

Методы генной инженерии

Генетическая инженерия и ее применение

Основная технология генетической инженерии

Ферменты в генной инженерии

Векторы, используемые для клонирования ДНК

Гены и их получение

Транскрипция

Трансляция

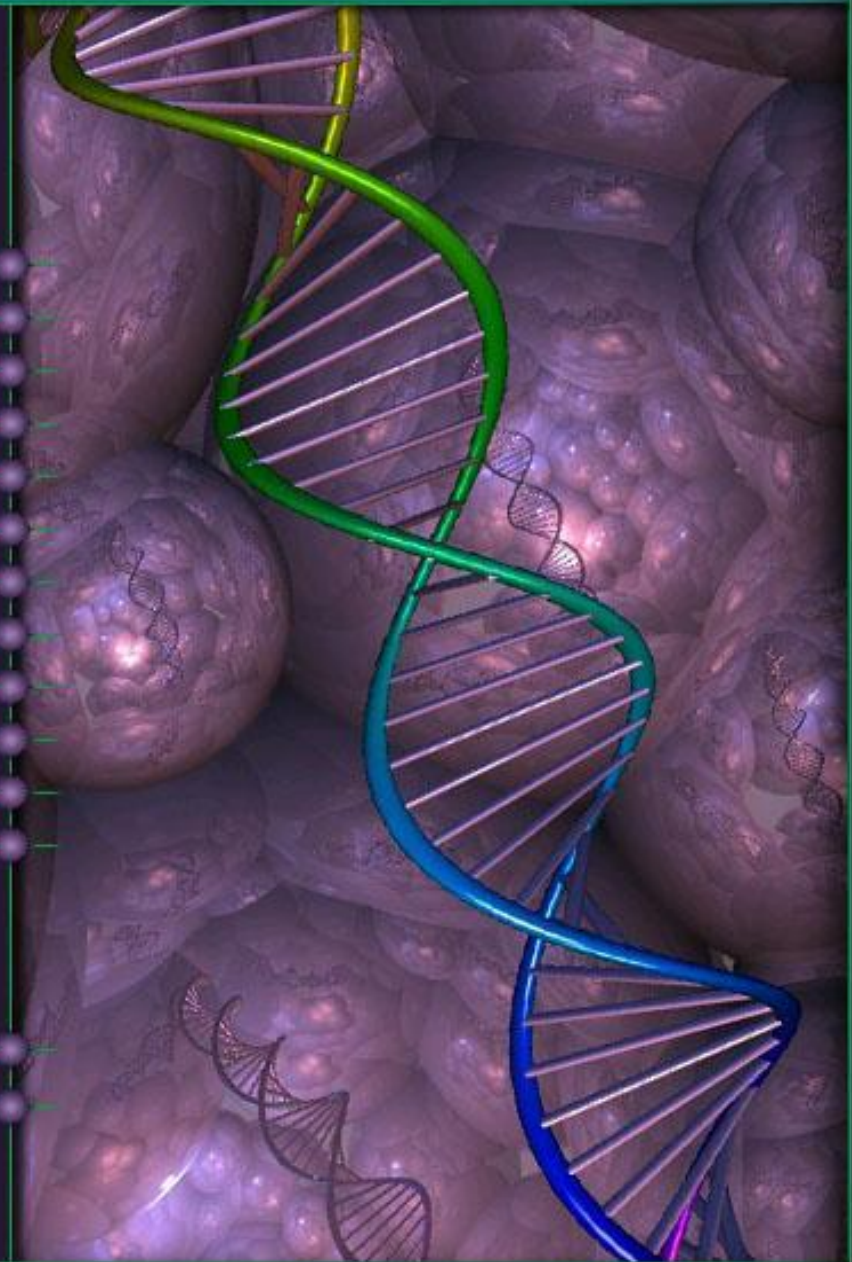
Введение генов в бактерии и их экспрессия

Экспрессия генов в дрожжах

Методы получения трансгенных животных

Клонирование овцы методом переноса ядра

Трансгенные растения



Генетическая инженерия и ее применение

Генетическая (генная) инженерия является наиболее интенсивно развивающейся областью биотехнологии. Она основана на молекулярно-биологических, иммунохимических и биохимических методах, позволяющих путем операций в пробирке (*in vitro*) переносить генетическую информацию из одного организма в другой, придавая ему новые уникальные свойства.

Генетическая инженерия находит широкое практическое применение в различных отраслях народного хозяйства.



Сельское хозяйство – внедрение биологических методов защиты растений



Микробиологическая промышленность – производство интенсивных штаммов микроорганизмов



Фармакологическая промышленность – расширение спектра лекарственных средств

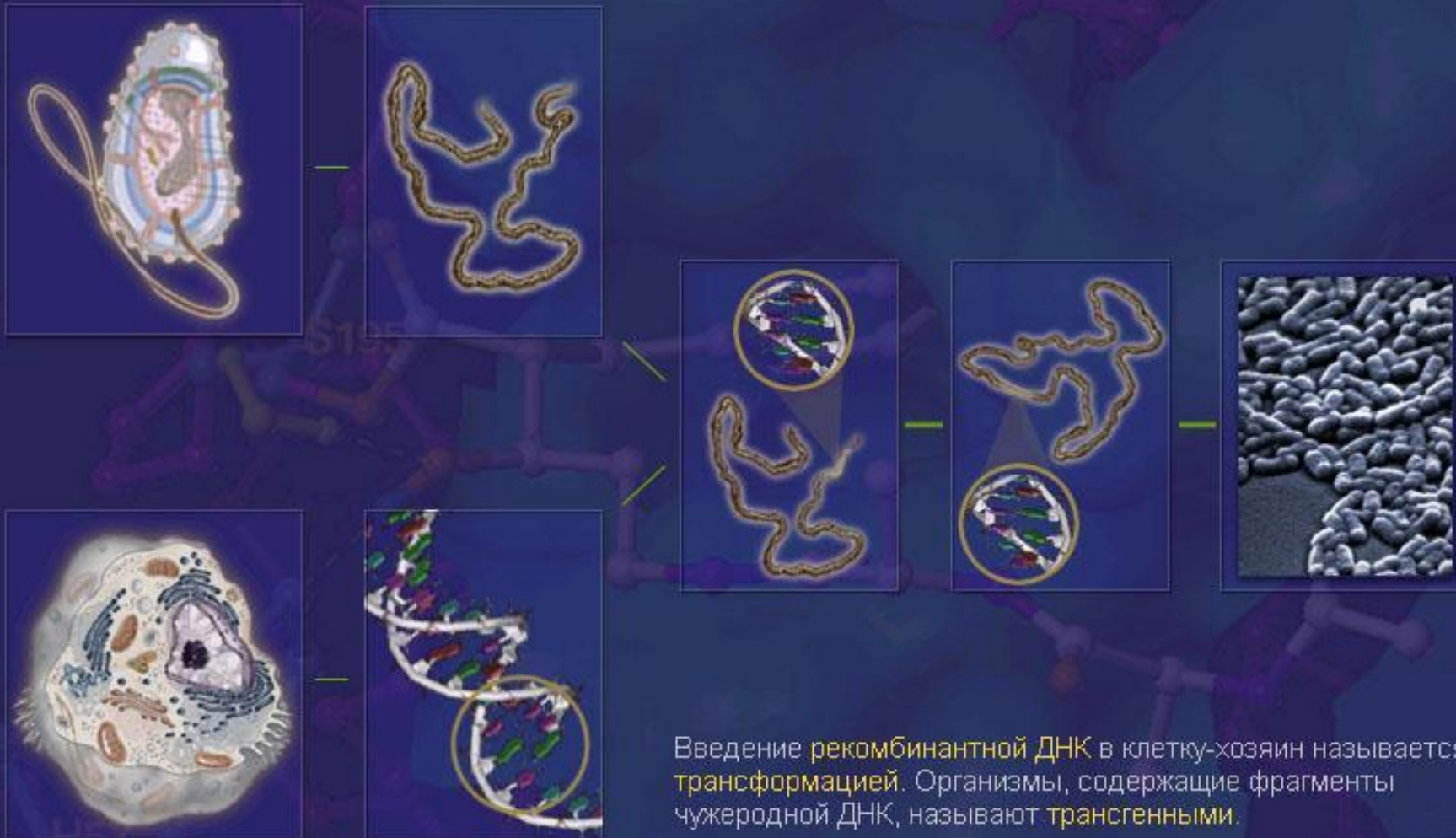


Пищевая промышленность – производство новых, высокоактивных ферментных препаратов

Основная технология генетической инженерии

В основе генетической инженерии лежит технология получения **рекомбинантной ДНК**. Эта технология включает ряд последовательных экспериментальных процедур, в ходе которых осуществляется перенос **ДНК** (дезоксирибонуклеиновой кислоты) одного организма в другой.

Технология получения **рекомбинантной молекулы ДНК**

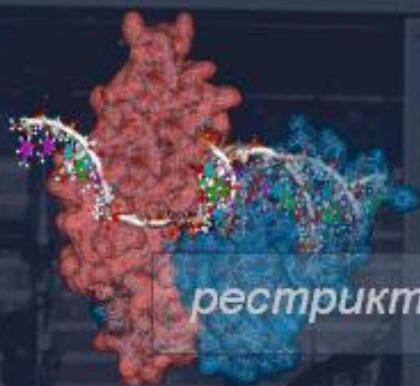


Введение **рекомбинантной ДНК** в клетку-хозяин называется **трансформацией**. Организмы, содержащие фрагменты чужеродной ДНК, называют **трансгенными**.

Ферменты в генной инженерии

Важная роль в проведении генно-инженерных работ принадлежит ферментам, участвующим в формировании рекомбинантных ДНК.

Ферменты



рестриктазы

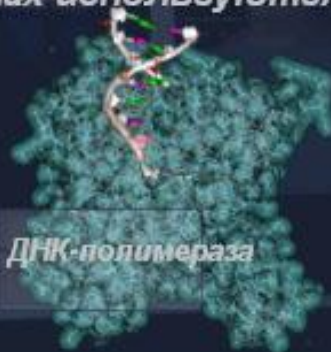


ДНК-лигазы

Помимо **рестриктаз** и **ДНК-лигаз** в генно-инженерных работах используются и другие **ферменты**:



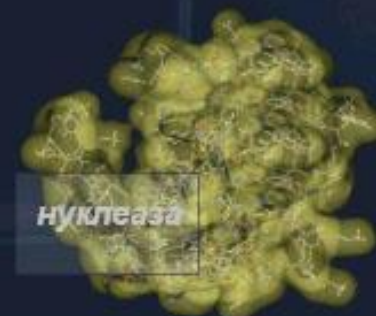
Ревертаза



ДНК-полимераза



терминальная
трансфераза



нуклеаза

Векторы, используемые для клонирования ДНК

Объединение разных **генов** в молекуле **ДНК** бесполезно, если вновь образованные **рекомбинантные ДНК** не будут **реплицироваться** в клетке-хозяине. Таким образом, если одна часть рекомбинантной молекулы ДНК несет нужный ген, который предполагается **клонировать**, то другая должна содержать информацию, необходимую для репликации в клетке рекомбинантной ДНК. Чтобы решить эту проблему, используют клонирующие **векторы** («вектор» от латинского vector – переносчик).

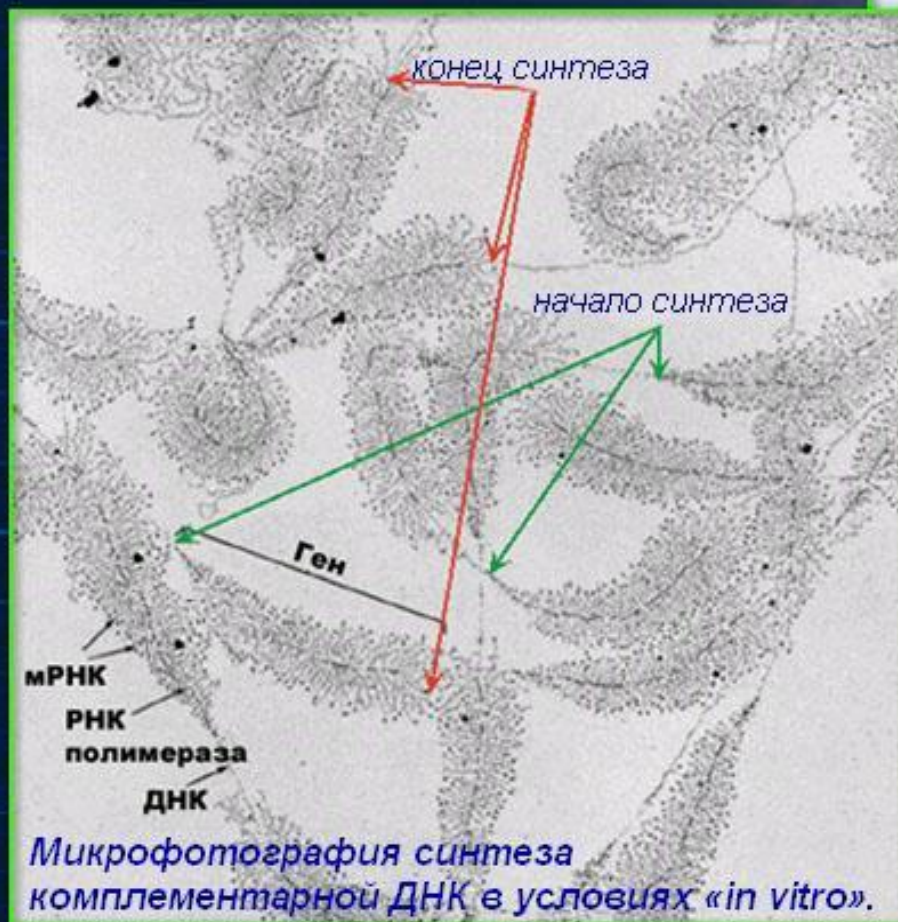
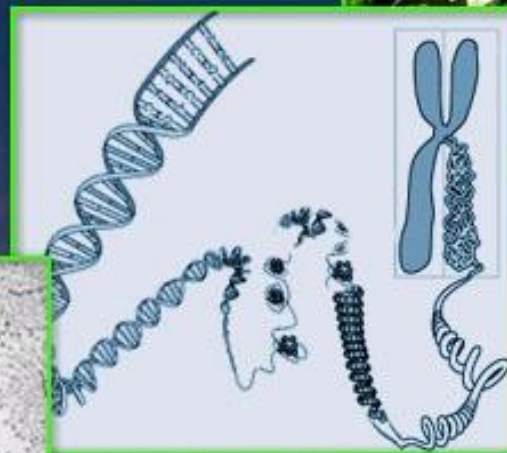
Клонирующие векторы должны иметь малый размер, хорошую проникаемость в **клеточной мембране**, способность размножаться в клетке **реципиента**, а также иметь такую область в молекуле **ДНК**, в которую можно встроить фрагмент чужеродной молекулы ДНК.

Плазмиды – небольшие внехромосомные кольцевые молекулы **ДНК**. Часто в плазмидах содержатся **гены** деградации ксенобиотиков, устойчивости к **антибиотикам**. У растений часто применяется **T1-плазида** *Agrobacterium tumefaciens*.



Гены и их получение

Основной единицей наследственности любого организма являются **гены**. Они представляют собой участки молекулы **ДНК**, расположенной в **хромосоме**.

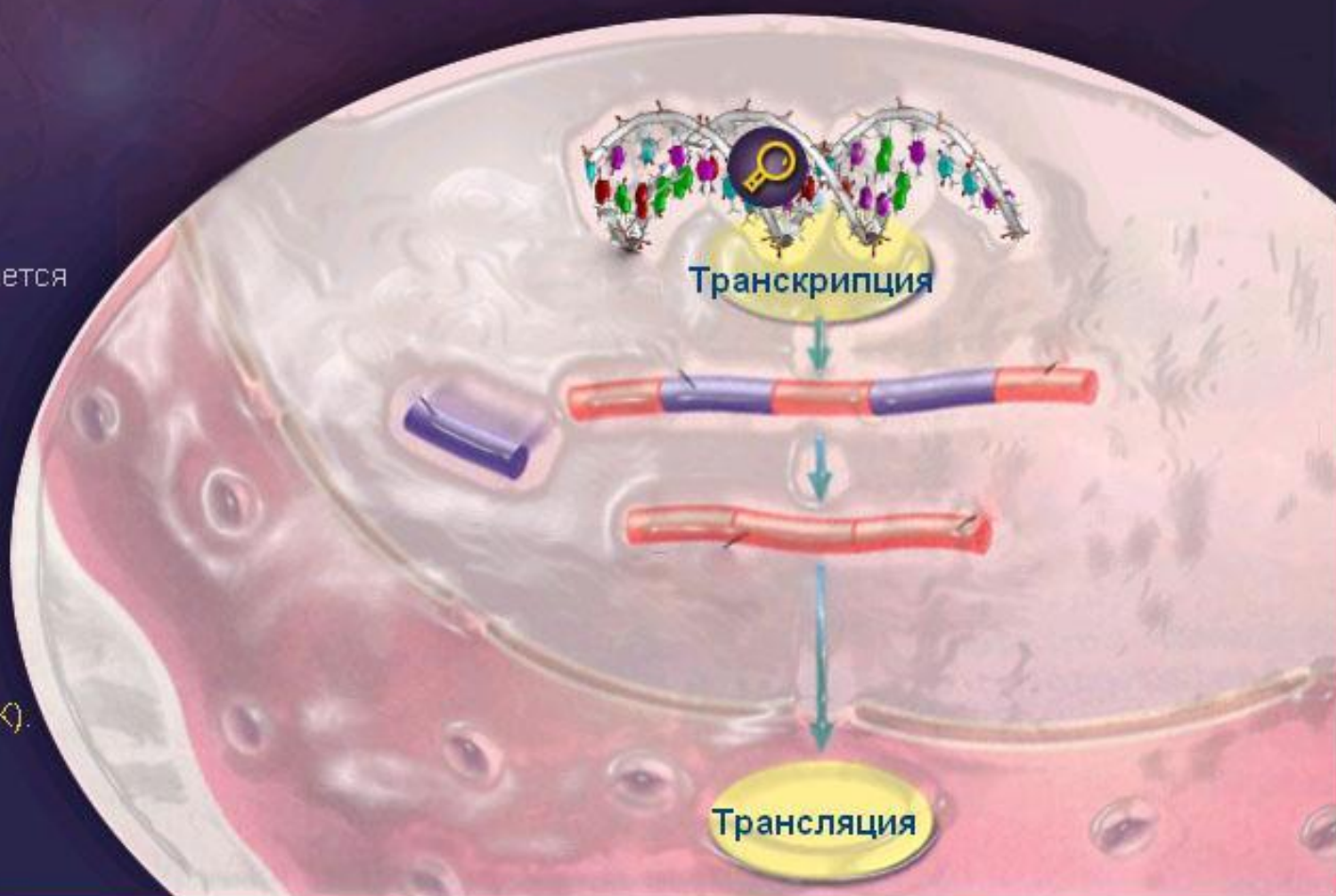


В простейшем случае один **ген** содержит информацию о структуре одного **белка**, в более сложном – о нескольких белках. Информация о генах, их положении в **геноме** и методах получения важна для генетической инженерии.

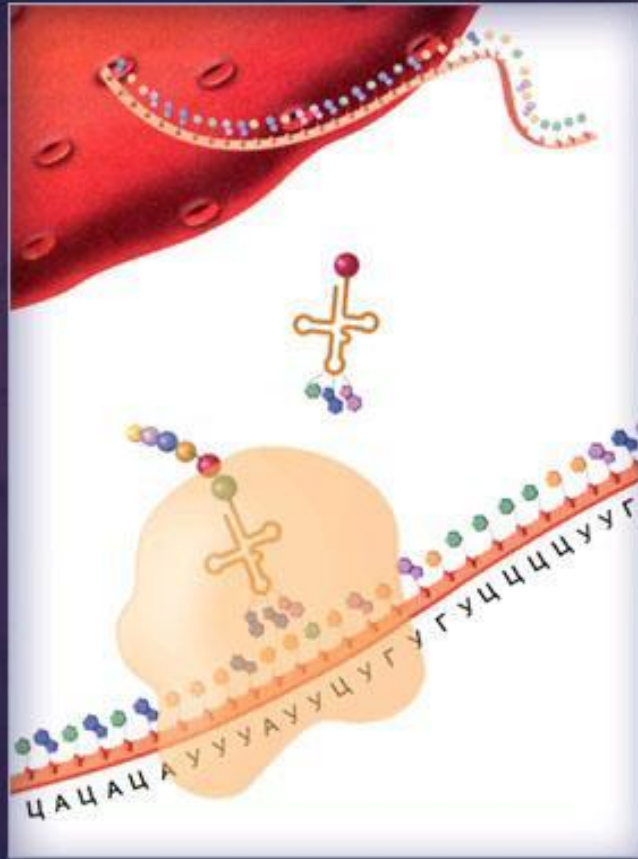
Транскрипция

Информация в **генах**, кодирующих **белки** (**структурных генах**), расшифровывается в ходе двух последовательных процессов: синтеза РНК (**транскрипции**) и синтеза белка (**трансляции**). Эти процессы обеспечивают правильный перевод зашифрованной в **ДНК** генетической информации с языка **нуклеотидов** язык **аминокислот**. Последовательность аминокислот в **белке** задает его структуру и функции. Когда у клетки возникает потребность в каком-то белке, то включается **транскрипция** соответствующего **структурного гена**, а когда такая потребность исчезает, **транскрипция** выключается.

Транскрипция начинается со связывания РНК-полимеразы с промотором. Далее последовательно копируется весь структурный ген (кодирующая область) – от первого нуклеотида до последнего – с образованием матричной РНК (мРНК).



Трансляция

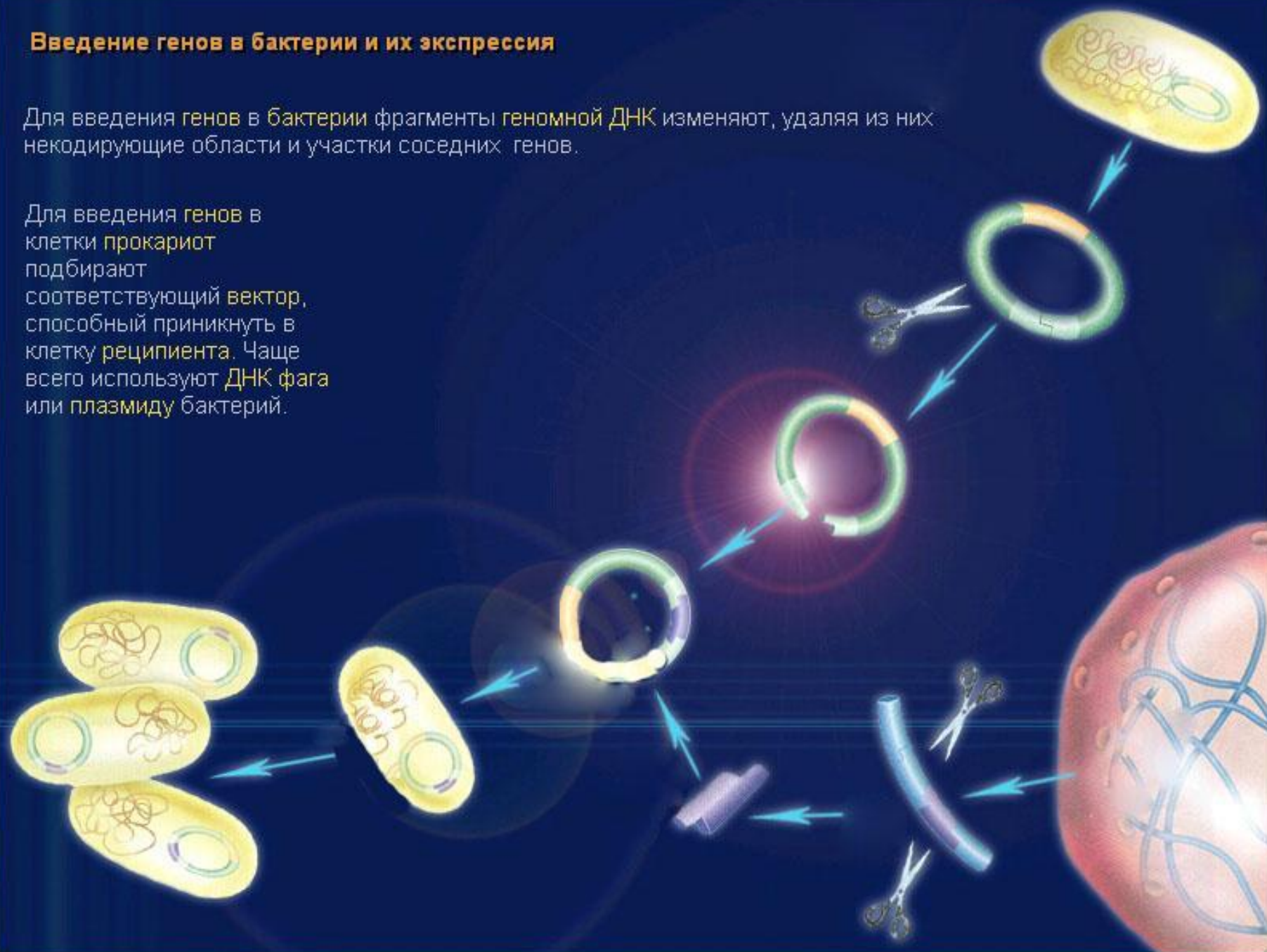


Трансляция начинается со связывания мРНК с малой рибосомной субъединицей. Затем происходит комплементарное спаривание первого кодона мРНК с антикодоном инициаторной транспортной РНК, несущей метионин. К образовавшемуся комплексу присоединяется большая рибосомная субъединица и образуется комплекс инициации, готовый к синтезу полипептидной цепи.

Введение генов в бактерии и их экспрессия

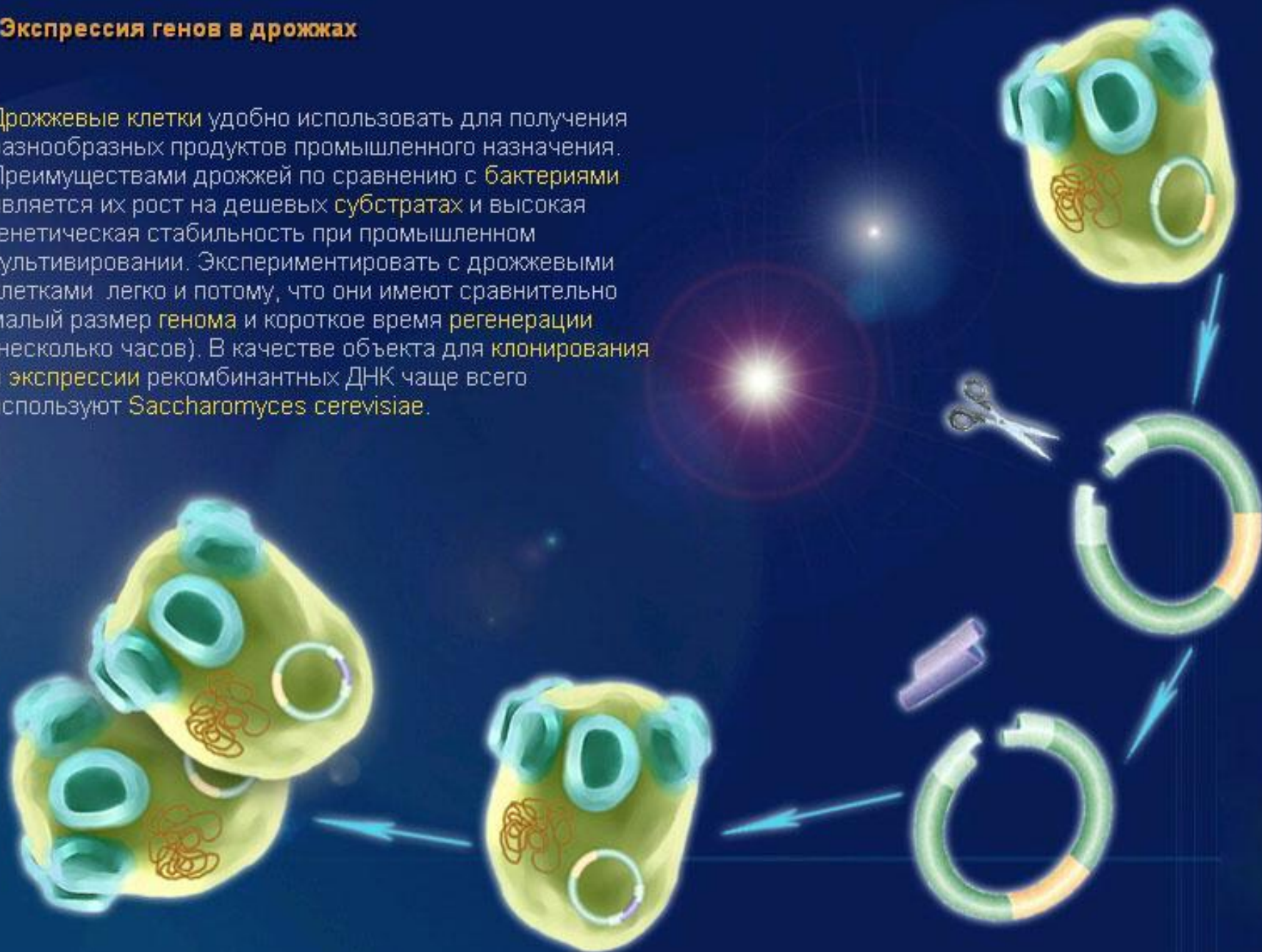
Для введения генов в бактерии фрагменты геномной ДНК изменяют, удаляя из них некодирующие области и участки соседних генов.

Для введения генов в клетки прокариот подбирают соответствующий вектор, способный проникнуть в клетку реципиента. Чаще всего используют ДНК фага или плазмиду бактерий.



Экспрессия генов в дрожжах

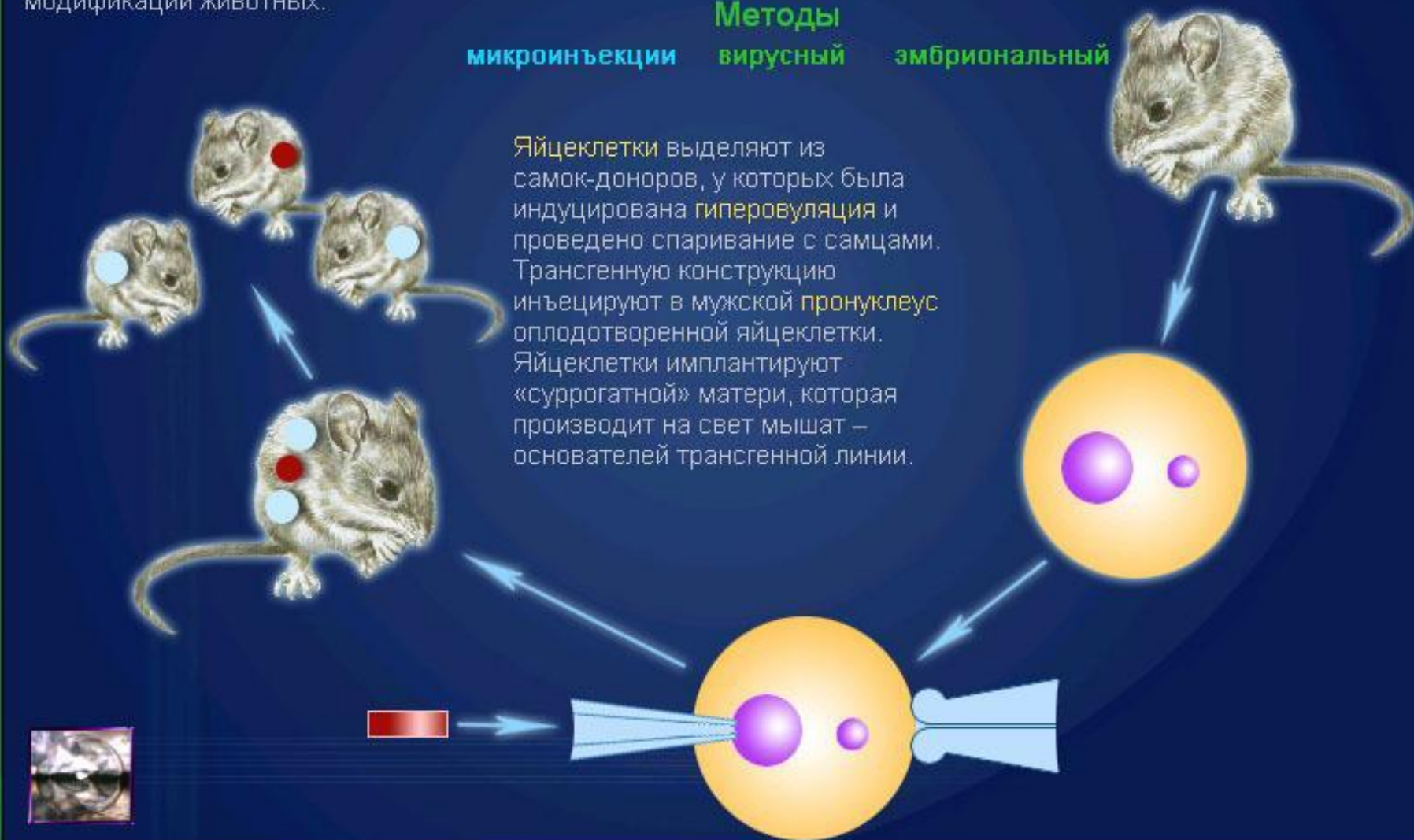
Дрожжевые клетки удобно использовать для получения разнообразных продуктов промышленного назначения. Преимуществами дрожжей по сравнению с бактериями является их рост на дешевых субстратах и высокая генетическая стабильность при промышленном культивировании. Экспериментировать с дрожжевыми клетками легко и потому, что они имеют сравнительно малый размер генома и короткое время регенерации (несколько часов). В качестве объекта для клонирования и экспрессии рекомбинантных ДНК чаще всего используют *Saccharomyces cerevisiae*.



Методы получения трансгенных животных

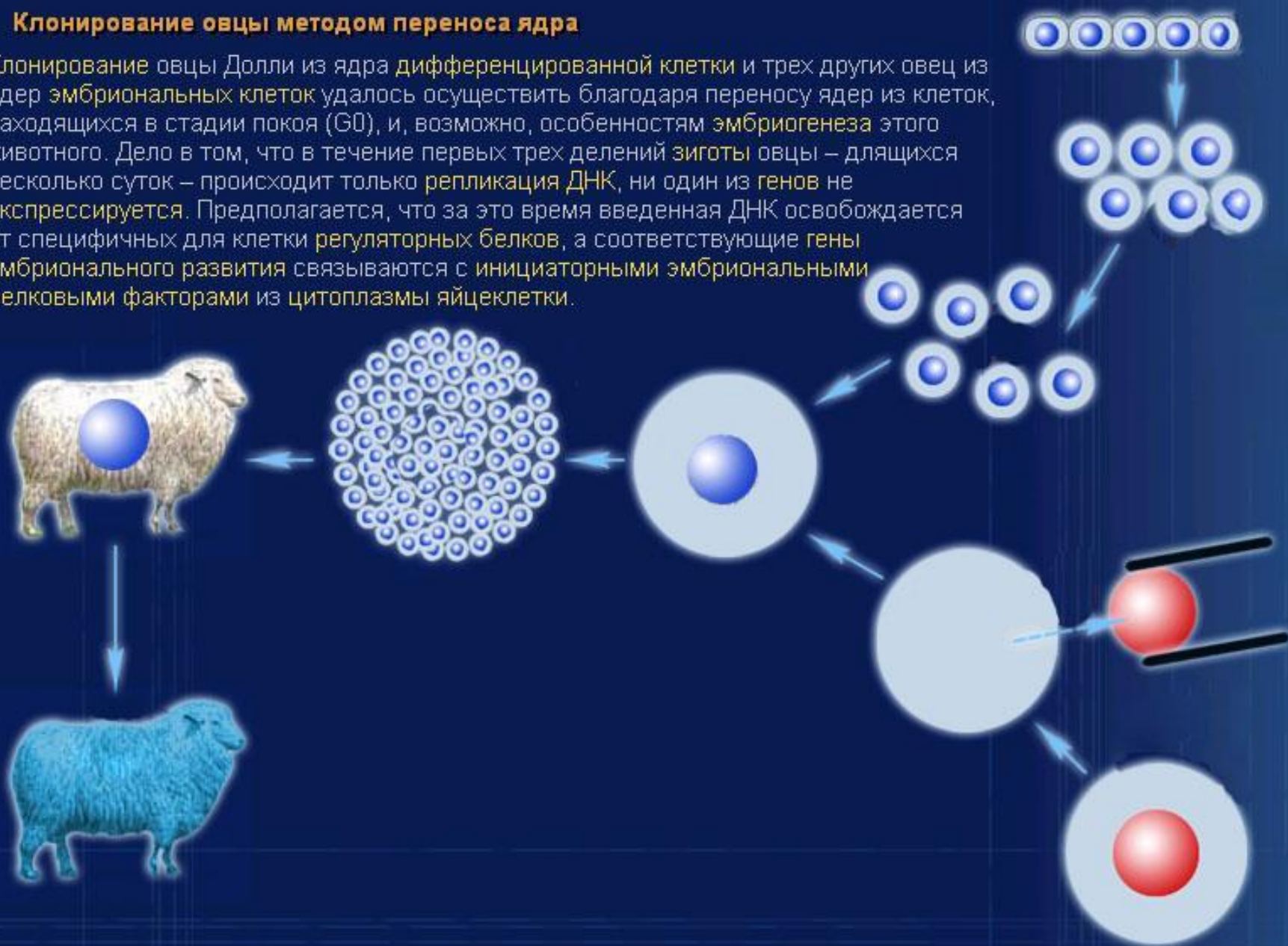
Развитие методов генной инженерии, позволяющих целенаправленно создавать новые ДНК-носители генетической информации и встраивать их в геном клетки, которая могла бы дать начало клеткам зародышевой линии, открывает новые перспективы в генетической модификации животных.

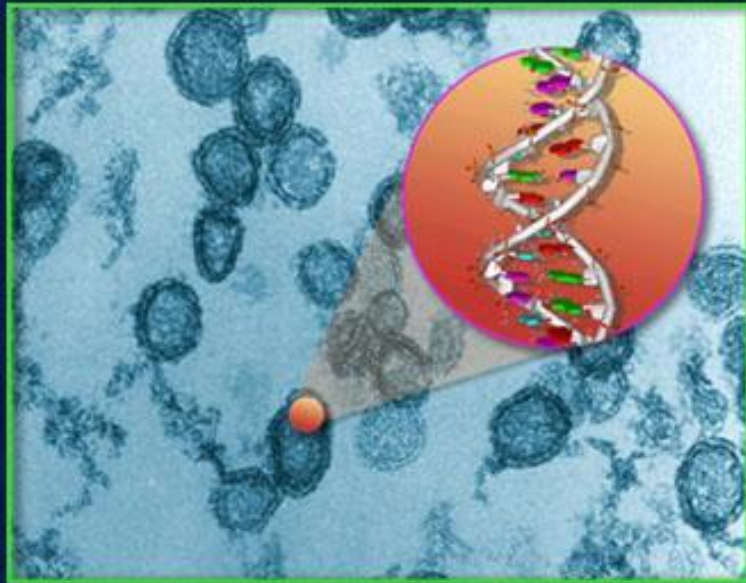
Методы
микроинъекции вирусный эмбриональный



Клонирование овцы методом переноса ядра

Клонирование овцы Долли из ядра дифференцированной клетки и трех других овец из ядер эмбриональных клеток удалось осуществить благодаря переносу ядер из клеток, находящихся в стадии покоя (G0), и, возможно, особенностям эмбриогенеза этого животного. Дело в том, что в течение первых трех делений зиготы овцы – длящихся несколько суток – происходит только репликация ДНК, ни один из генов не экспрессируется. Предполагается, что за это время введенная ДНК освобождается от специфичных для клетки регуляторных белков, а соответствующие гены эмбрионального развития связываются с инициаторными эмбриональными белковыми факторами из цитоплазмы яйцеклетки.





Липосомы – это сферические образования, состоящие из **фосфолипидов**. Упаковка рекомбинантных ДНК в липосомы позволяет защитить генетический материал от разрушающего действия **нуклеаз**, находящихся в клетках. Для введения ДНК в клетки растений наиболее пригодны липосомы, состоящие из **фосфатидилсерина** и **холестерина**.

Главное:

- 1 Генетическая (генная) инженерия позволяет путем операций в условиях *in vitro* переносить генетическую информацию из одного организма в другой, используя для этого функционально активные генетические структуры – рекомбинантные дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК).
- 2 Рекомбинантные (или гибридные) ДНК образуются при объединении фрагментов ДНК, выделенных из различных организмов.
- 3 В создании рекомбинантных ДНК участвуют различные ферменты: рестриктазы, ДНК-лигазы, ревертазы, ДНК-полимеразы.
- 4 Генная инженерия основана на получении гибридных молекул ДНК и введении этих молекул в клетки других организмов.
- 5 Векторы – это молекулы ДНК, способные соединяться с чужеродной ДНК, переносить ее в другую клетку и обеспечивать репликацию (воспроизведение). В качестве векторов в генно-инженерных работах чаще всего используют ДНК плазмид и вирусов.

Проверьте свои знания



1

Какие ферменты необходимы для конструирования рекомбинантных ДНК?

- | | |
|----------|--------------|
| А | рестриктазы |
| Б | ДНК-лигазы |
| В | инвертазы |
| Г | гидроксилазы |

2

Что является основой генетической инженерии?

- | | |
|----------|------------------------------|
| А | создание рекомбинантной ДНК |
| Б | выделение ДНК из организма |
| В | расщепление ДНК на фрагменты |
| Г | выделение хромосом |
| Д | получение плазмид |

Проверьте свои знания



3

Какое определение неверно?

А	Ген – это участок молекулы ДНК, расположенный в хромосоме
Б	Ген – это участок молекулы ДНК, расположенный в хлоропласте
В	Ген – это участок молекулы ДНК, расположенный в митохондрии
Г	Ген – это участок молекулы ДНК, расположенный в оболочке

4

Отметьте векторы, которые наиболее часто используются при проведении генно-инженерных работ.

А	плазмиды
Б	вирусы
В	бактерии
Г	дрожжи