

МЕТОДЫ ВНЕДРЕНИЯ ЧУЖЕРОДНОЙ ДНК В КЛЕТКИ ЖИВОТНЫХ



**Преподаватель:
Роспаева Г.М.**

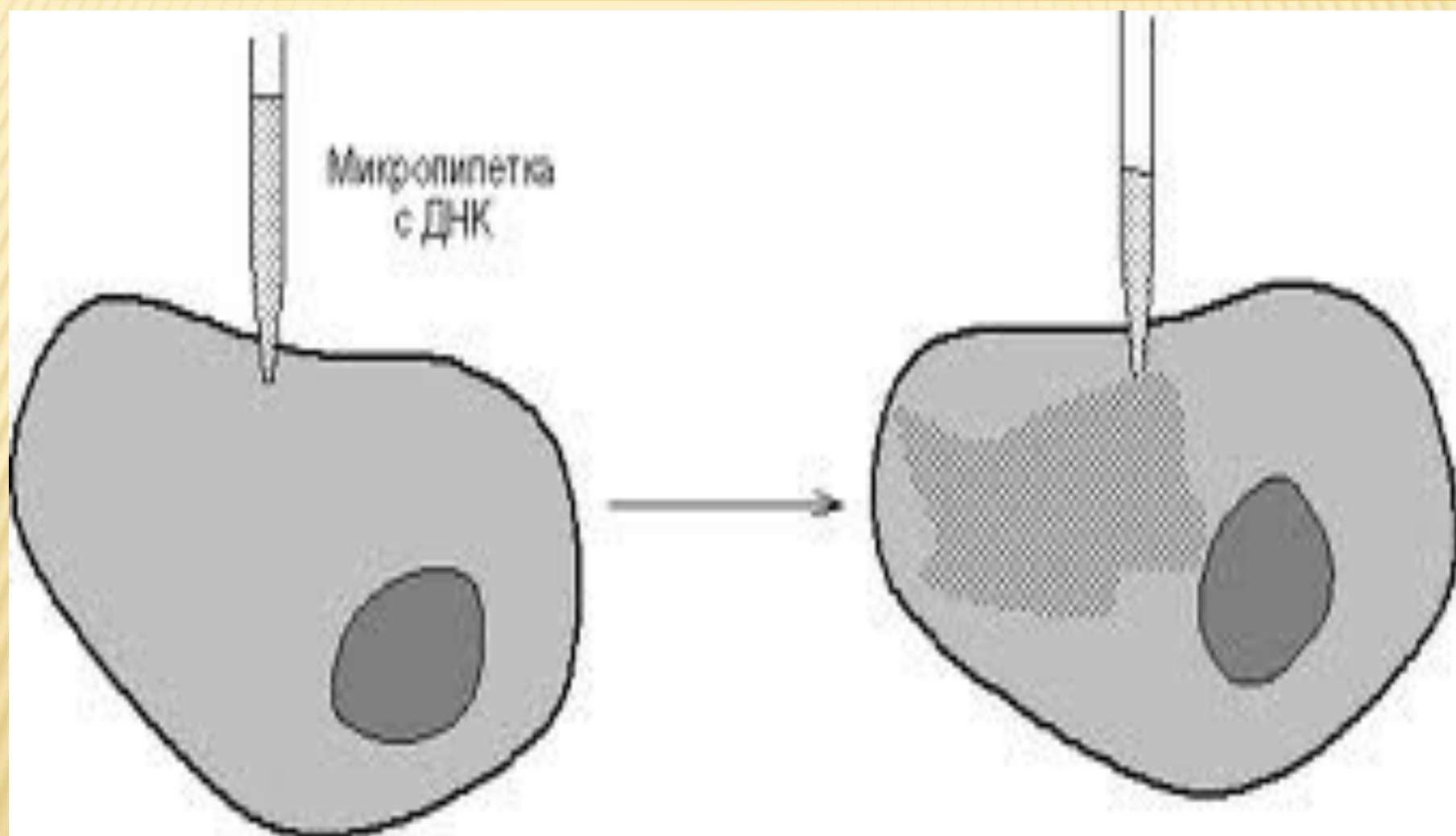
ВВЕДЕНИЕ

В качестве объектов-мишеней, в геном которых встраивают чужеродные гены, используют клетки прокариот, эмбриональные клетки животных и растений, ядра клеток животных, изолированные клетки, ткани и споры растений.

**КАКИМ ЖЕ СПОСОБОМ МОЖНО ВВЕСТИ
ВЕКТОР В КЛЕТКУ?**

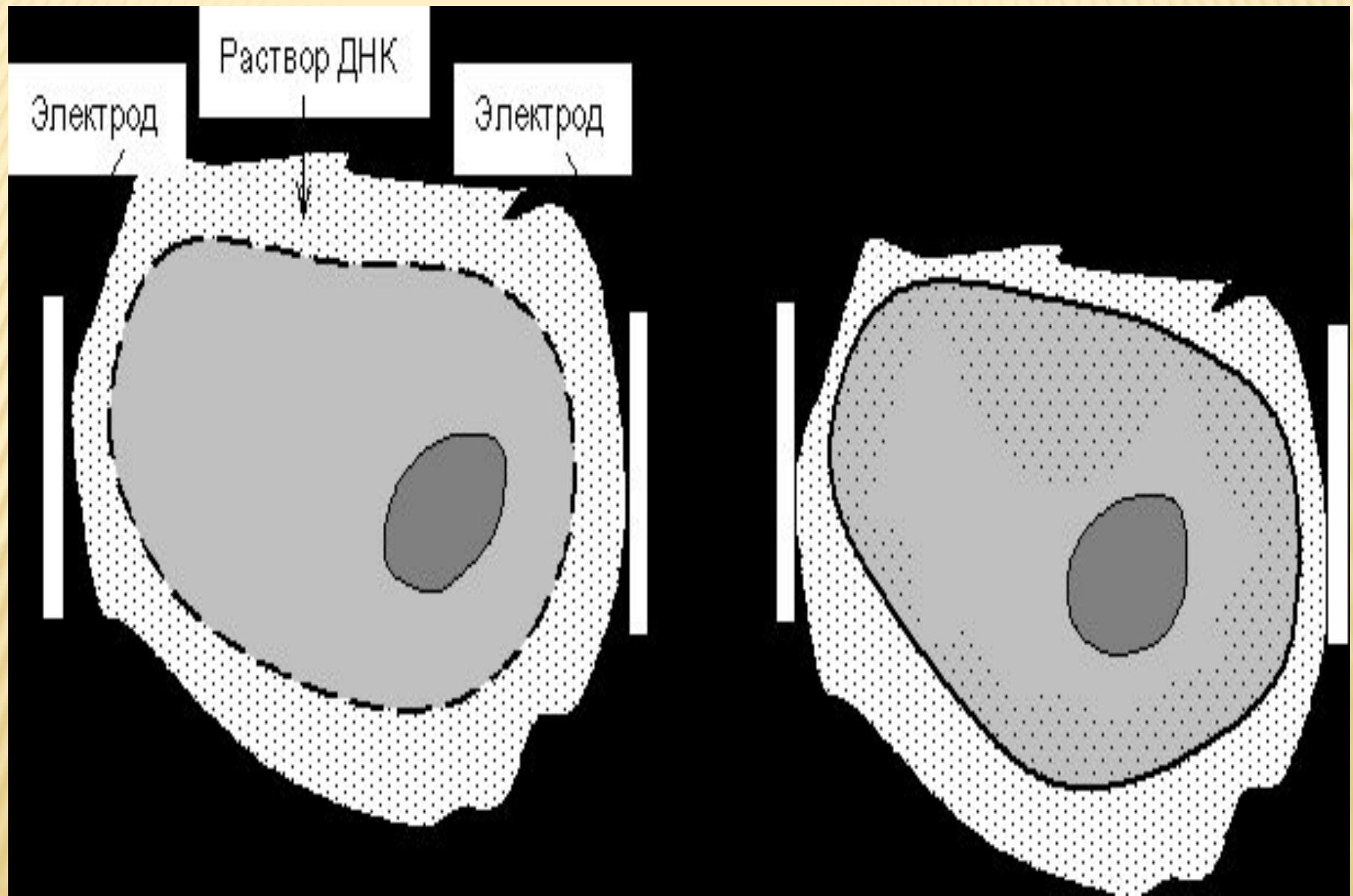
МИКРОИНЪЕКЦИЯ

- При помощи тончайшей стеклянной трубочки (диаметр около 100 нм) и микроманипулятора в ядро клетки можно ввести векторную ДНК с включенным в нее трансгеном. Число молекул ДНК, вводимых за одну инъекцию, может составлять от 100 до 300 000.



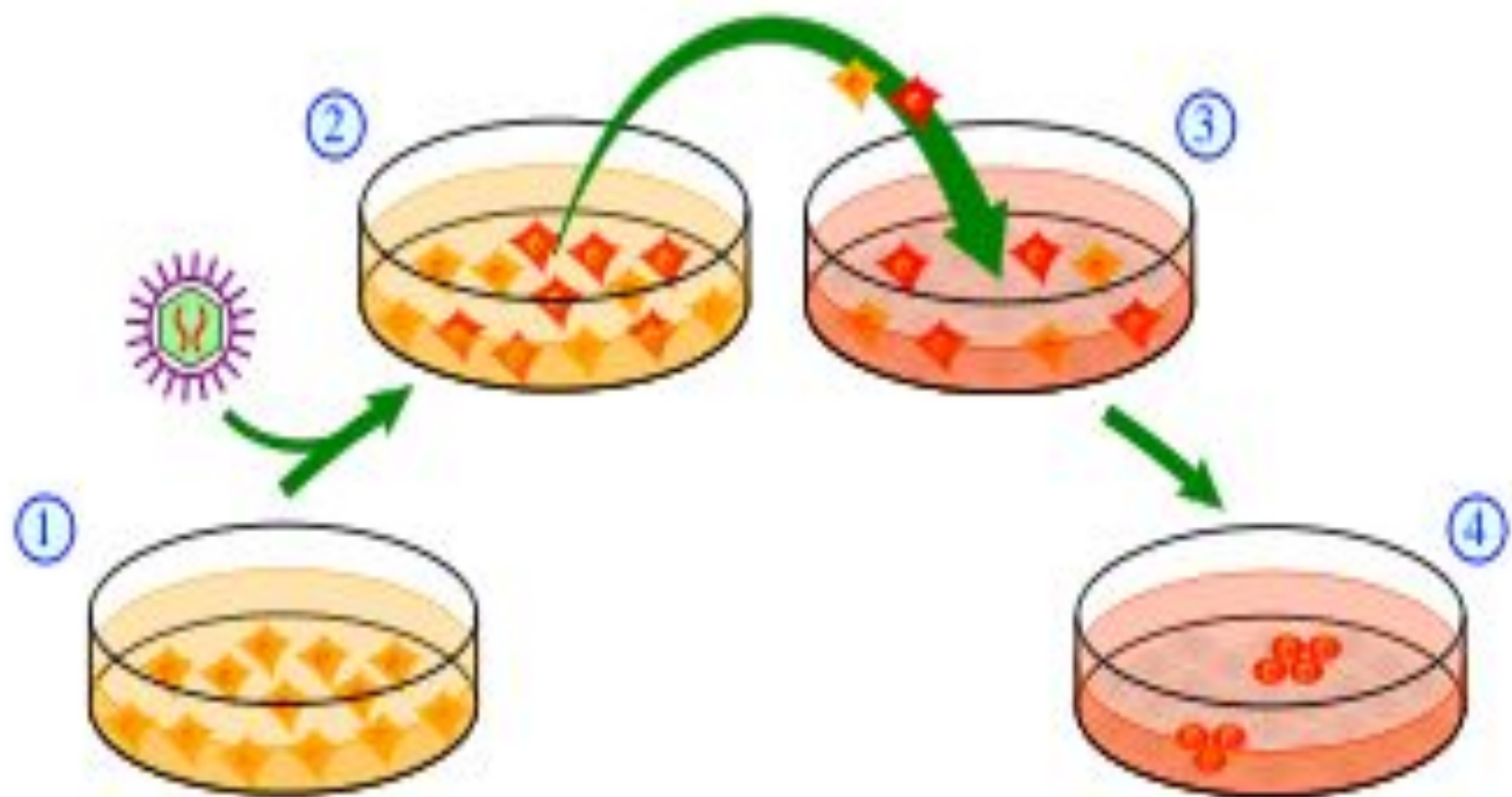
ЭЛЕКТРОПОРАЦИЯ

- Под действием импульсов высокого напряжения (200-350 В, длительность 54 мс) обратимо увеличивается проницаемость мембран. В результате через образующиеся на короткое время в мембране микропоры ДНК из окружающей среды проникает в клетку.



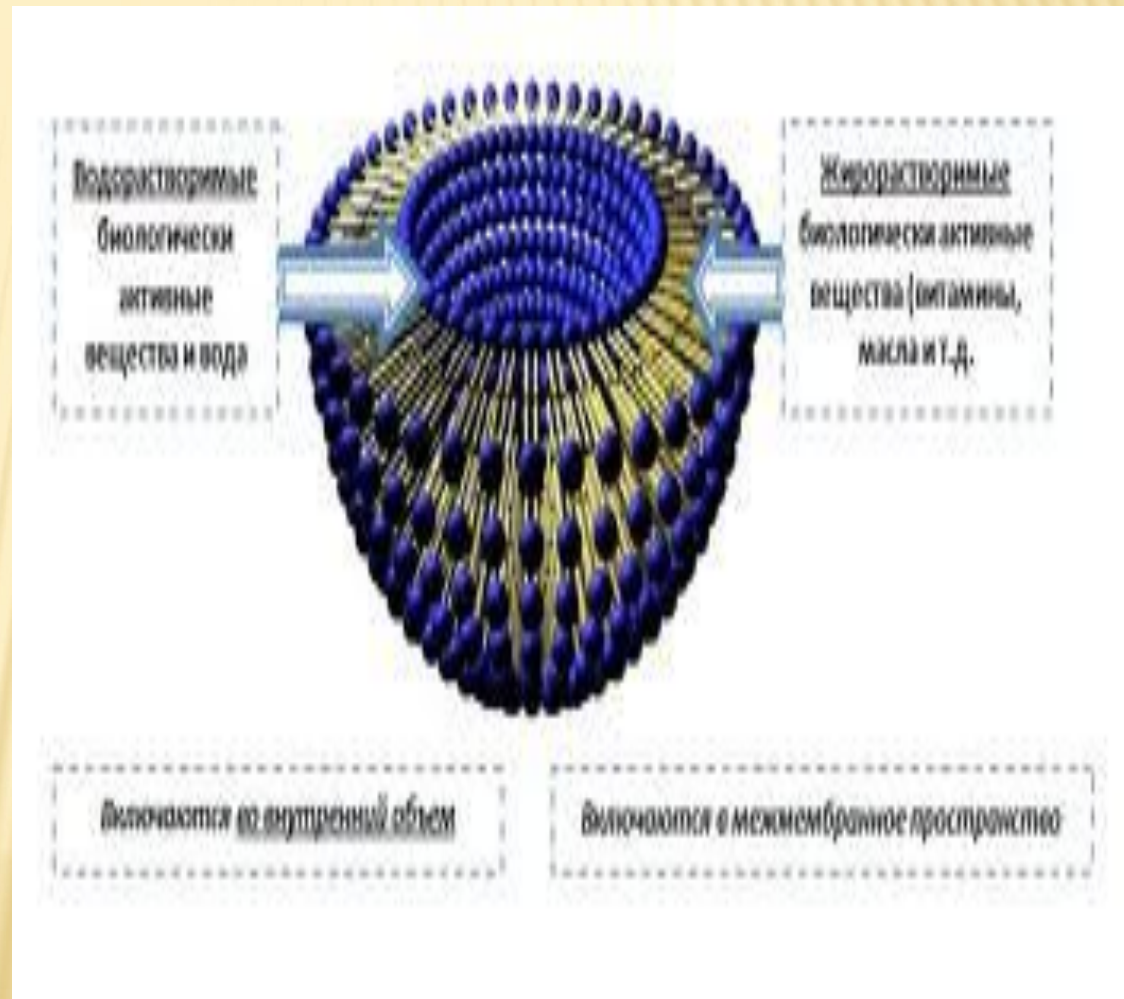
ТРАНСФЕКЦИЯ

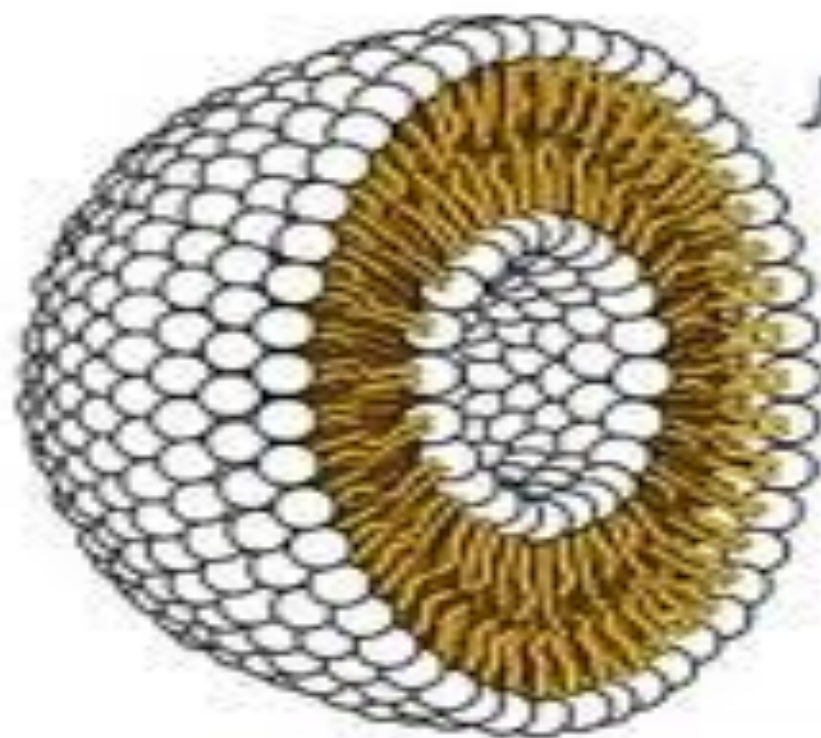
- Вектор обрабатывают ионами Са. Образующиеся наноконплексы ионов и вектора проникают в клетку путем пиноцитоза. Метод применяют для внедрения трансгенов в эукариотические клетки.



УПАКОВКА В ЛИПОСОМЫ

- Липосомы — сферические образования, покрытые фосфолипидами и содержащие внутри вектор, способные проникать в клетку вследствие их растворения в липидах плазмалеммы.



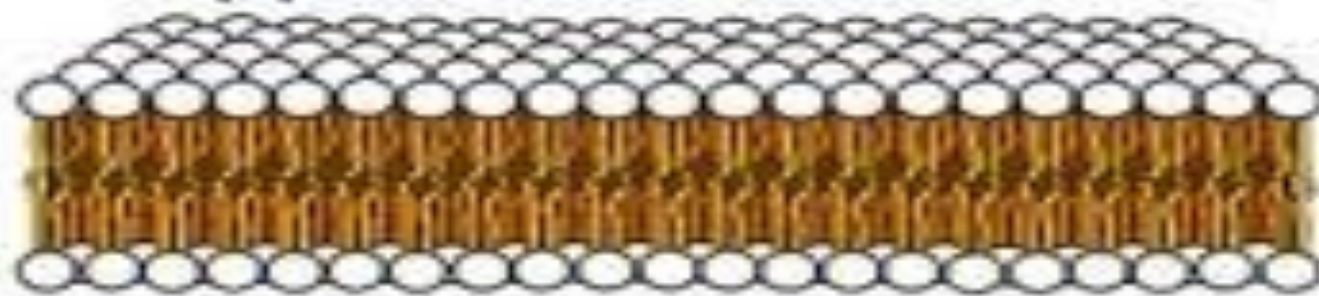


Лимосома

Мицелла



Двойной слой

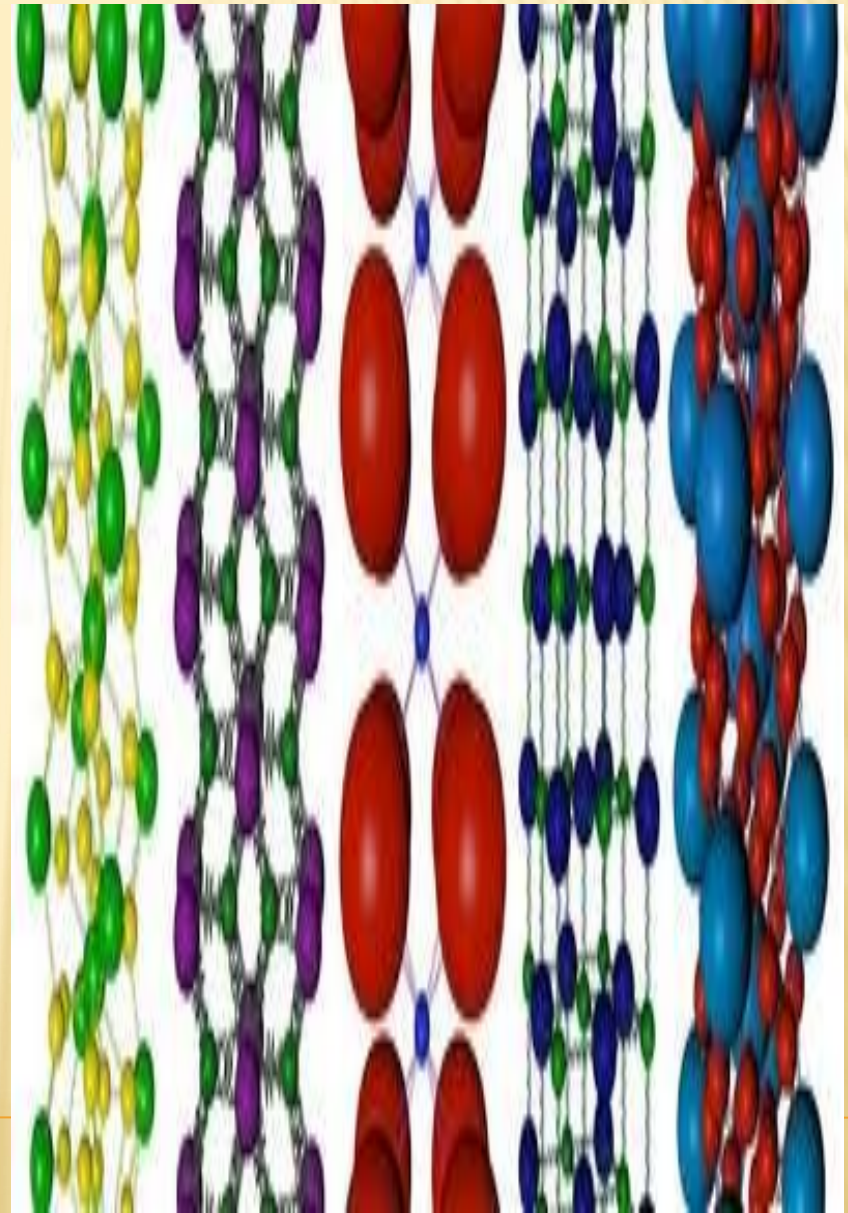


БОМБАРДИРОВАНИЕ МИКРОЧАСТИЦАМИ

- Это один из самых эффективных методов трансформации растений. Для внедрения используют незрелые зародыши семян, которые бомбардируют частицами золота или вольфрама (диаметр около 600 нм), на которые наносится покрытие из вектора. Этими частицами заряжают «генные пушки», после выстрелов из которых частицы проникают в клетки. Клетки в направлении выстрела чаще всего гибнут, в то время как в зоне 0,6-1 см от центра находятся наиболее удачно трансформированные клетки. Частицы могут проникать на глубину 2-3 клеточных слоев. Удивительную по простоте и дешевизне конструкцию «генной пушки» предложил отечественный ученый Р.К. Салаев

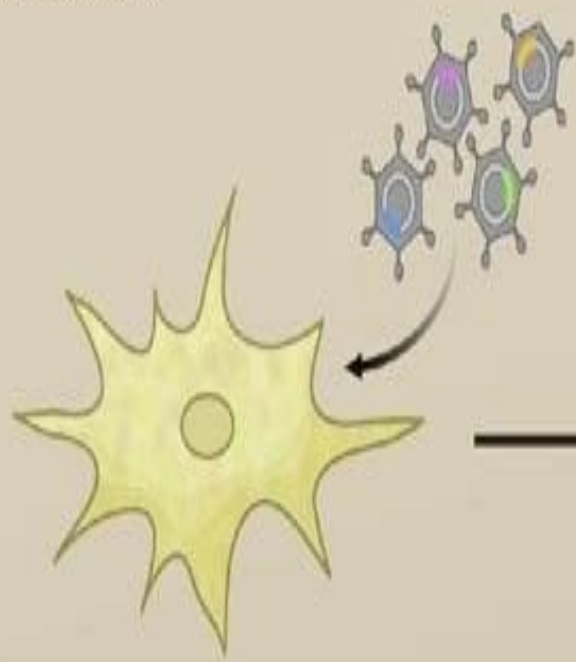


Золотые шарики, на которые нанесена ДНК, прикрепляются на фронтальную сторону тефлоновой пульки от духового ружья. На свободный конец ствола надевается специальная насадка. После выстрела пуля вылетает из ствола и застревает в отверстии насадки. Золотые шарики с прикрепленной ДНК в силу инерции отрываются, летят в сторону клеточной суспензии, помещенной в 10-15 см от конца насадки, и прошивают клетки и ядра.



В июне 2007 группа Яманака опубликовала статью, наряду еще с двумя другими независимыми группами ученых из Гарварда, MIT (Рудольф Джениш, Мариус Верниг и Университета Калифорнии, Лос Анжесес (Джеймс Томсон), в которой было описано успешное перепрограммирование мышинового фибробласта в iPS-клетку а также получение жизнеспособной химерной мыши. Эти клеточные линии были также получены с помощью вирусного внедрения в ДНК

Ретровирусная трансдукция эмбриональных генов
в фибробласты



Эмбриональный или
взрослый фибробласт

Самовозобновление



iPS-клетка

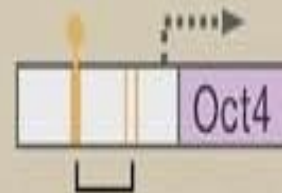
Эмбрионидное тело



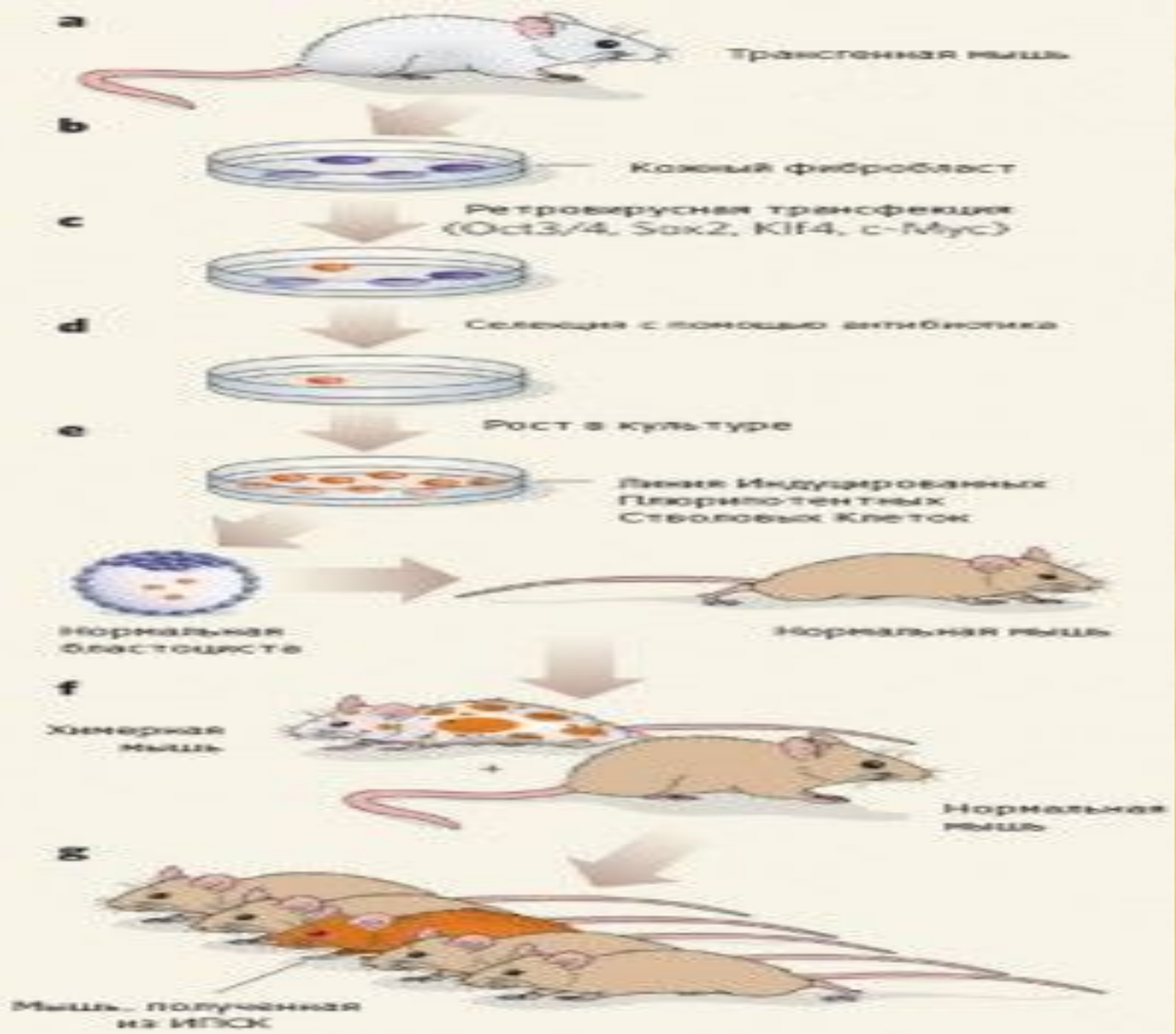
Тератома

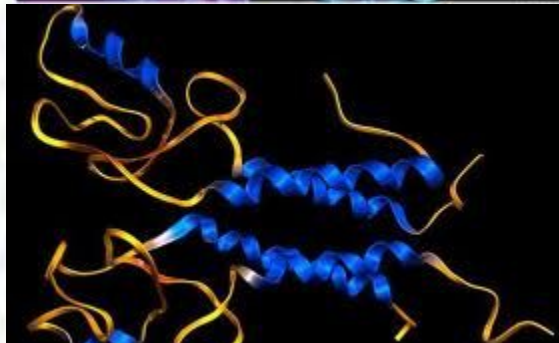
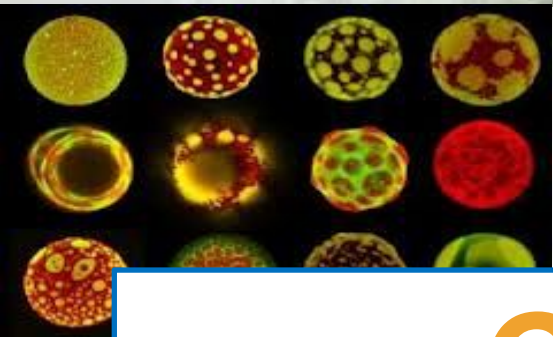


Химера



Экспрессия
эмбриональных
генов





**СПАСИБО ЗА
ВНИМАНИЕ!**

