Синтез первой цепи

Фермент — обратная транскриптаза



Создание клонотеки кДНК

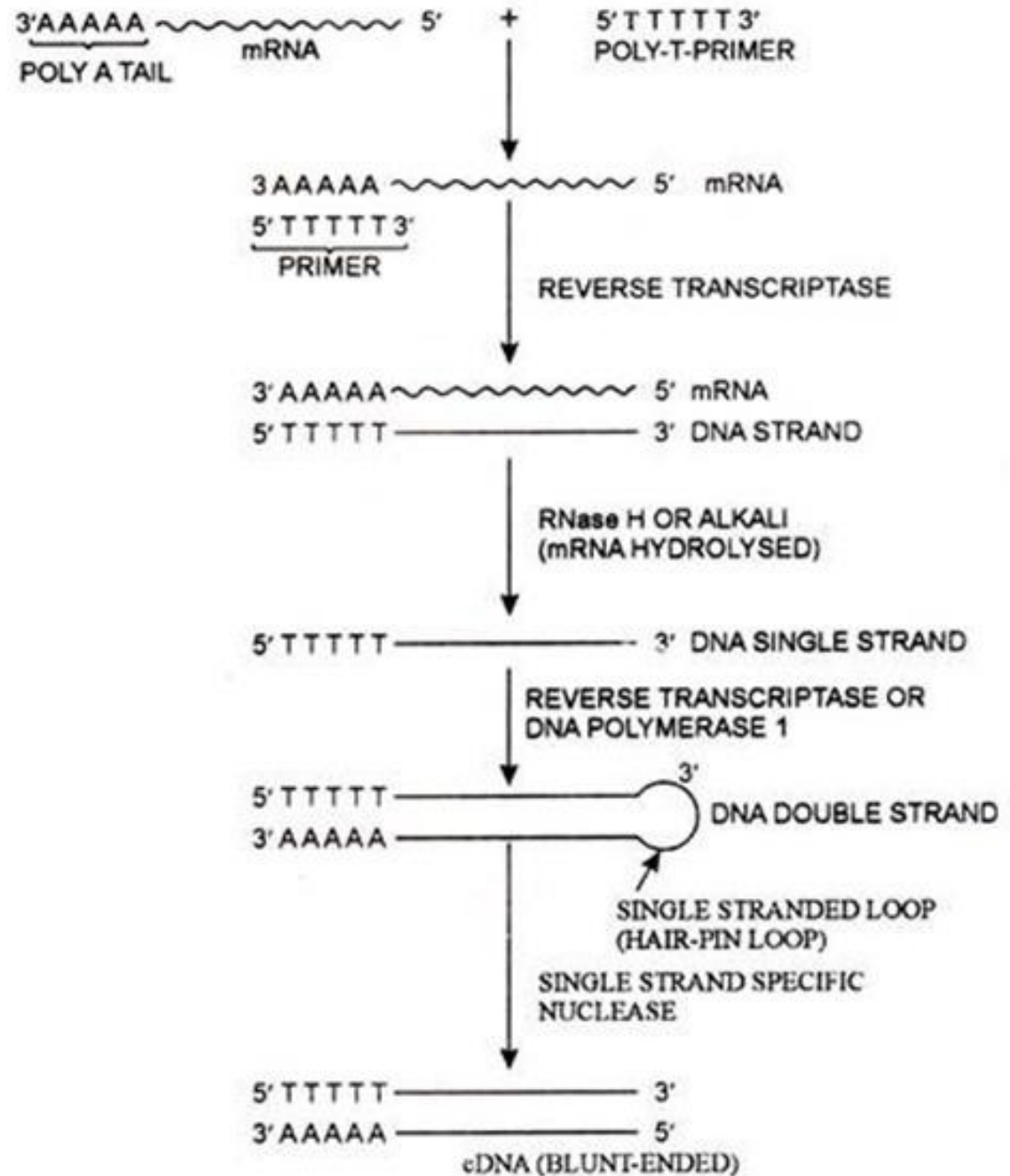
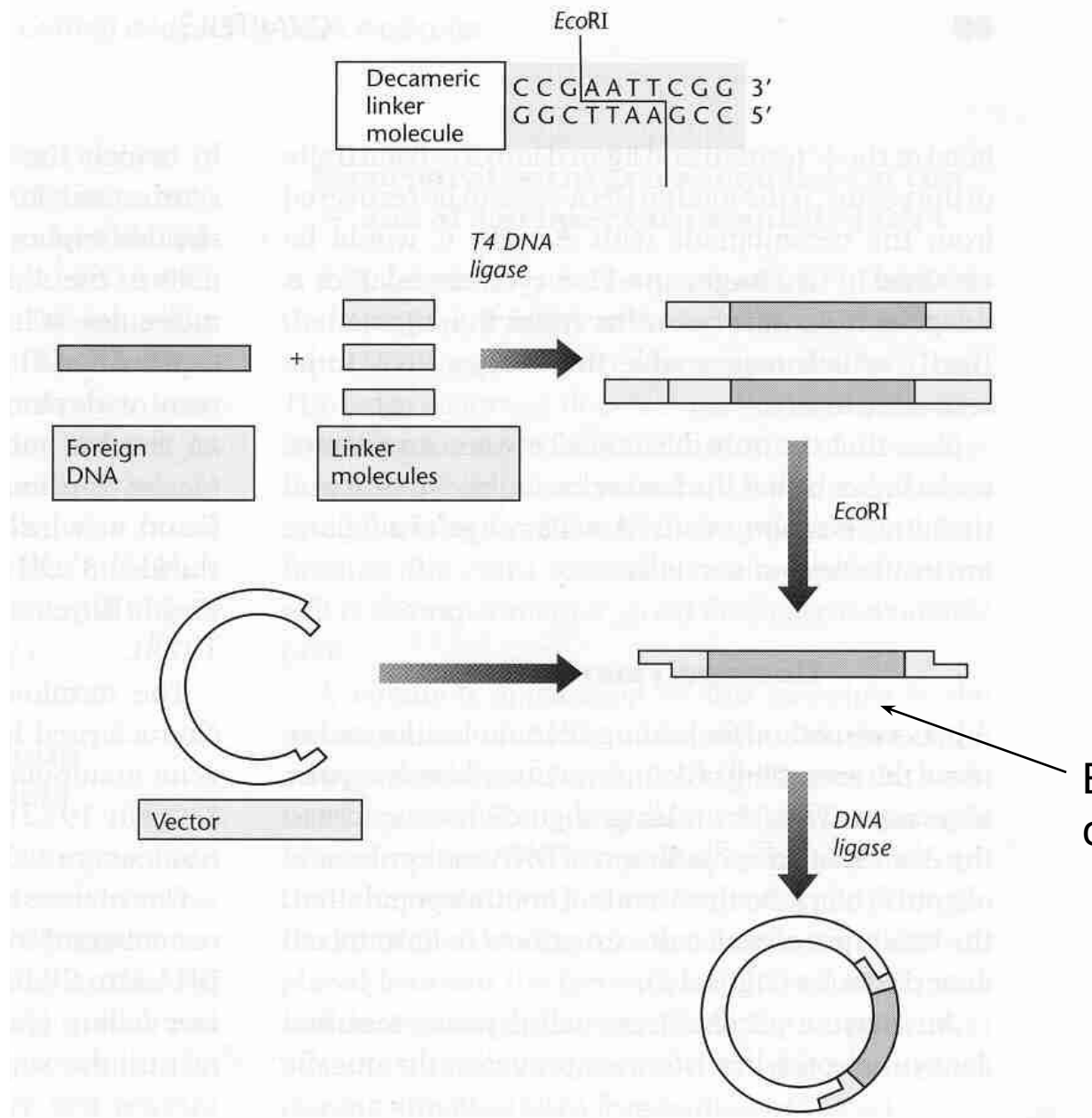


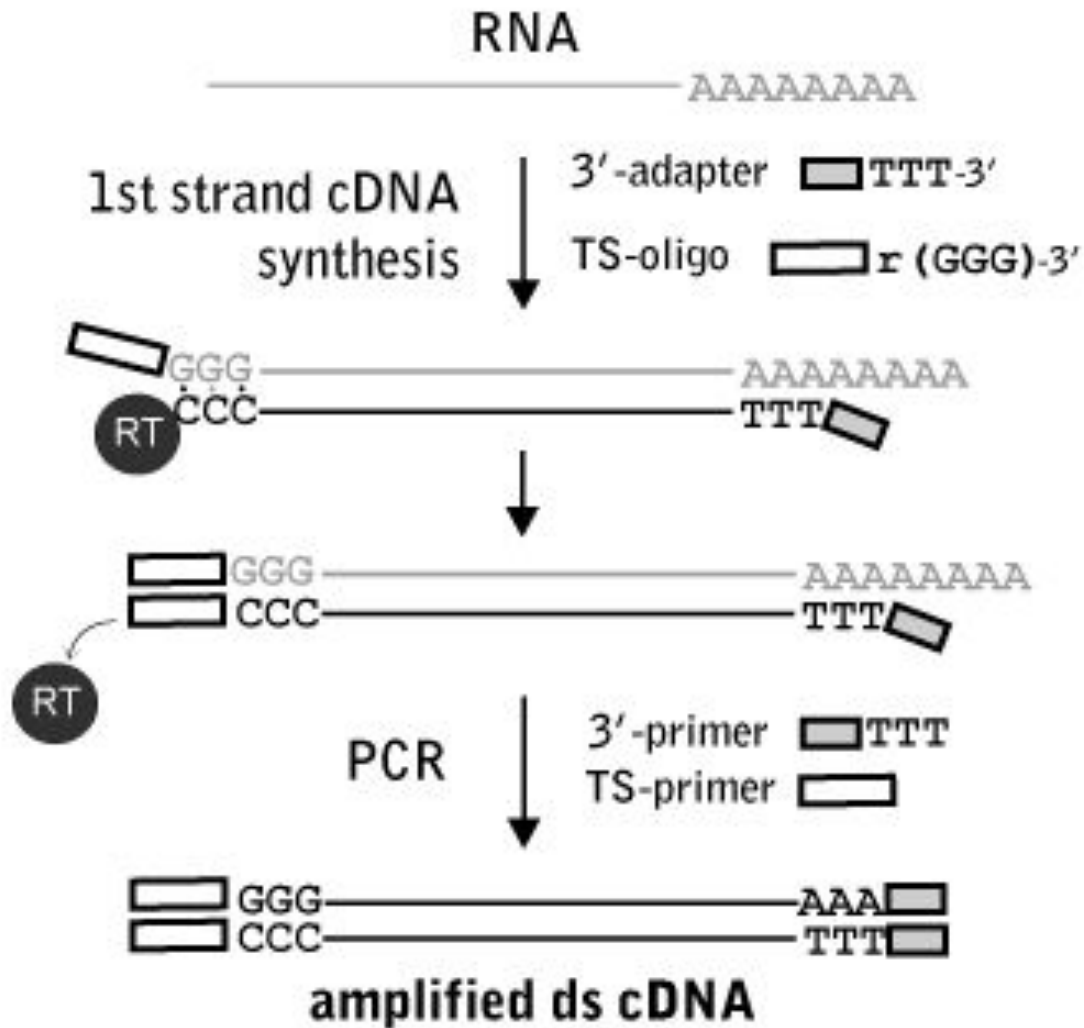
Fig. 10. Steps in construction of a c-DNA library.

Клонирование с использованием ЛИНКЕРОВ

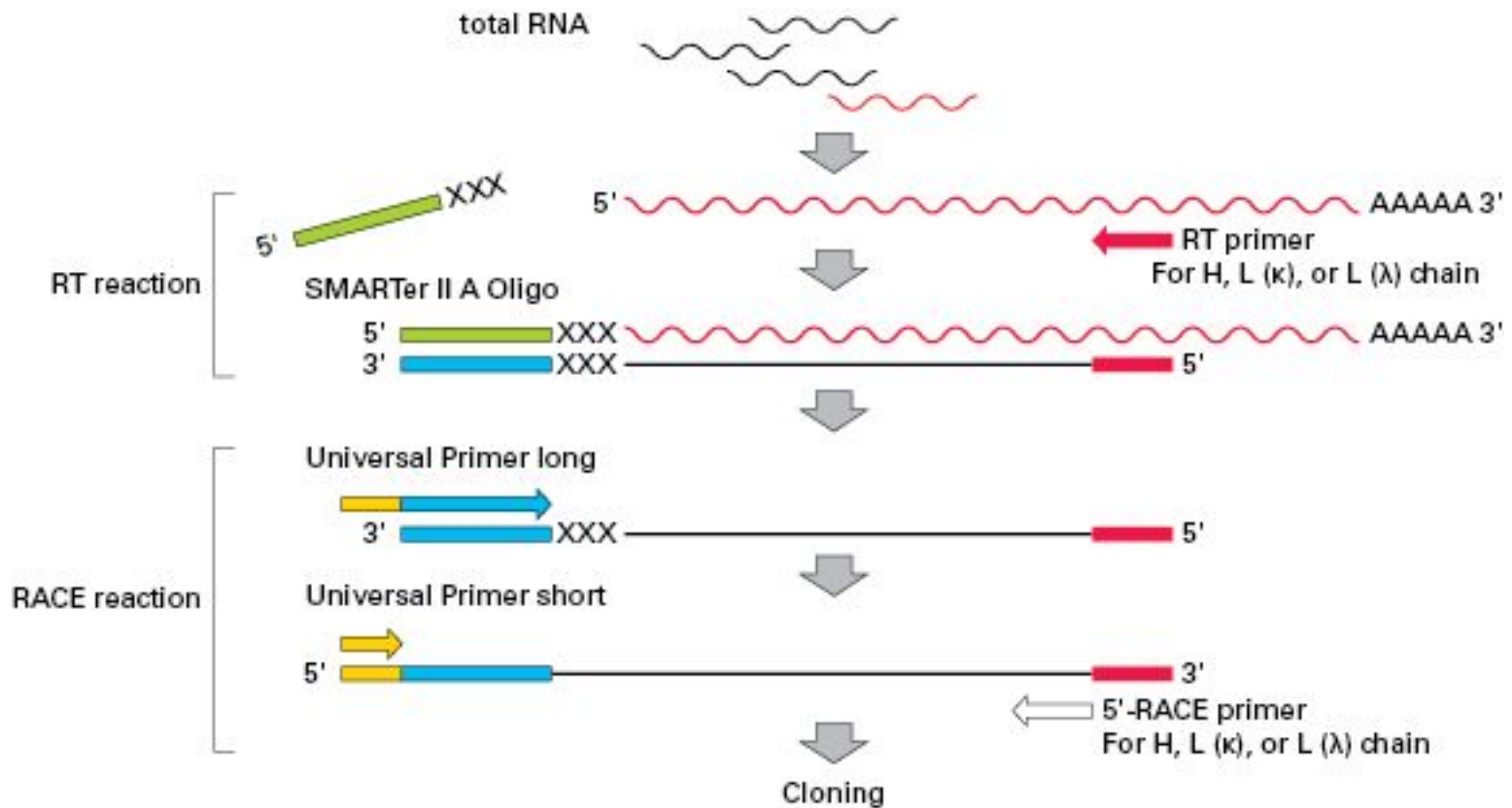


Вставка не содержит сайтов EcoRI?

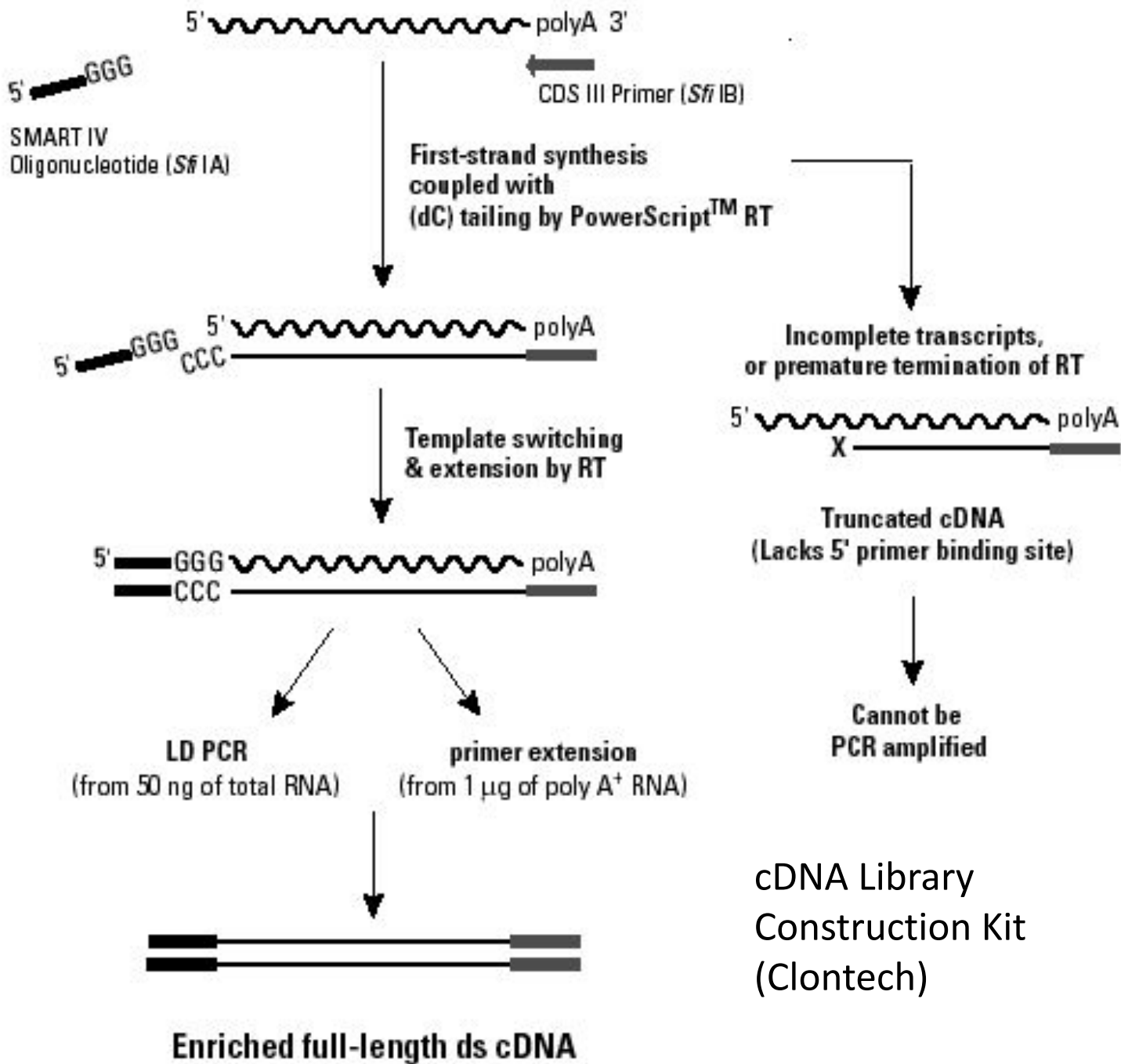
Технология SMART



Технология RACE



Poly A⁺ RNA

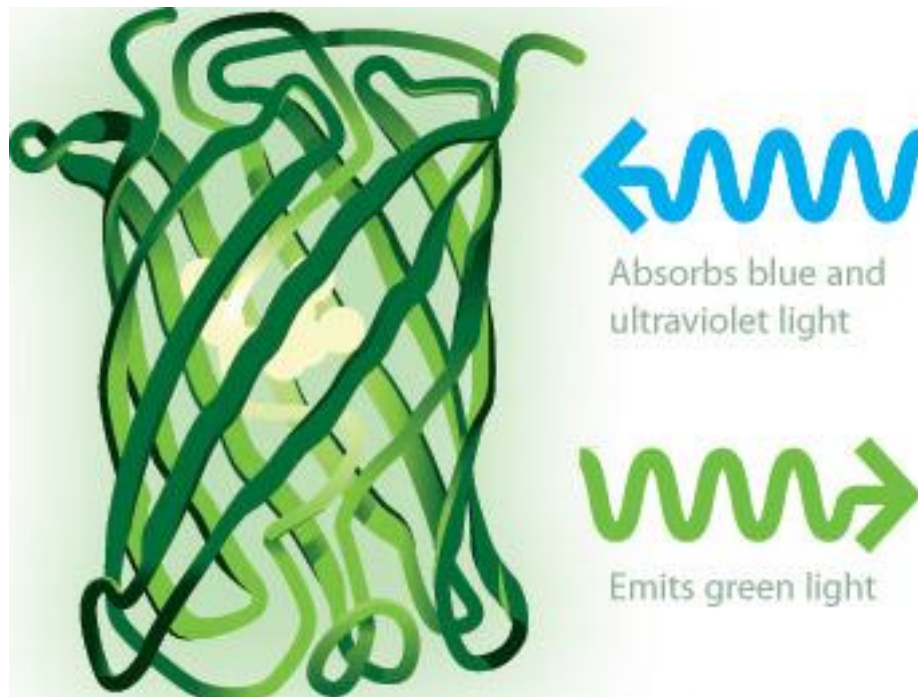


Создание клонотеки cDNA

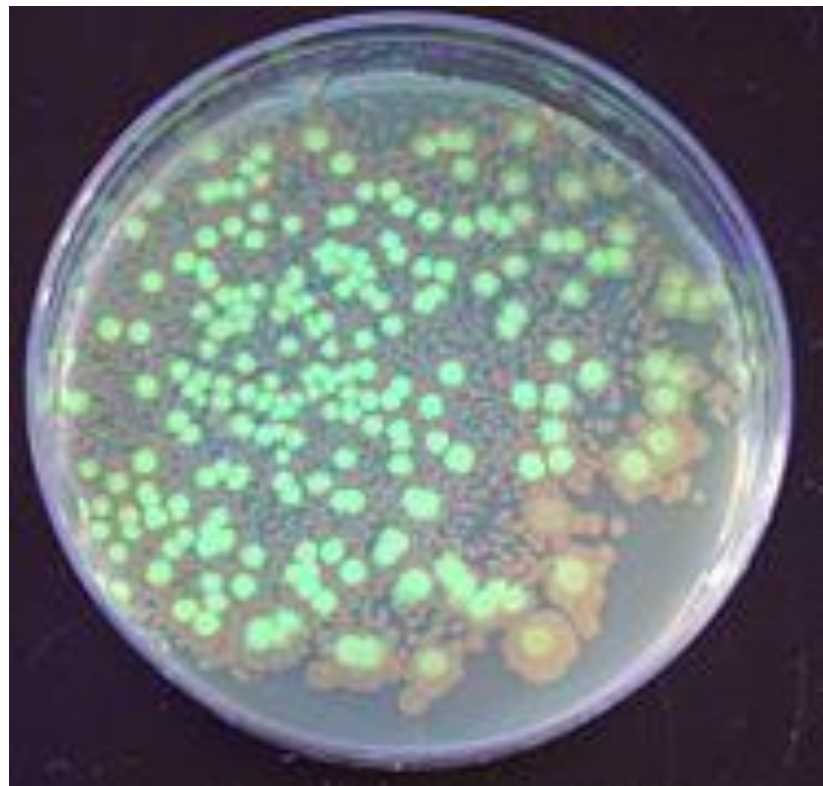
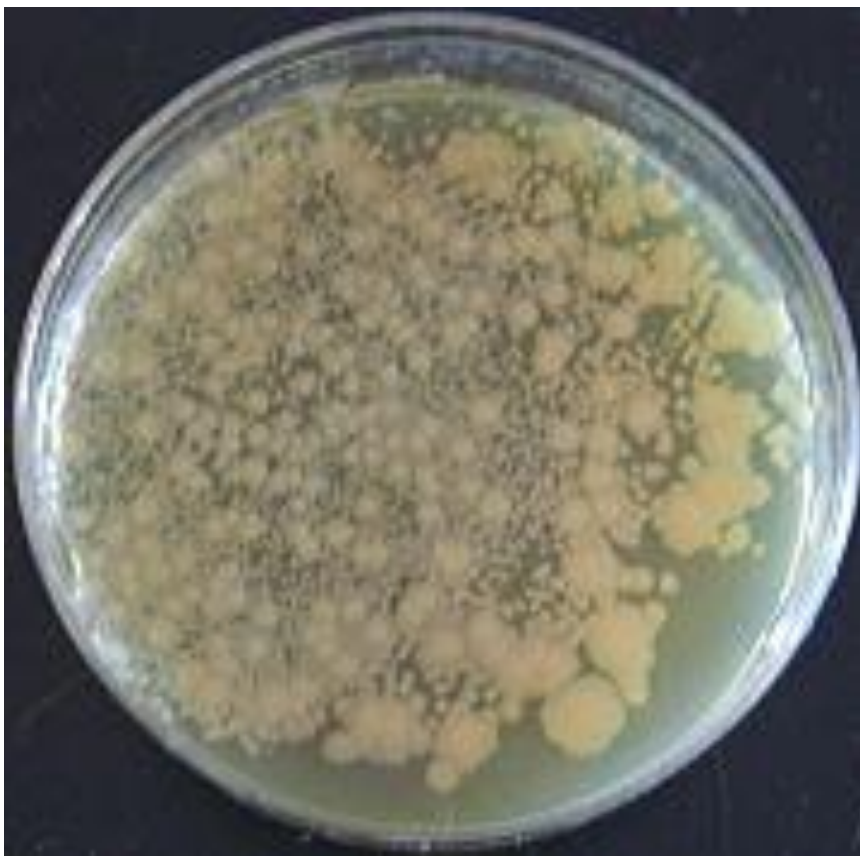
Enriched full-length ds cDNA

cDNA Library
Construction Kit
(Clontech)

GFP-белок



GFP-белок



GFP-белок

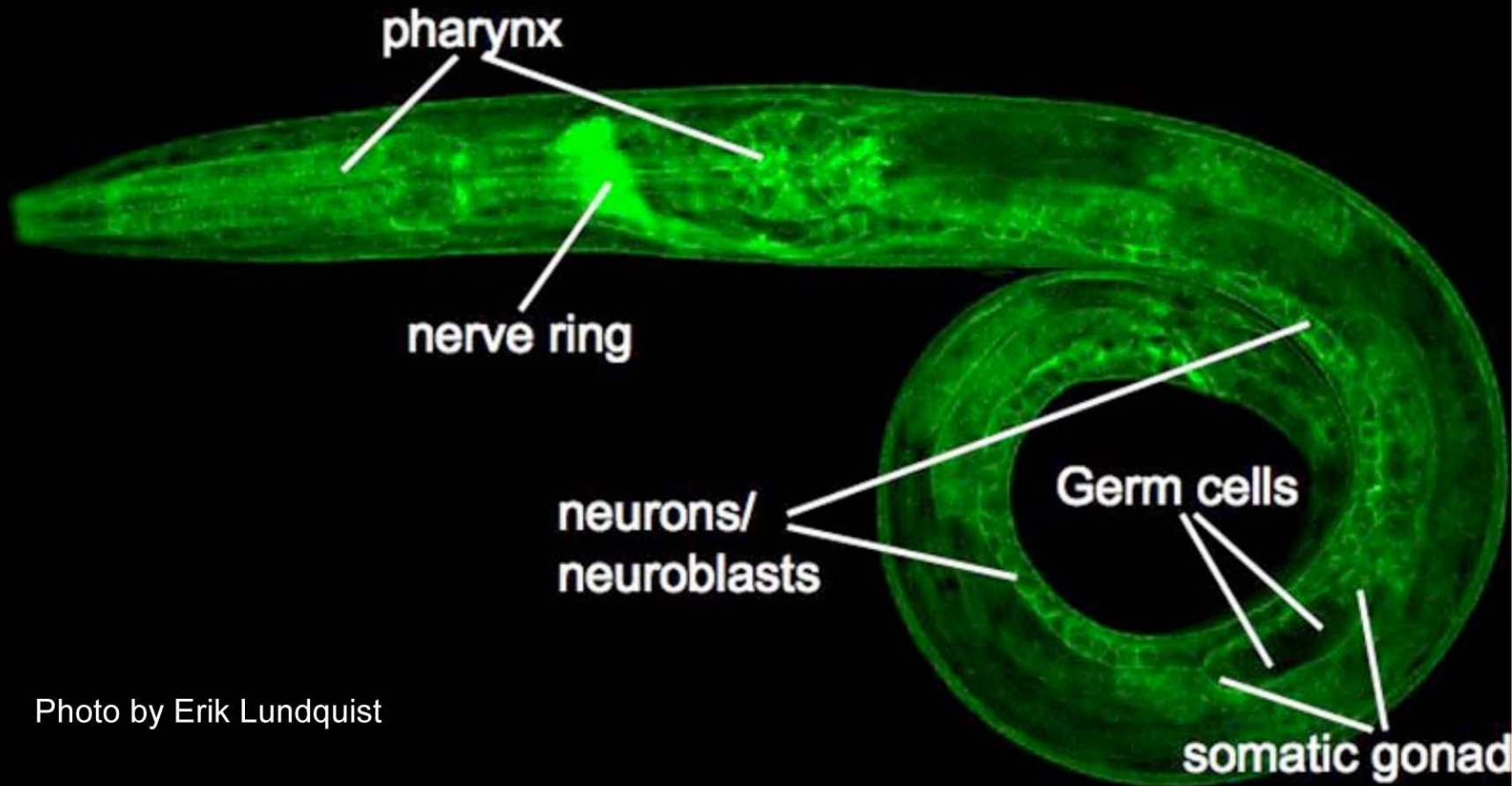
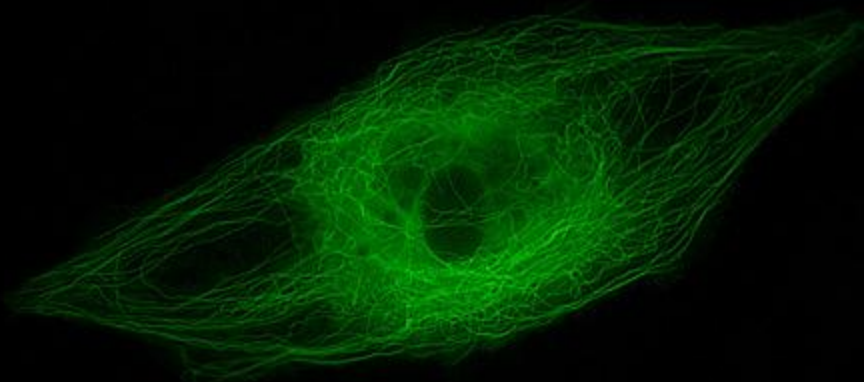
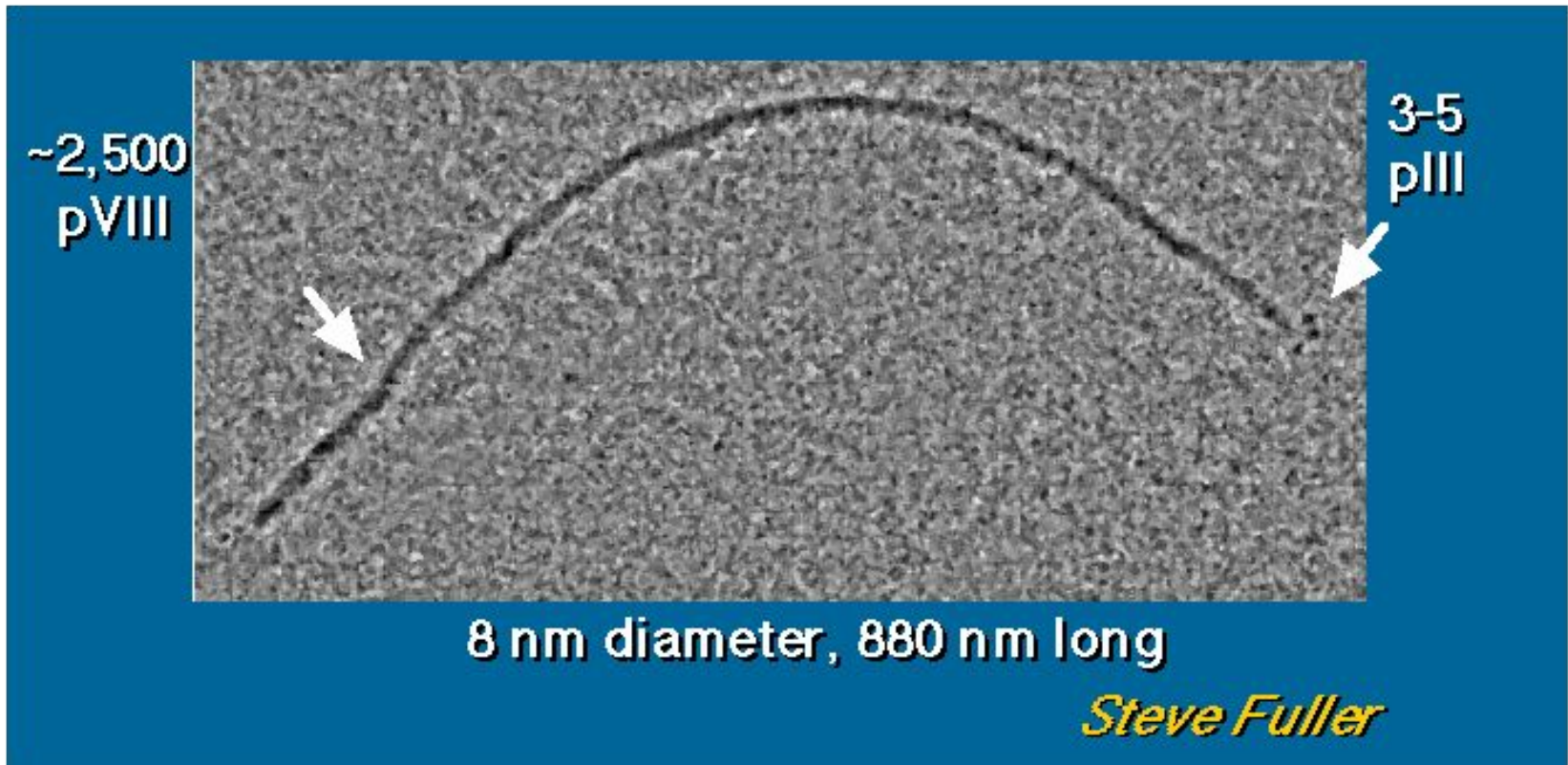
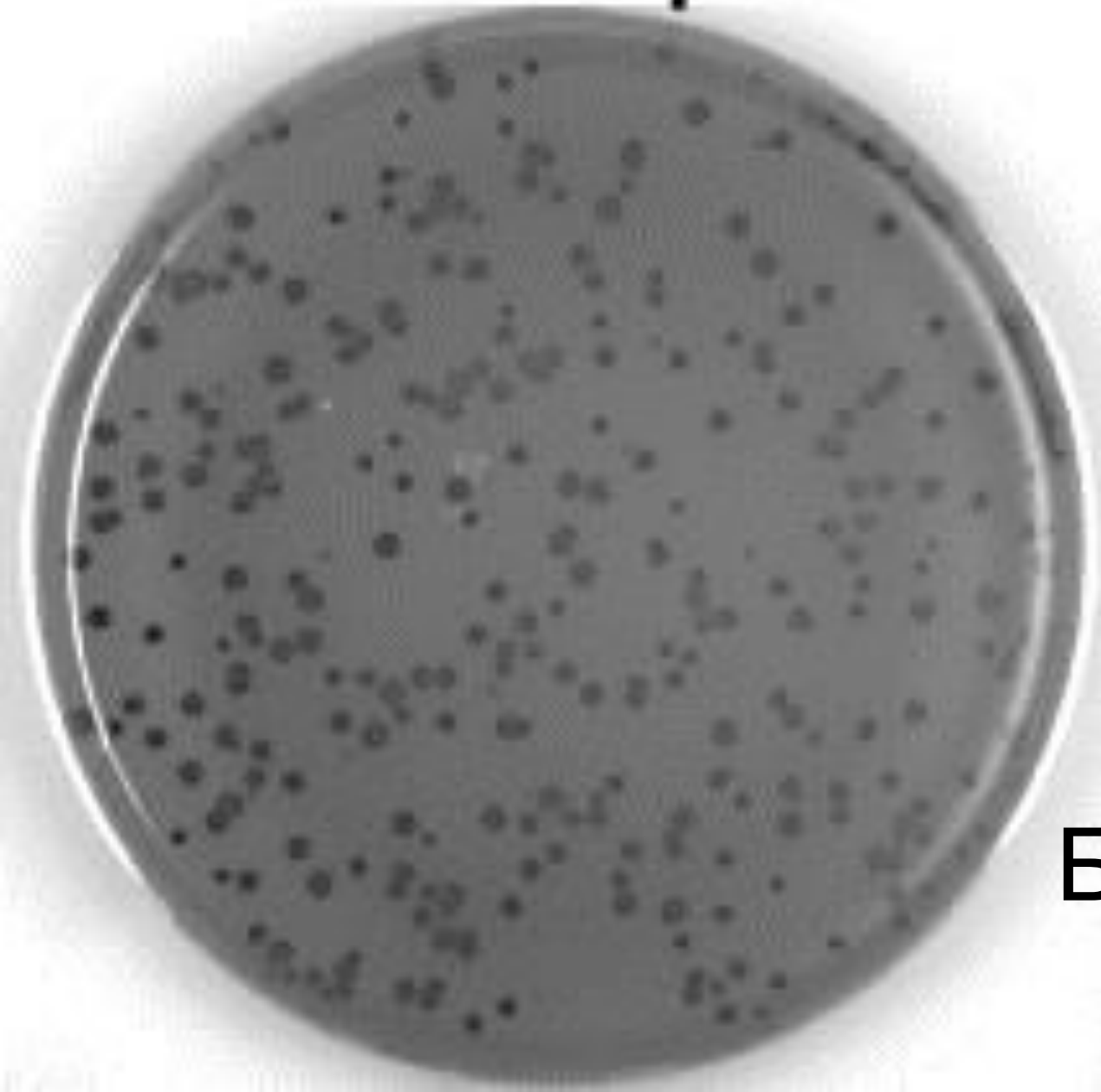


Photo by Erik Lundquist

Phage Display Library



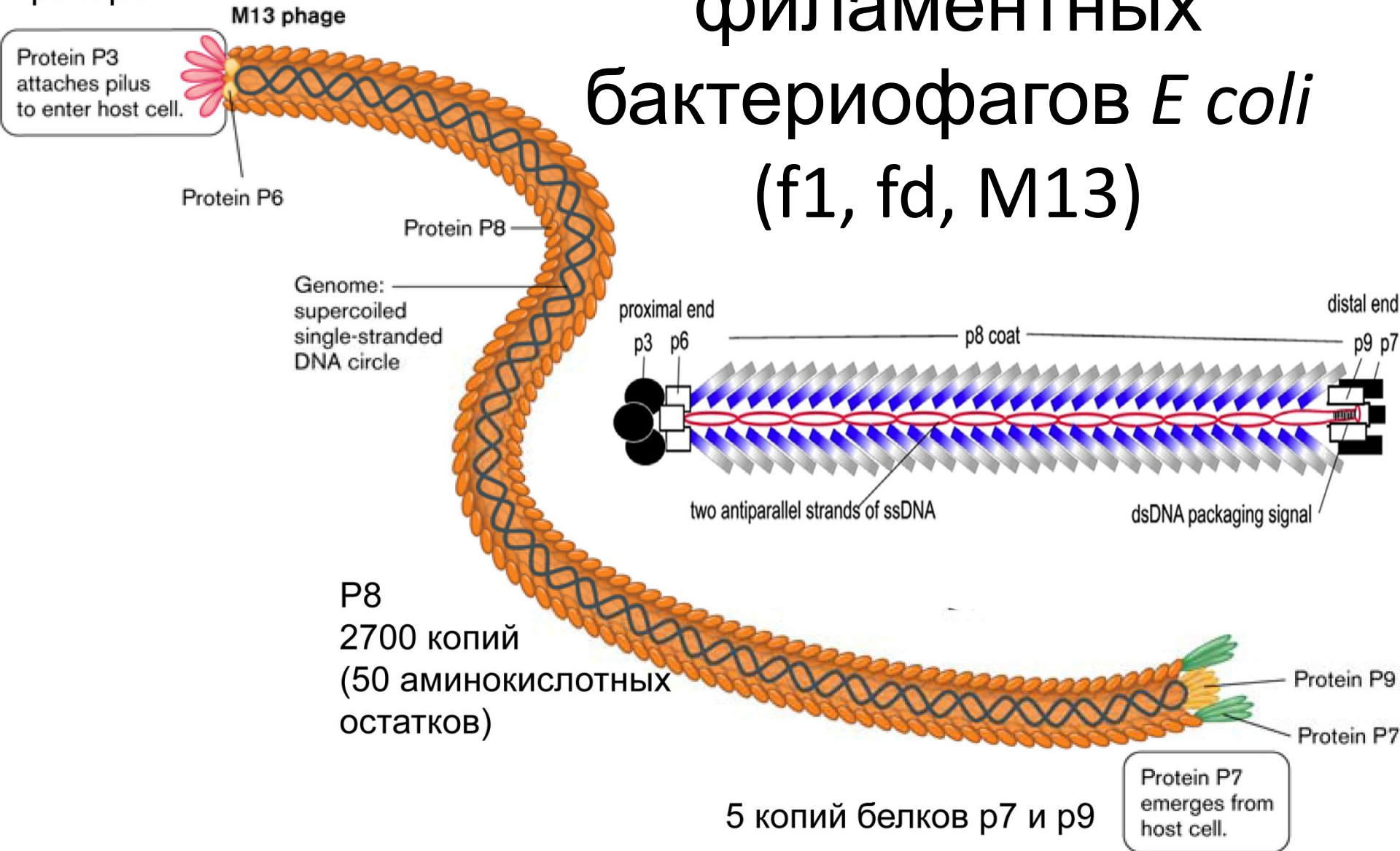
M13 Plaques



Бактериофа
г M13

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

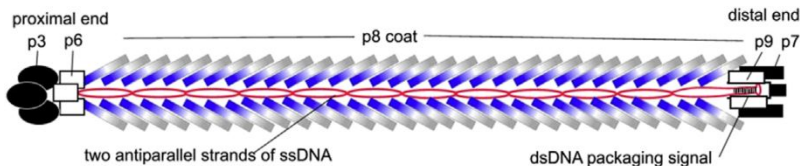
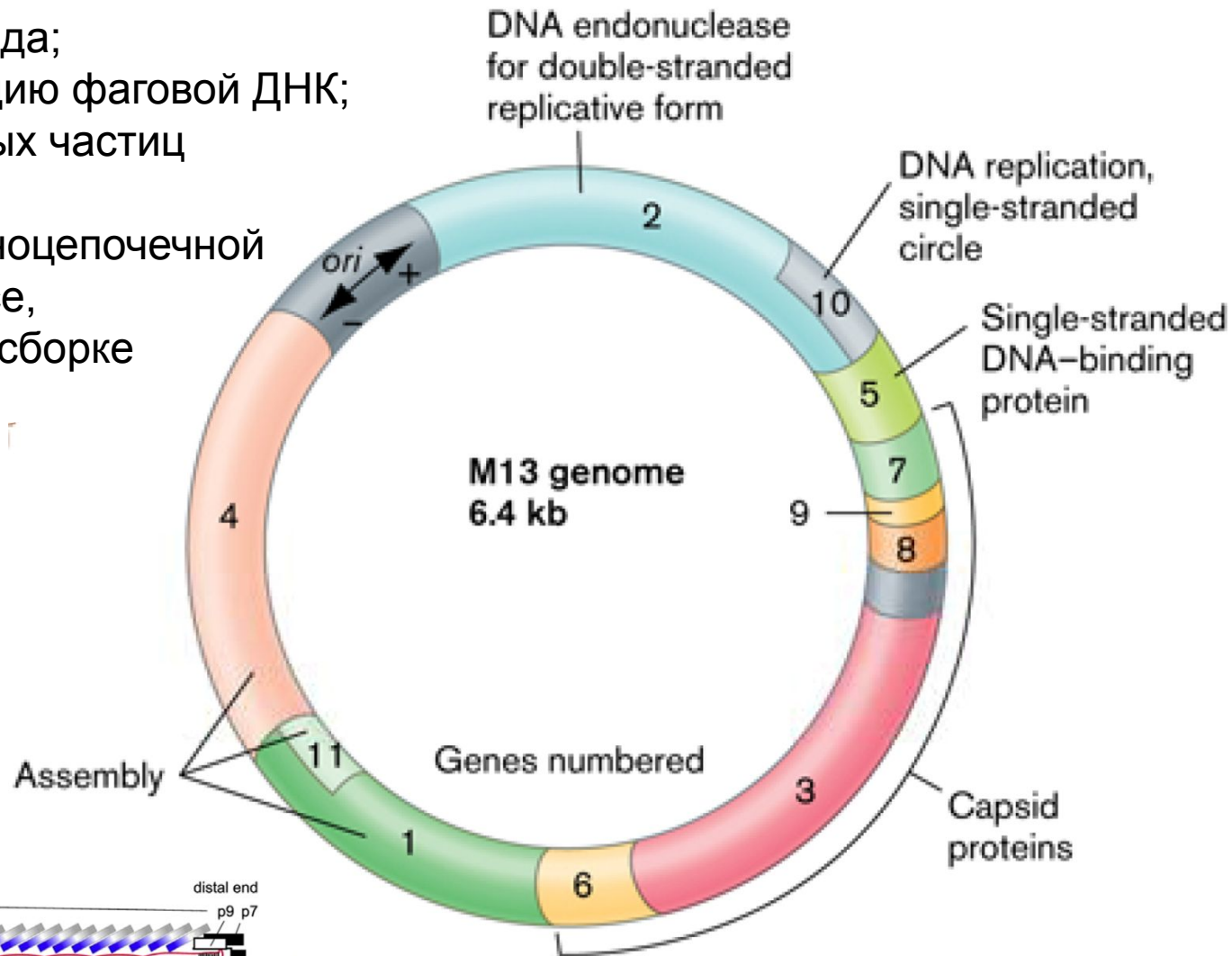
5 копий белков
p3 и p6



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

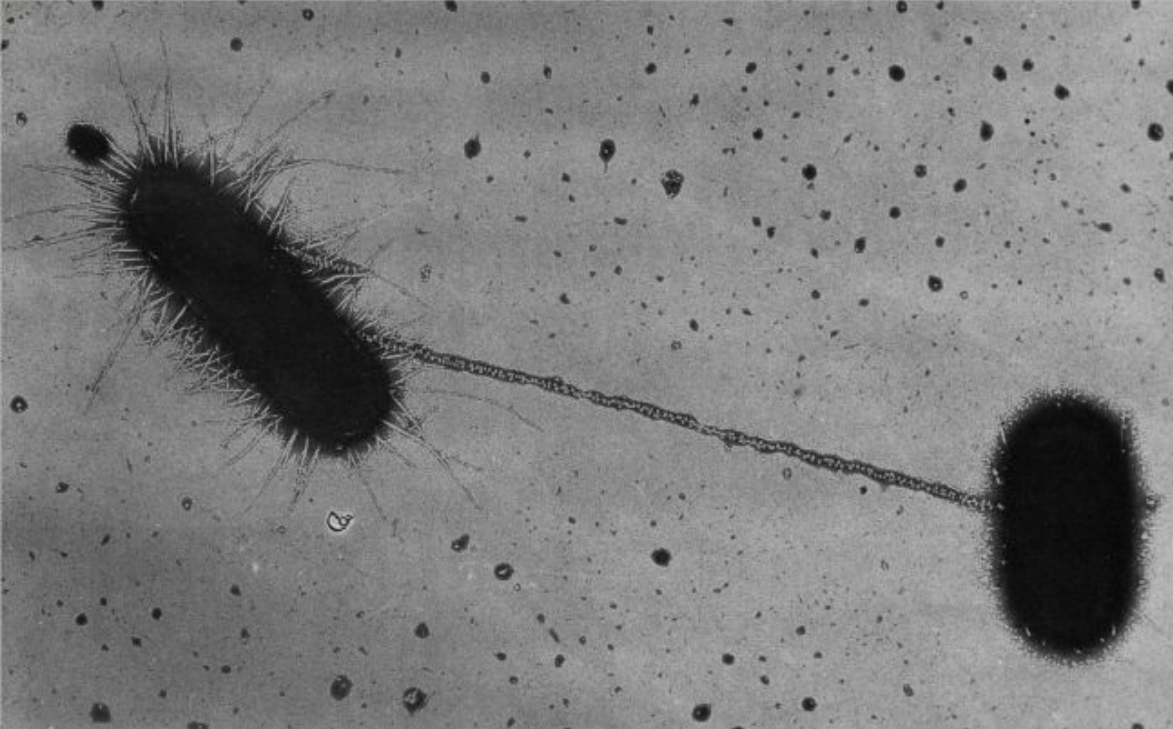
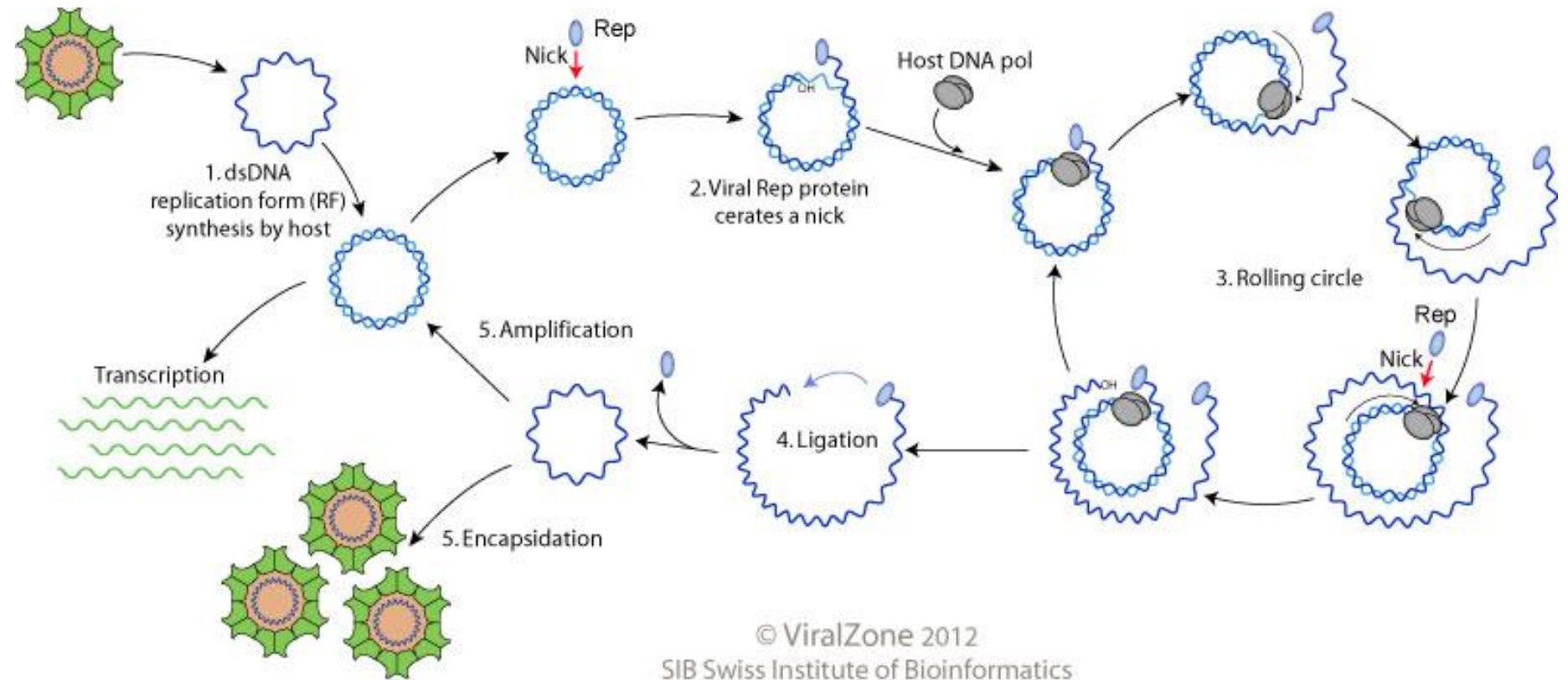


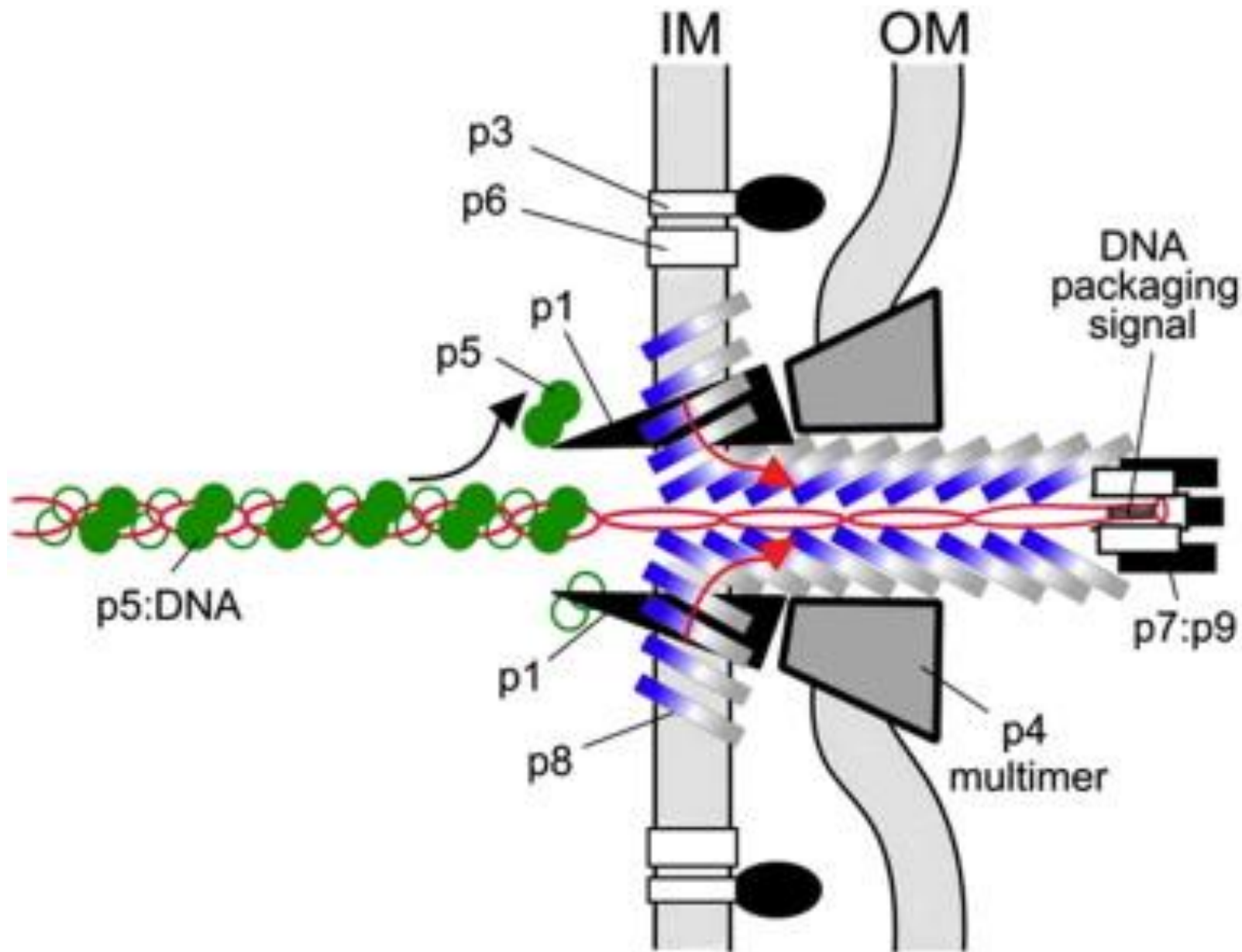
Figure 5-7
Introduction to Genetic Analysis, Tenth Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

Репликация бактериофага M13

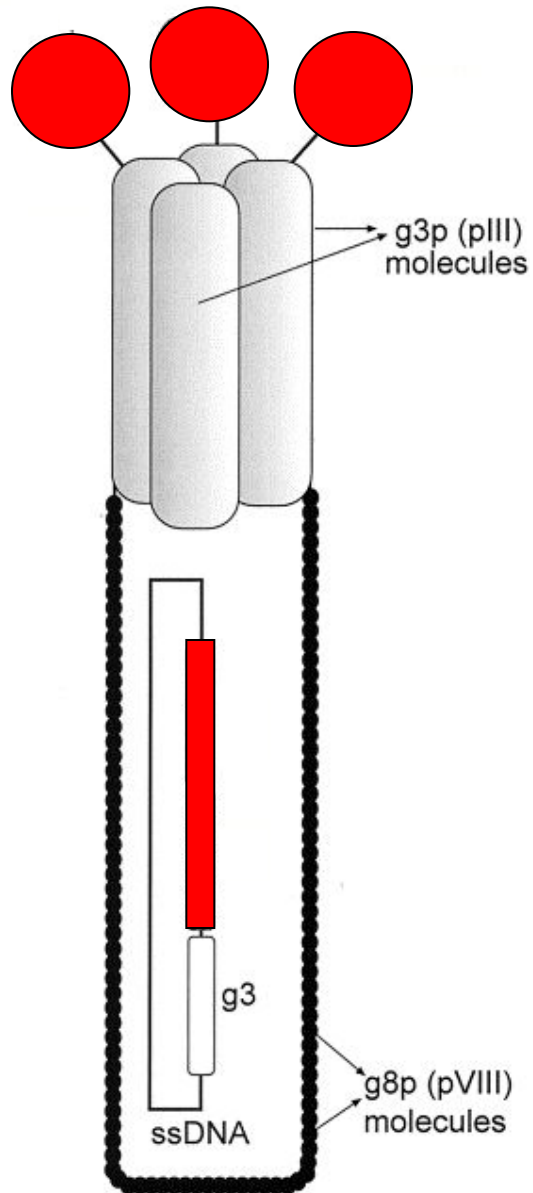


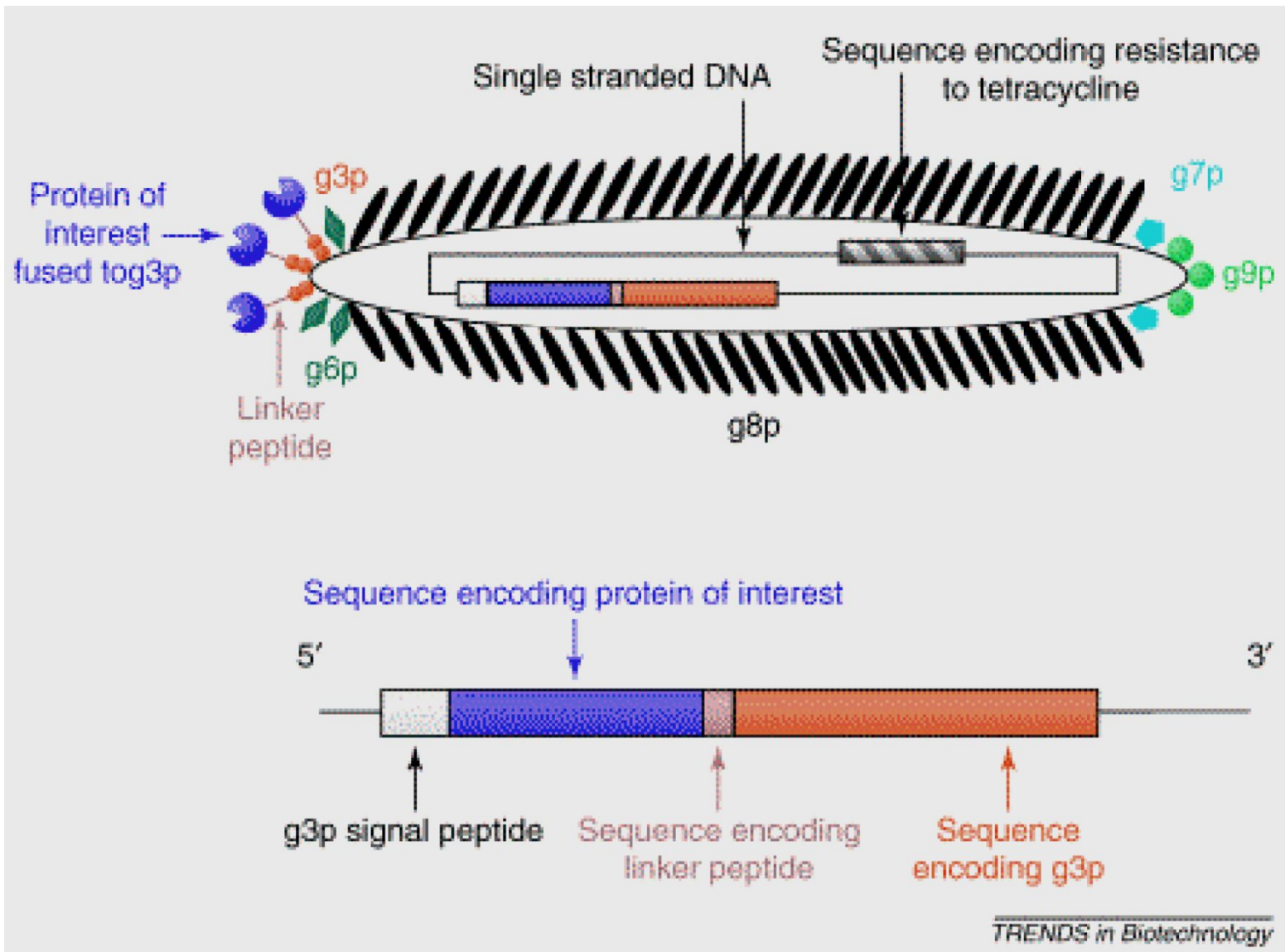
Клинический цикл бактериофага

Самосборка и секреция фаговых частиц

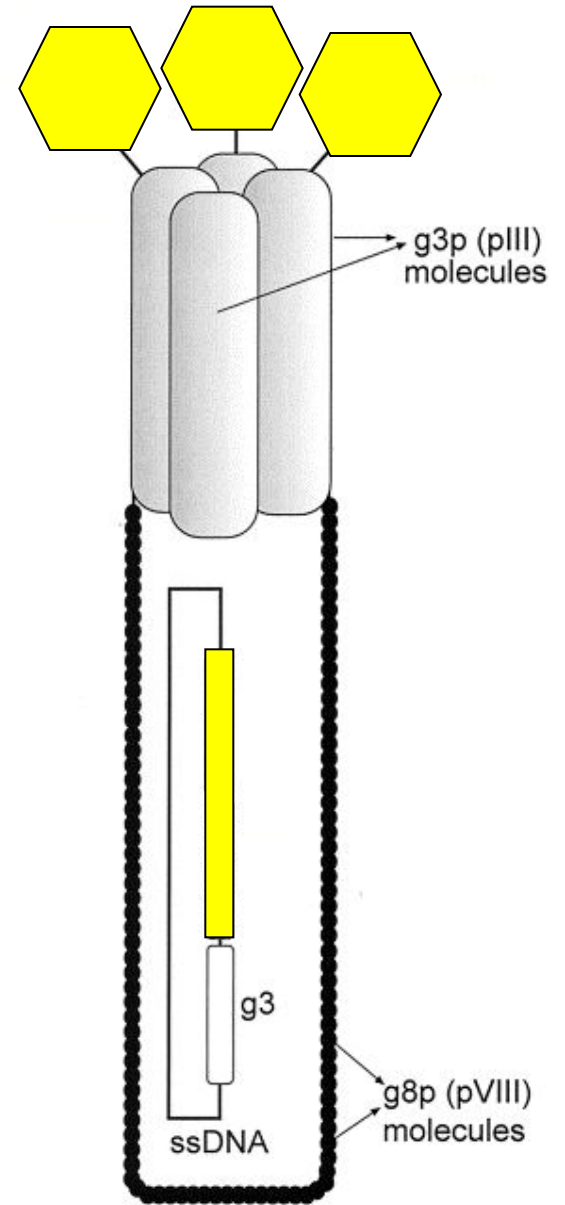
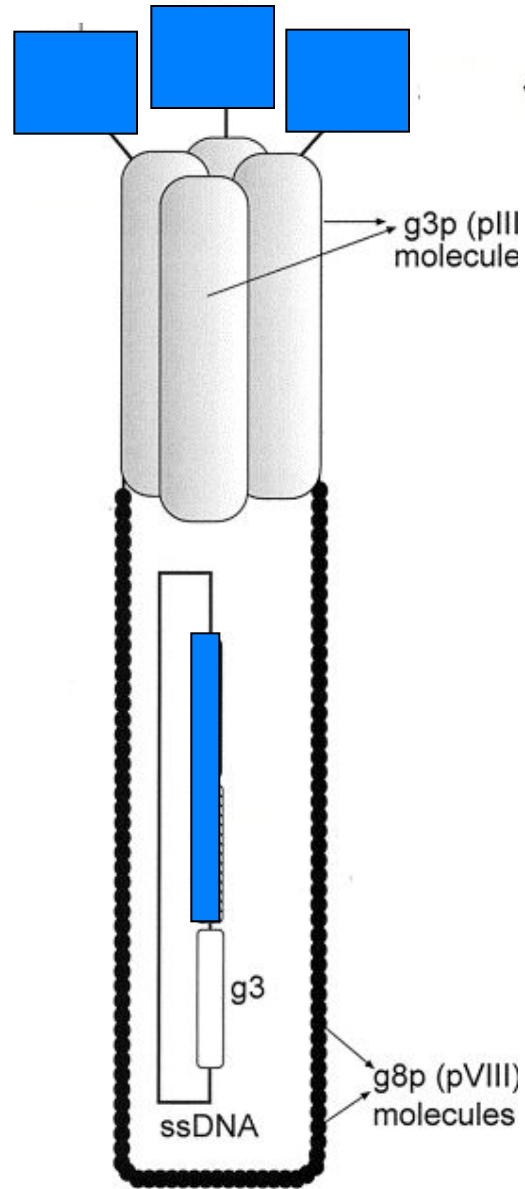
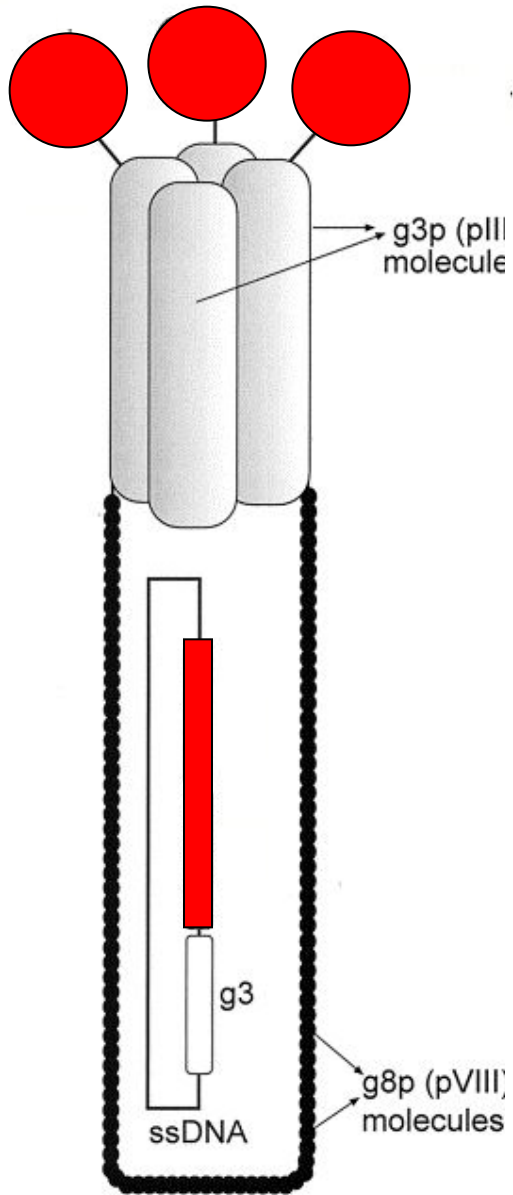


Фаговый дисплей

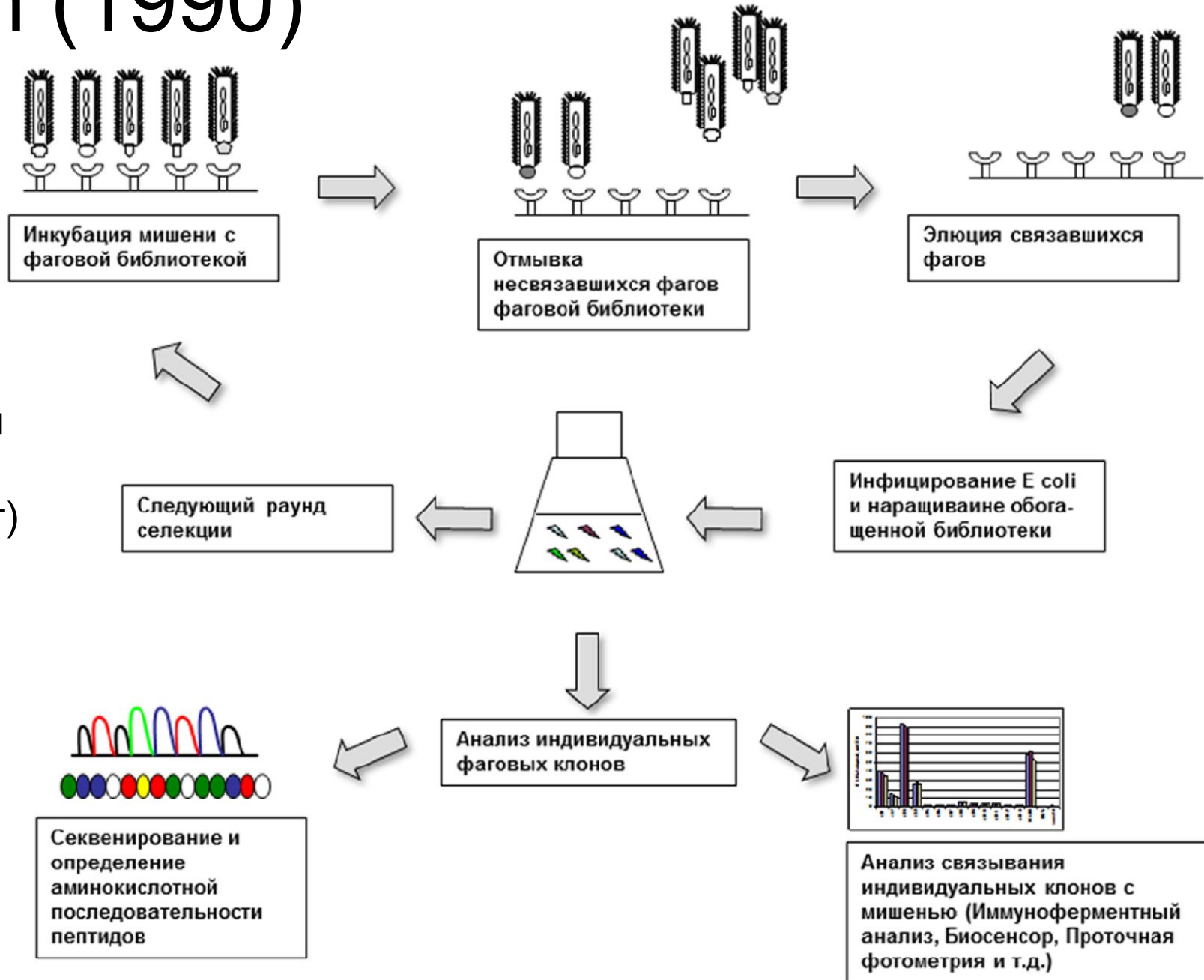




10^8 - 10^9 вариантов



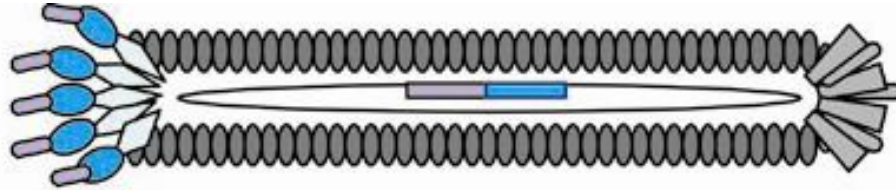
Smith (1990)



Аффинная
селекция
(биопэнинг)
фагов

Типы фаговых комбинаторных библиотек

3

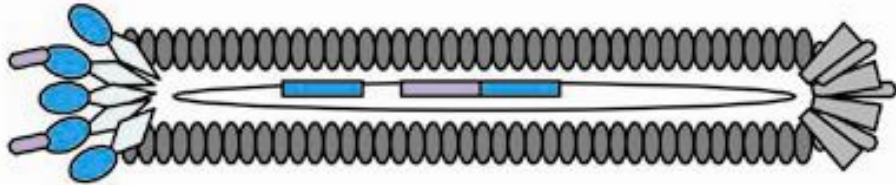


Основные типы пептидных библиотек различаются:

1) количеством копий рекомбинантного белка с экспонированным чужеродным белком по отношению к белку дикого типа на одну фаговую частицу

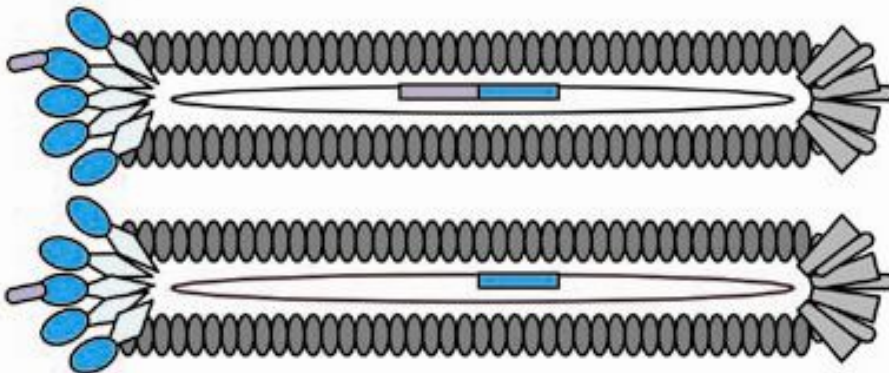
2) количеством векторных систем, обеспечивающих экспонирование.

33



3+3

фаг-помощник

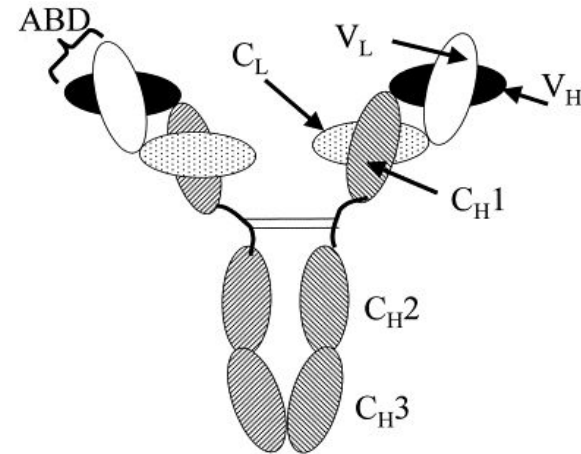
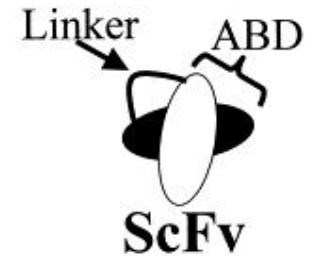
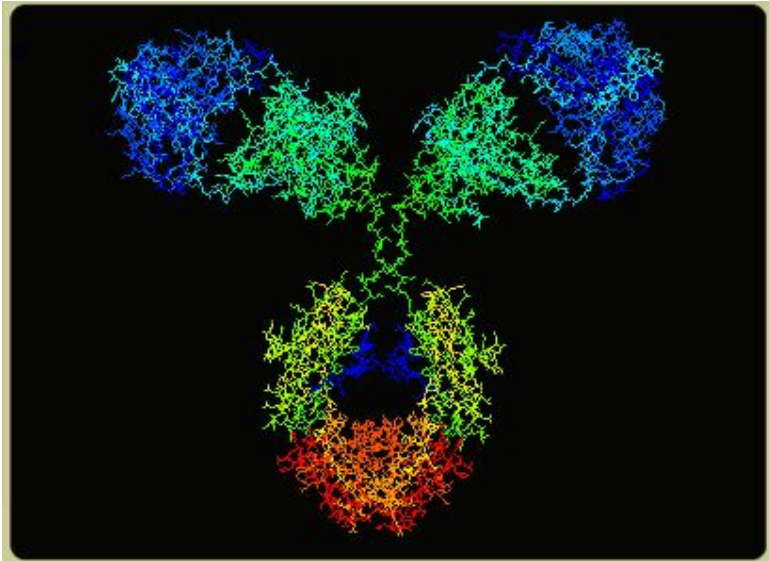


Что можно «демонстрировать»?

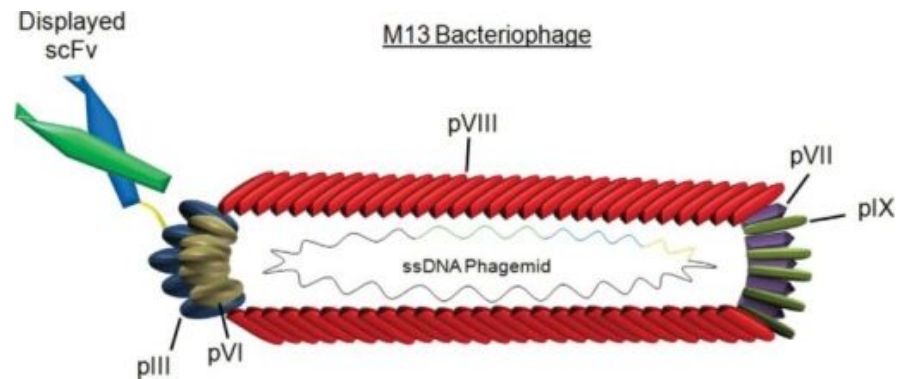


1. Пептиды со случайной последовательностью
5-20 аминокислотных остатков

2. Антитела



M13 Bacteriophage



3. Фрагменты