

Лекция 1

Методы биотехнологии

Лектор
доцент Юдина О.П.

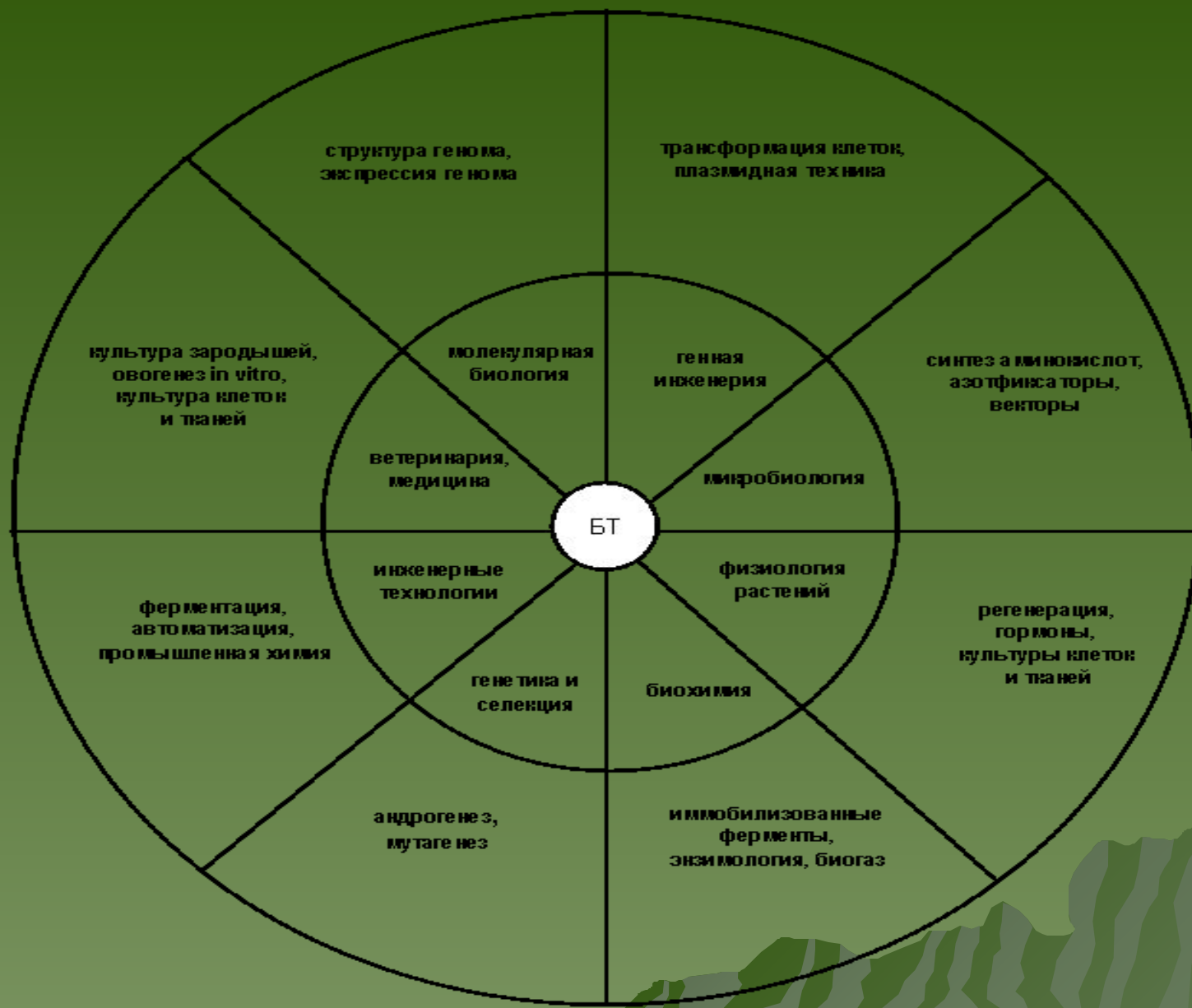
A stylized, dark green silhouette of a mountain range is positioned at the bottom right of the slide, extending from the right edge towards the center.

План

- ◆ 1. Биотехнология как наука. Основные этапы ее становления.
- ◆ 2. Методы биотехнологии.
- ◆ 3. Генная инженерия.

Связь биотехнологии с другими науками

(по В.И. Кефели, 1989)



Биотехнология

Классическая

Наука о методах и технологиях производства с использованием обычных (нетрансгенных) растений, животных, микроорганизмов в естественных условиях

Новейшая

Наука о генно-инженерных и клеточных методах и технологиях создания и использования генно-модифицированных растений, животных, микроорганизмов в целях интенсификации производства, а также получения новых видов продуктов различного направления

Джеймс Уотсон и Френсис Крик




Разделы биотехнологии

- ◆ **Клеточная инженерия** – метод конструирования клеток нового типа на основе их культивирования, гибридизации и реконструкции.
- Генетическая (генная) инженерия** – получение гибридных молекул ДНК и введении их в клетки бактерий, растений и животных.
- ◆ **Эмбриогенетическая инженерия** – активная перестройка генома животных путем вмешательства в их развитие на самых ранних стадиях онтогенеза.


В генетической инженерии и биотехнологии широко используются следующие *объекты* для экспериментов и практического применения:

- ◆ 1) Грамотрицательная бактерия кишечная палочка *E.coli*.
- 2) Грамотрицательные бактерии родов *Bacillus*, *Streptococcus* и *Streptomyces*.
- 3) Дрожжи (пекарские дрожжи) – сахаромицеты *Saccharomyces cerevisiae*.
- 4) Культивируемые клетки млекопитающих.
- 5) Вирусы животных (SV40, аденовирусы, герпеса, ретровирусы, поксвирусы, вирусы насекомых).
- 6) Трансгенные растения и животные.

Значение биотехнологии

- ◆ **Промышленность**
 - ◆ **Экология**
 - ◆ **Энергетика**
 - ◆ **Сельское хозяйство**
 - ◆ **Медицина**
- 
- A stylized, dark green silhouette of a mountain range is positioned in the bottom right corner of the slide, extending from the right edge towards the center.

Методы биотехнологии

- ◆ 1. Микробиологический синтез
 - ◆ 2. Биологический метод
 - ◆ 3. Генная (генетическая) инженерия
 - ◆ 4. Клеточная инженерия
 - ◆ 5. Метод получения гибридом
 - ◆ 6. Эмбриологический метод
- 

Генетическая (генная) инженерия

- ◆ По определению академика А.А. Баева, **генетическая (генная) инженерия** – это конструирование *in vitro* – функционально активных генетических структур, т.е. создание искусственных генетических программ.

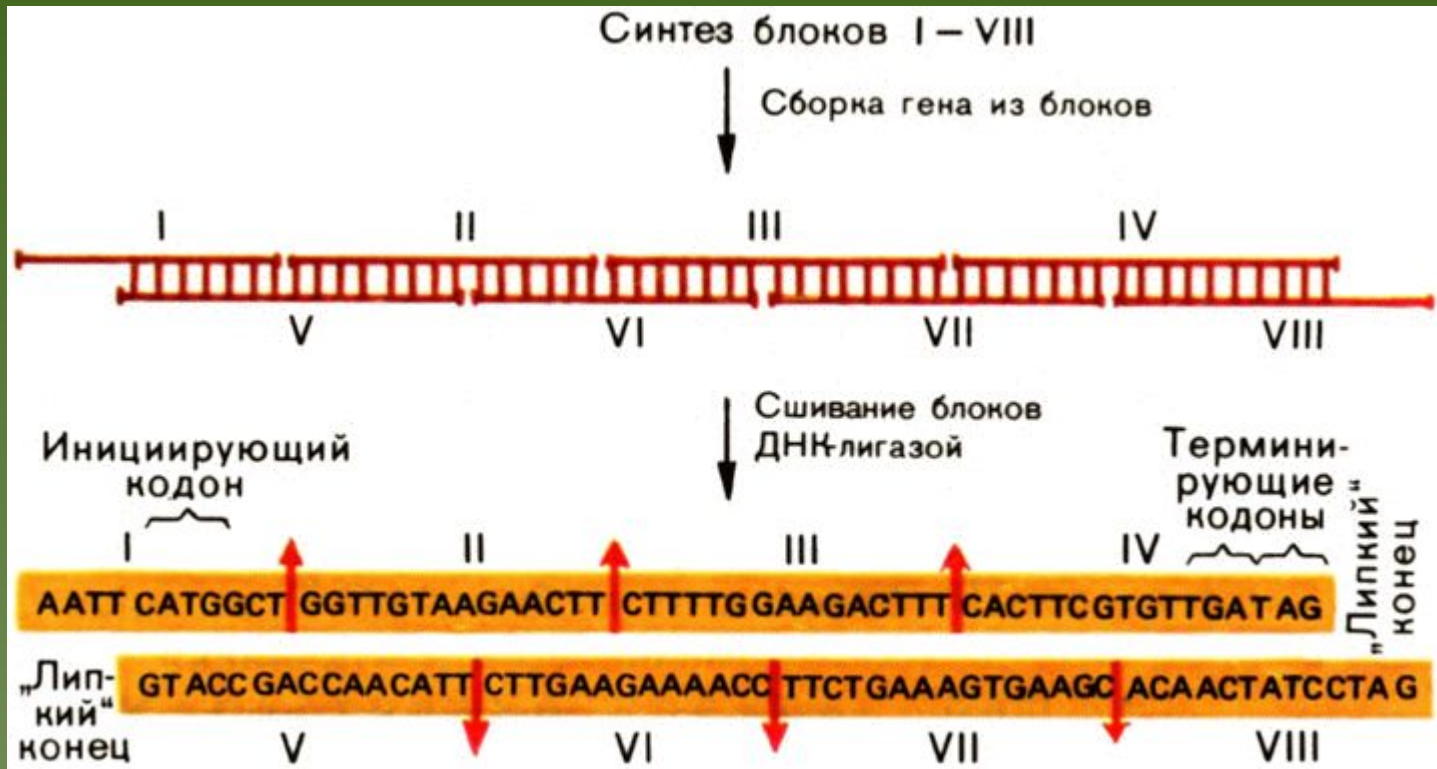
Отличие генной инженерии от классической селекции

Селекция	Генная инженерия
1. Нельзя скрещивать неродственные виды	Можно скрещивать индивидуальные гены видов, стоящих на разных ступенях эволюции, то есть происходит скрещивание гетерологичных ДНК
2. Нельзя извне управлять процессом рекомбинации в организме	Можно управлять процессом рекомбинации, так как он происходит <i>in vitro</i> , то есть «в пробирке» и не защищен запрещающими механизмами организма.
3. Нельзя точно угадать, какое получится потомство	Можно предсказать результат, так как отбирается потомство одной молекулы ДНК (молекулярное клонирование)

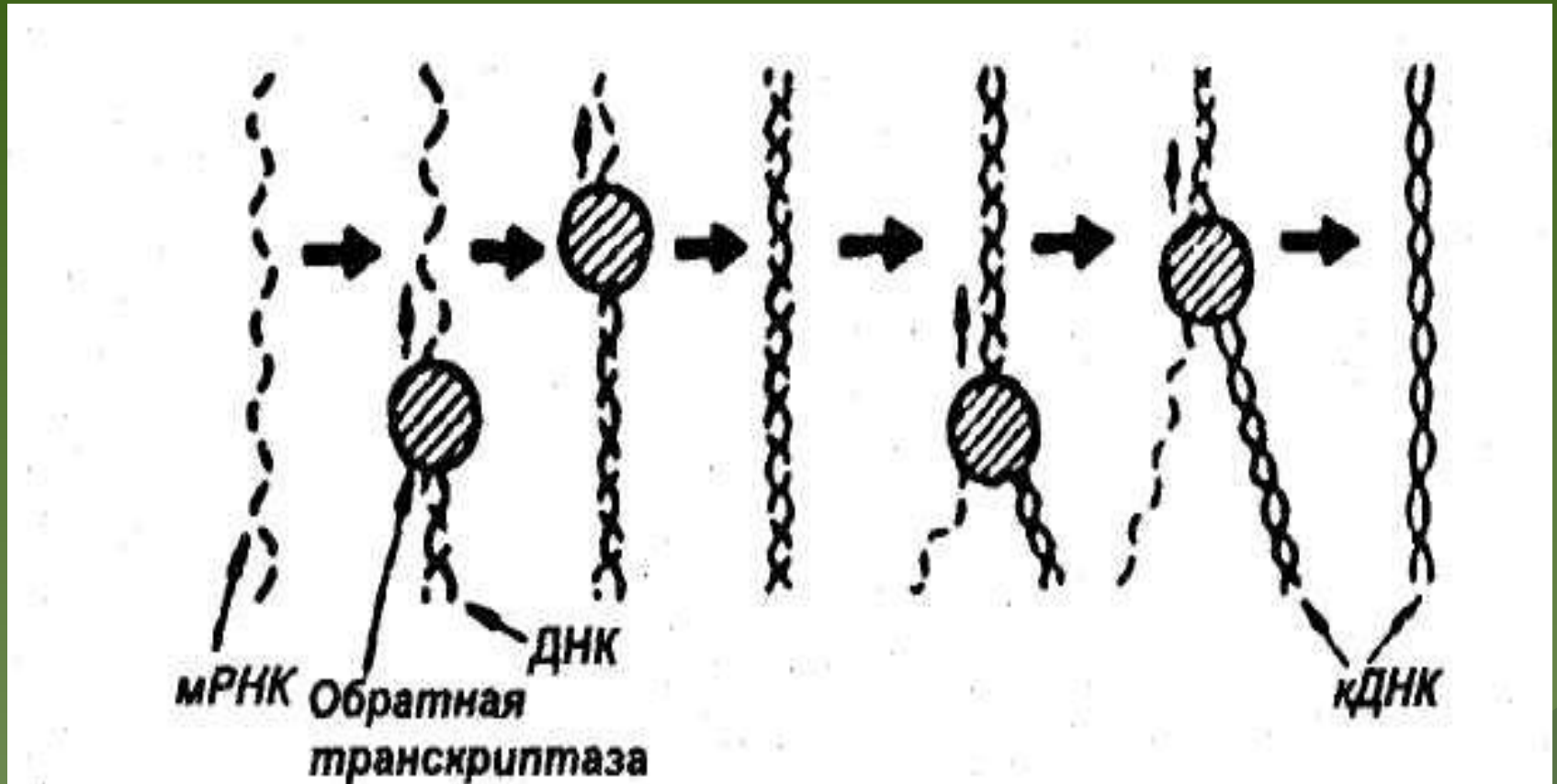
Генная инженерия включает ряд сложных приемов:

- ◆ **1). Получение генов путем их синтеза или выделения из клеток;**
- ◆ **2). Получение рекомбинантных молекул ДНК – т.е. включение гена в вектор, обеспечивающий его размножение в реципиенте;**
- ◆ **3). Трансгеноз – перенос гена с помощью вектора в клетку реципиента, а при необходимости, включение ее в геном реципиента;**
- ◆ **4). Функционирование гена в клетке – реципиенте и синтез чужеродного белка.**

Химический синтез гена



Ферментативный синтез гена



Секвенирование — это определение нуклеотидной последовательности сегментов ДНК длиной 350-1000 и более нуклеотидных пар, образующихся при расщеплении ДНК рестрикционными эндонуклеазами.

- ◆ Разработано два метода секвенирования – **химический и ферментативный сиквенс.**

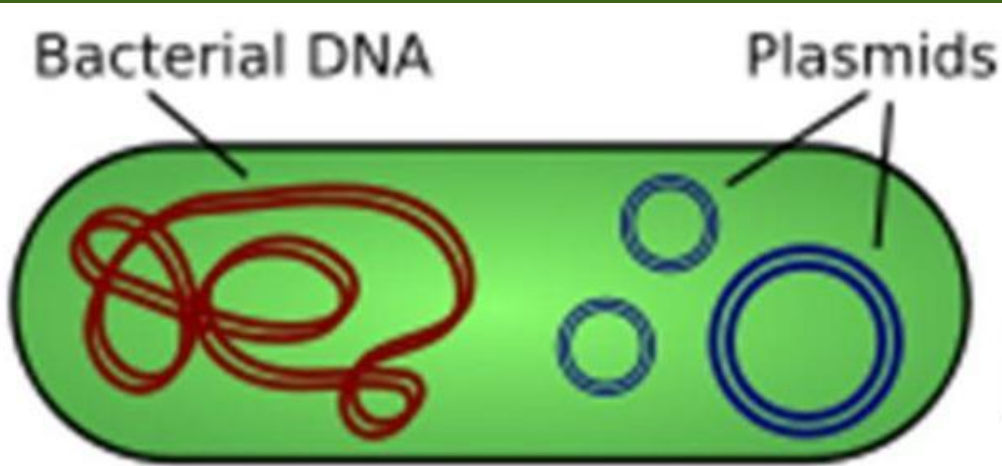
Конструирование рекомбинантных ДНК. Геномные библиотеки.

- ◆ **Рекомбинантная ДНК** – это искусственно полученная молекула ДНК, она имеет форму кольца, включает ген (гены) как объект конкретных генетических манипуляций, и так называемый *вектор* (напр., плаزمида), обеспечивающий размножение рекомбинантной ДНК и синтез в клетке хозяина определённого продукта, кодируемого внесённым геном.

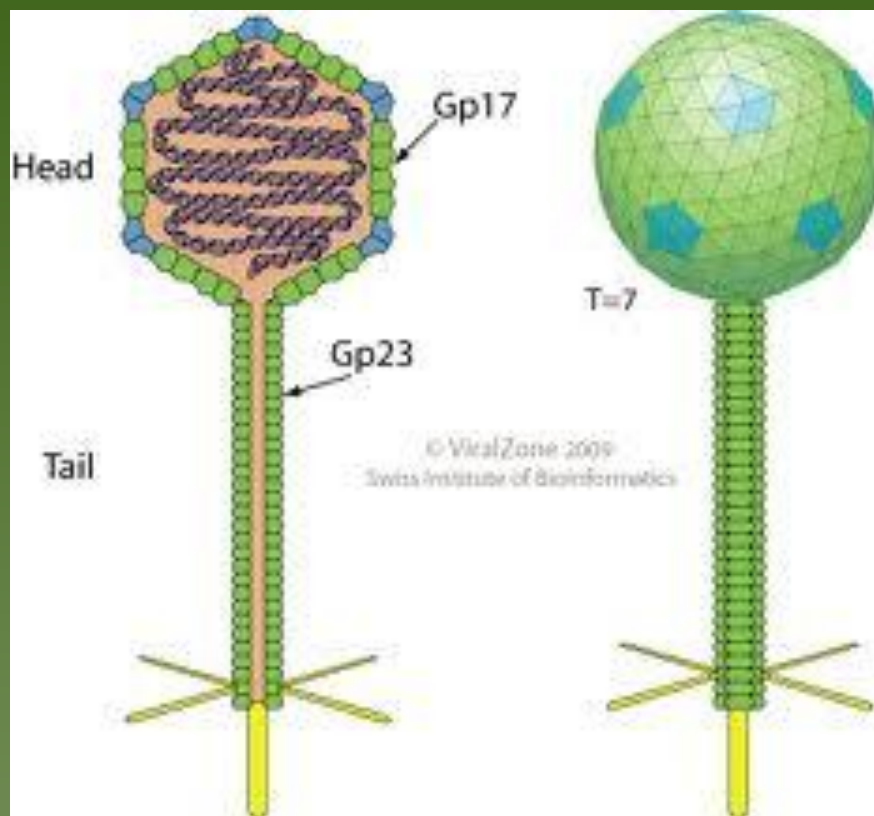
Векторы – это молекулы ДНК, способные акцептировать чужеродную ДНК и обеспечивать ее репликацию, экспрессию, считывание и/или трансформацию.

В качестве векторов используют: плазмиды, бактериофаги, мобильные элементы, вирусы животных, искусственные бактериальные и дрожжевые хромосомы ВАС и YАС.

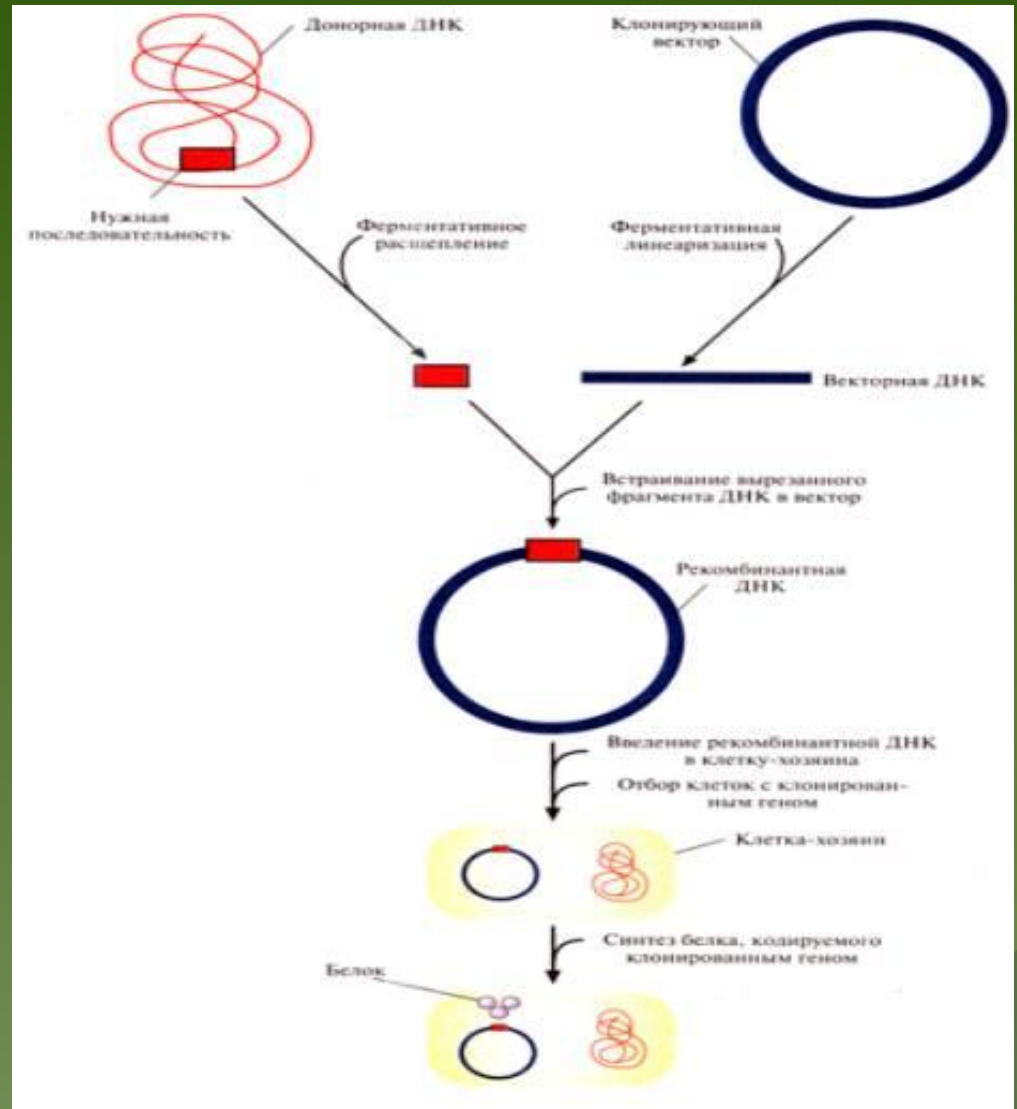
Бактериальные плазмиды в качестве векторов для клонирования



Фаговые векторы. Бактериофаг λ



Космиды – это специальные векторы с большой емкостью, представляющие собой гибридную молекулу, содержащую специальный участок генома фага λ и специальные последовательности, позволяющие им реплицироваться по плазмидному типу.



ВАС-векторы:

получены на основе F-плазмид бактерий, содержат гены, ответственные за репликацию плазмид в бактериях. Ёмкость их огромная (100-300 т.н.п.) при небольшом собственном размере (~ 7 т.н.п.).

УАС-векторы:

это искусственные дрожжевые минихромосомы, содержащие центромеру, теломеры и точки начала репликации. В такой вектор можно встроить фрагменты ДНК размером более 100 т.н.п.