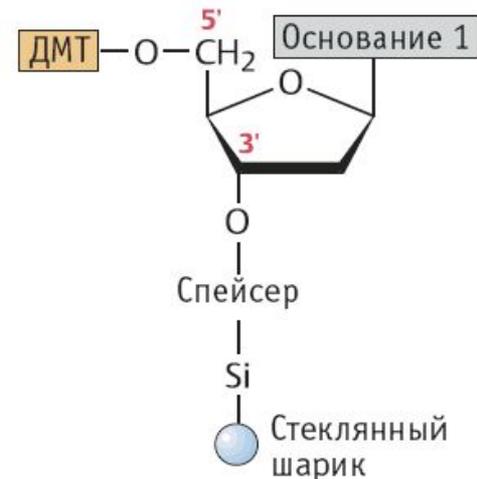
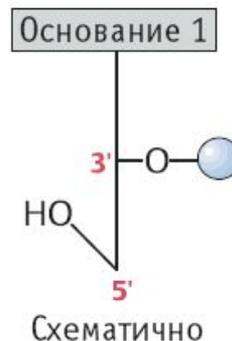
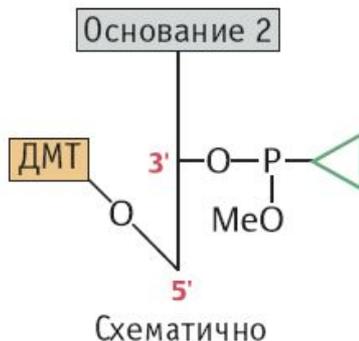
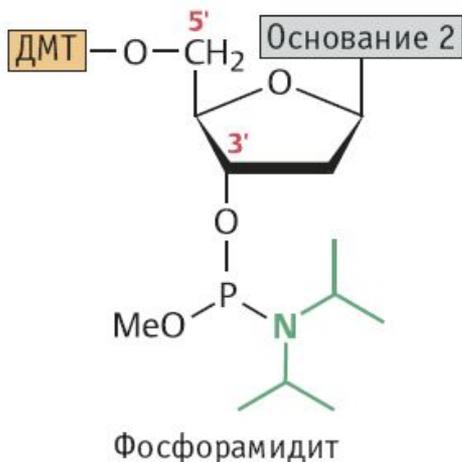


Фосфорамидный метод.

Твердофазный синтез ДНК



DMT = диметокситриил
 Основания: аденин, тимин, гуанин, цитозин

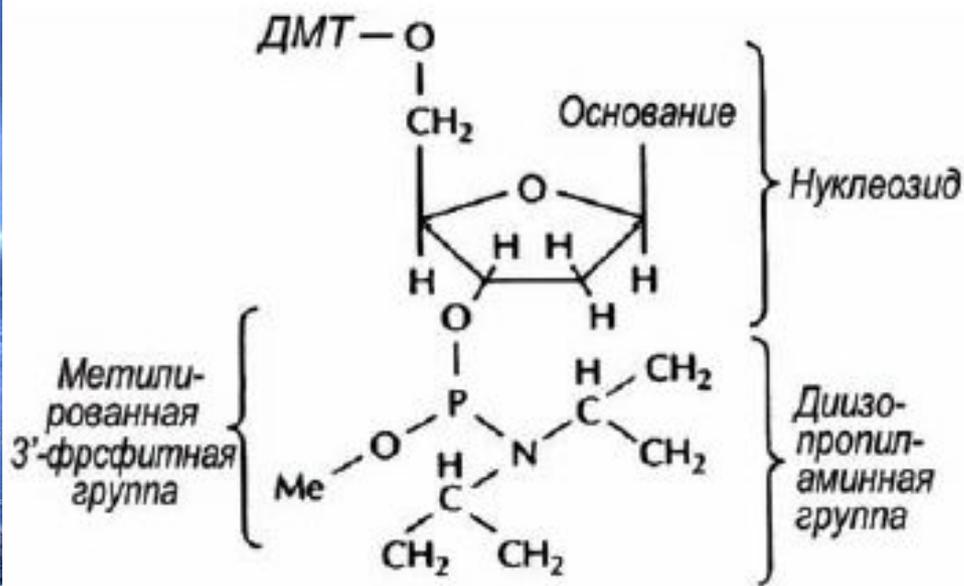
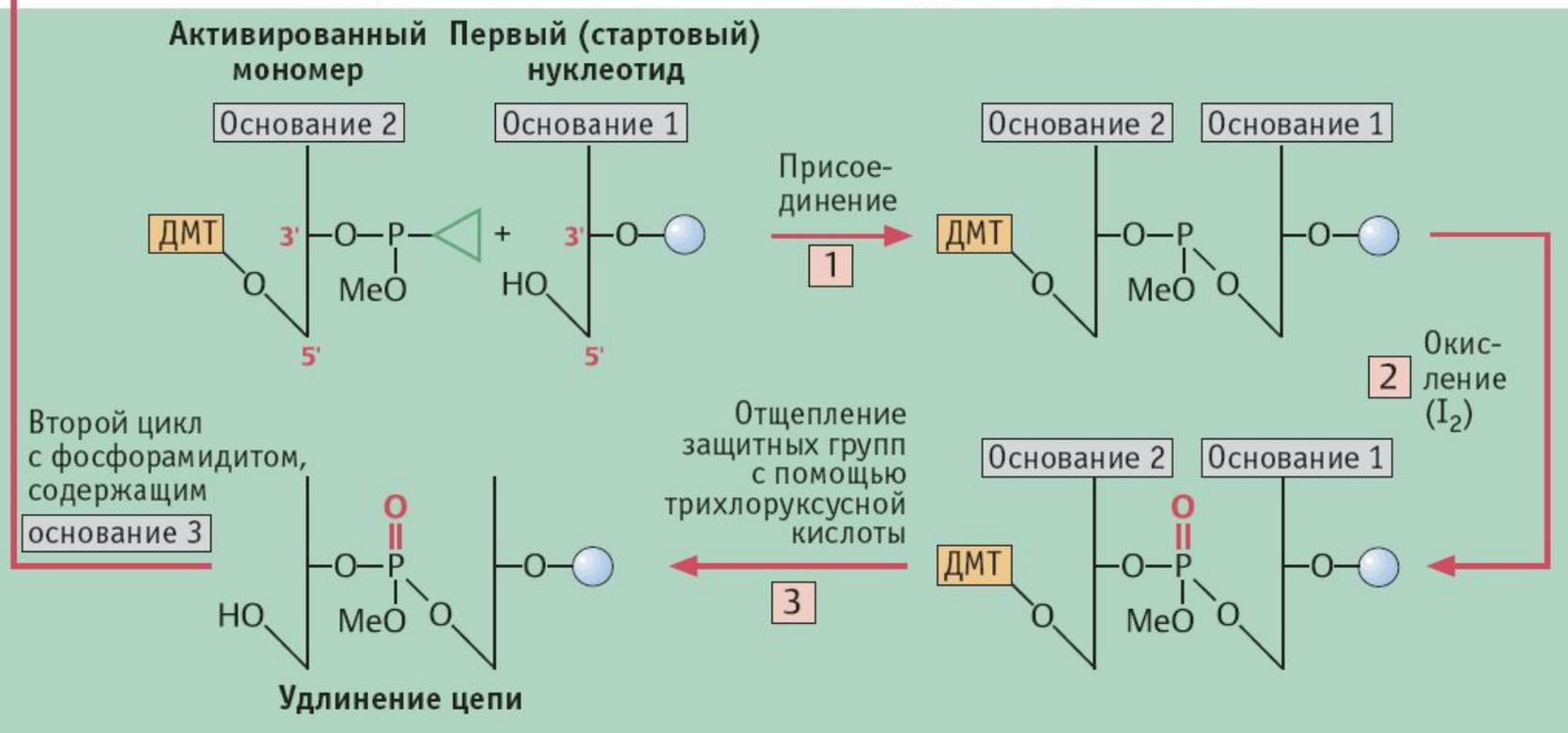


Рис. 30 – Схема структуры фосфорамидита

Фосфорамидный метод.

20 или более циклов, затем отсоединение от носителя



Установление размеров ДНК.

— Определение молекулярной массы ДНК методом гель-электрофореза



Пробу ДНК помещают в лунку

Гель* Буфер

↓
Электрофорез

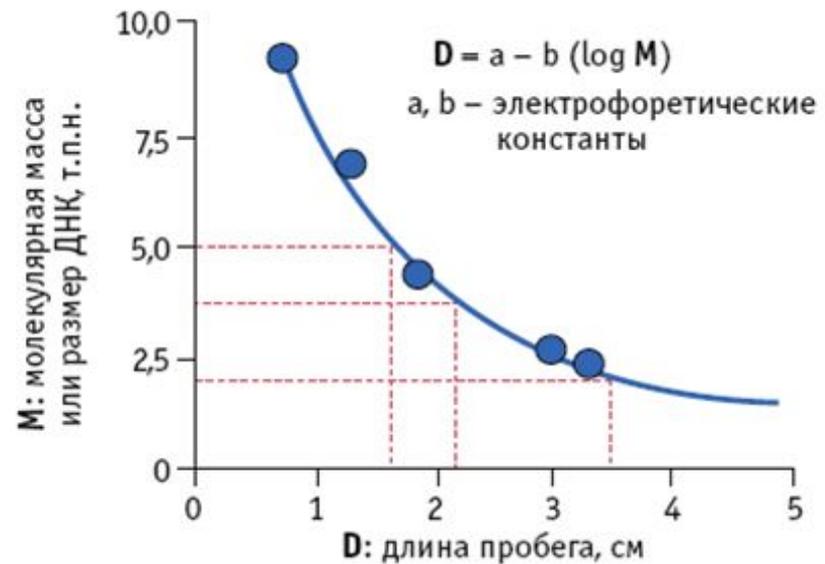
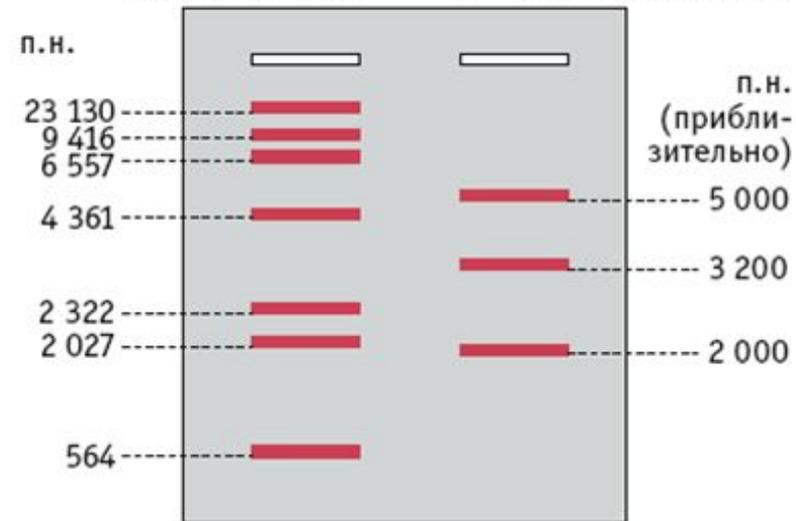


↑ ↑
Фрагменты ДНК одинаковой длины образуют зоны в геле

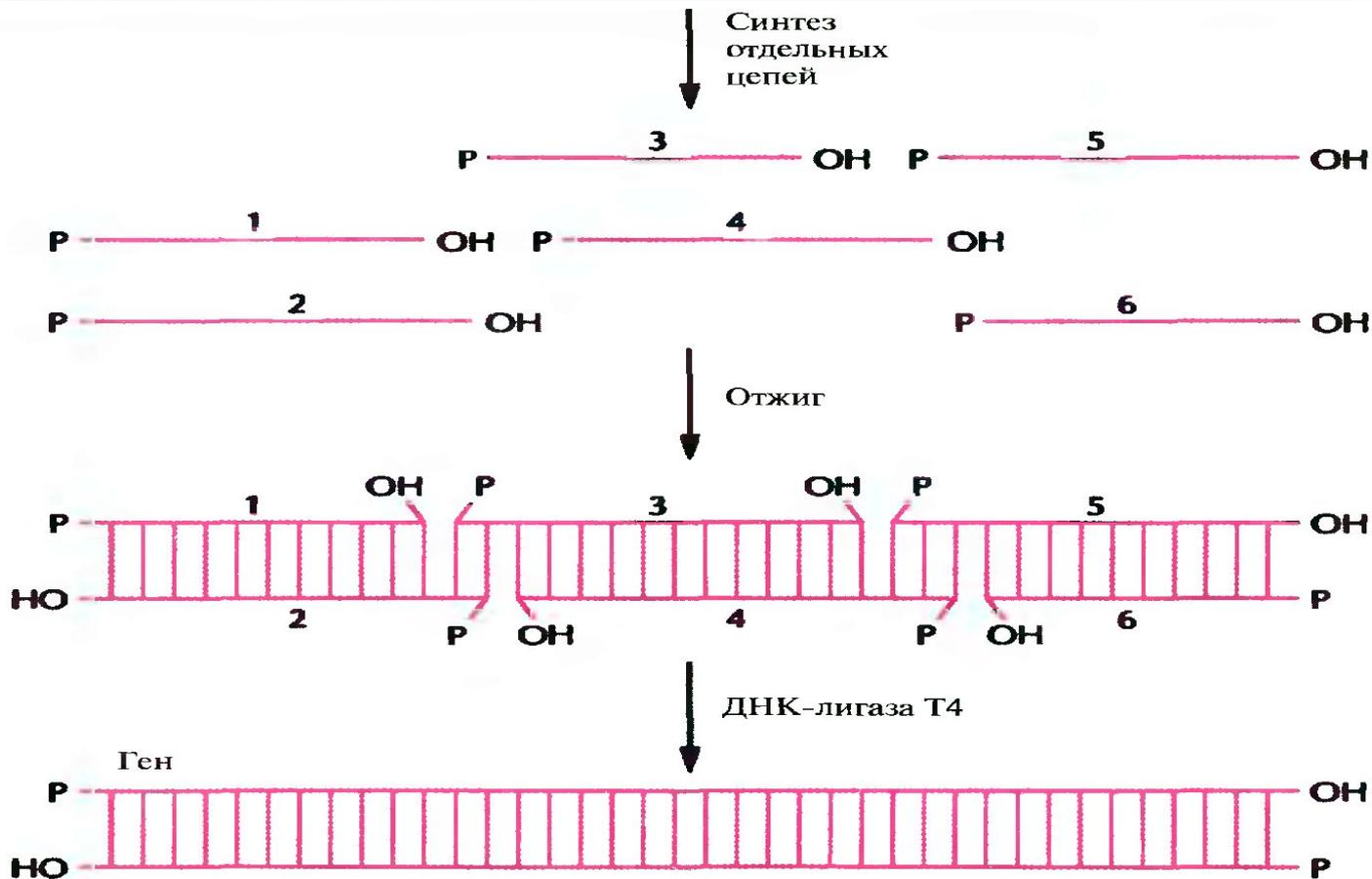
* Гель состоит из агарозы или полиакриламида. Для окрашивания ДНК к пробе добавляется бромистый этидий

Маркерная ДНК

Проба исследуемой ДНК



Синтез генов.

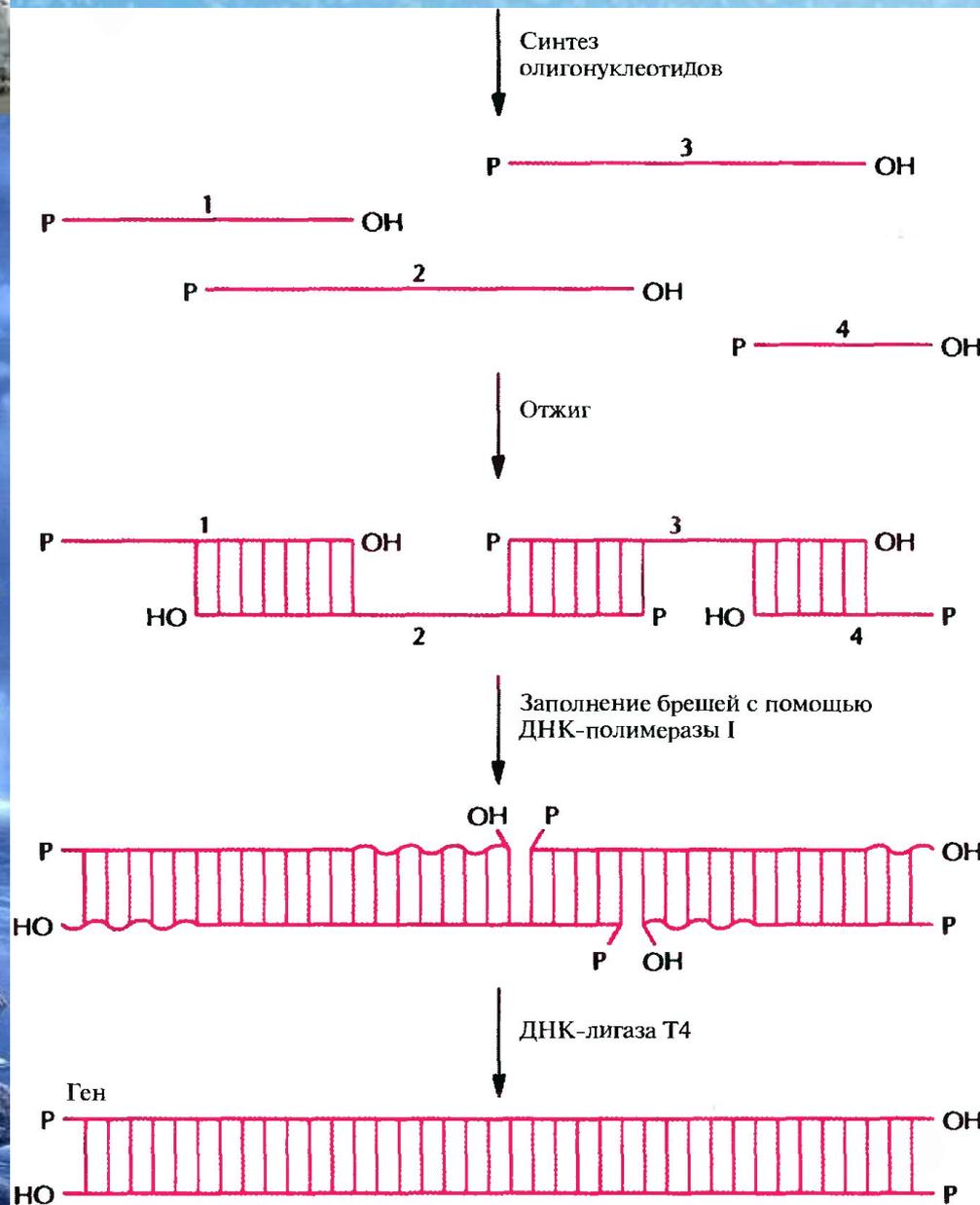


Сборка синтетического гена из коротких олигонуклеотидов.

Синтезируются отдельные олигонуклеотиды длиной от 20 до 60 звеньев каждый с такими нуклеотидными последовательностями, чтобы при отжиге из них образовалась двухцепочечная молекула. Оставшиеся одноцепочечные разрывы сшиваются с помощью ДНК лигазы T4



Синтез генов



Сборка протяжённого гена *in vitro* с участием ферментов. Вначале химическими методами синтезируют отдельные олигонуклеотиды с такими нуклеотидными последовательностями, чтобы при отжиге между ними образовались спаренные участки длиной 6 – 10 пар нуклеотидов. Оставшиеся между ними бреши заполняют с помощью ДНК-полимеразы I *E. coli*, а одноцепочечные разрывы сшивают ДНК лигазой T4.

