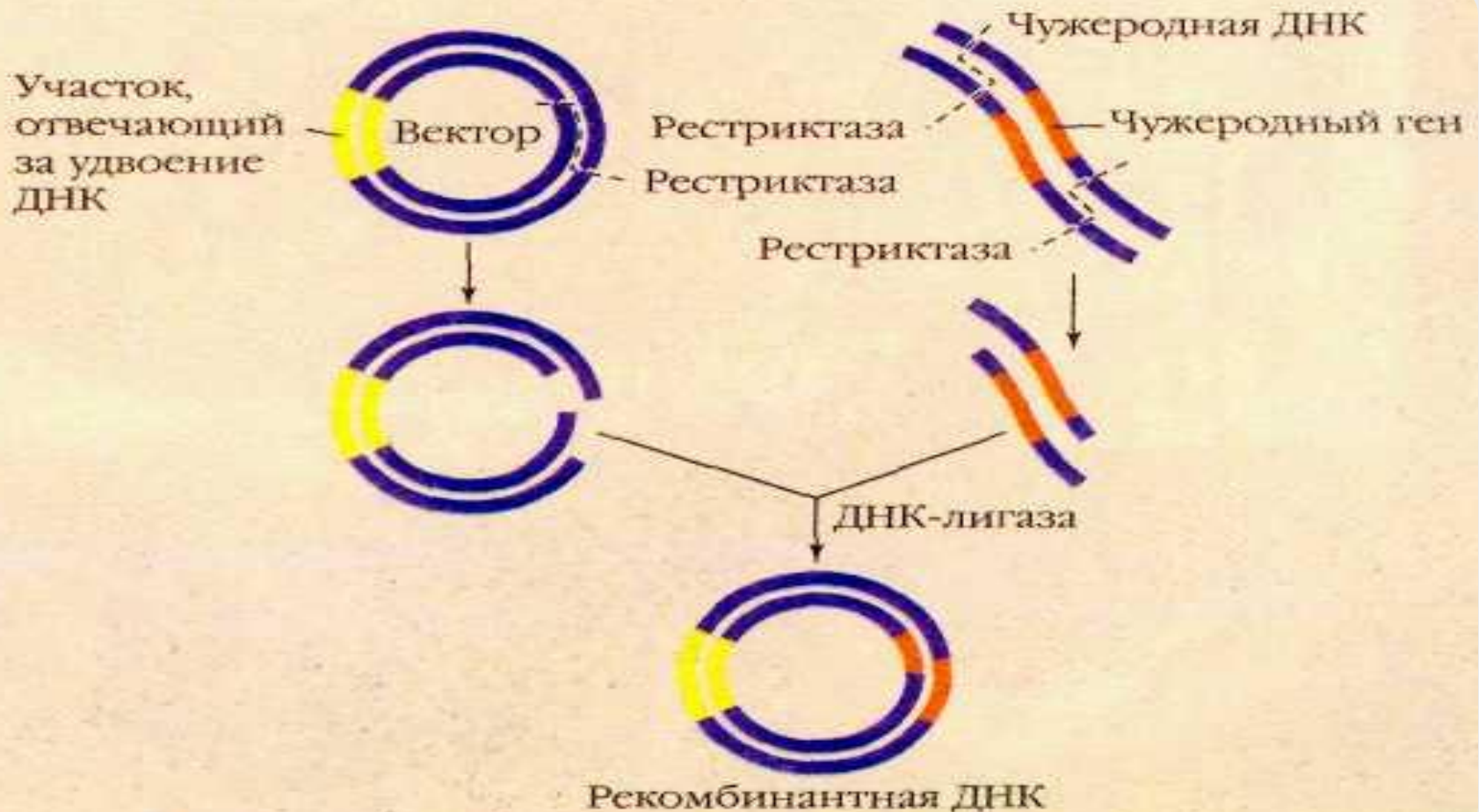


ТЕХНОЛОГИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ДНК.

Подготовила: Кинжибаева Ж., 1270112гр.
Проверила: Селеуова Л.А.,
преподаватель

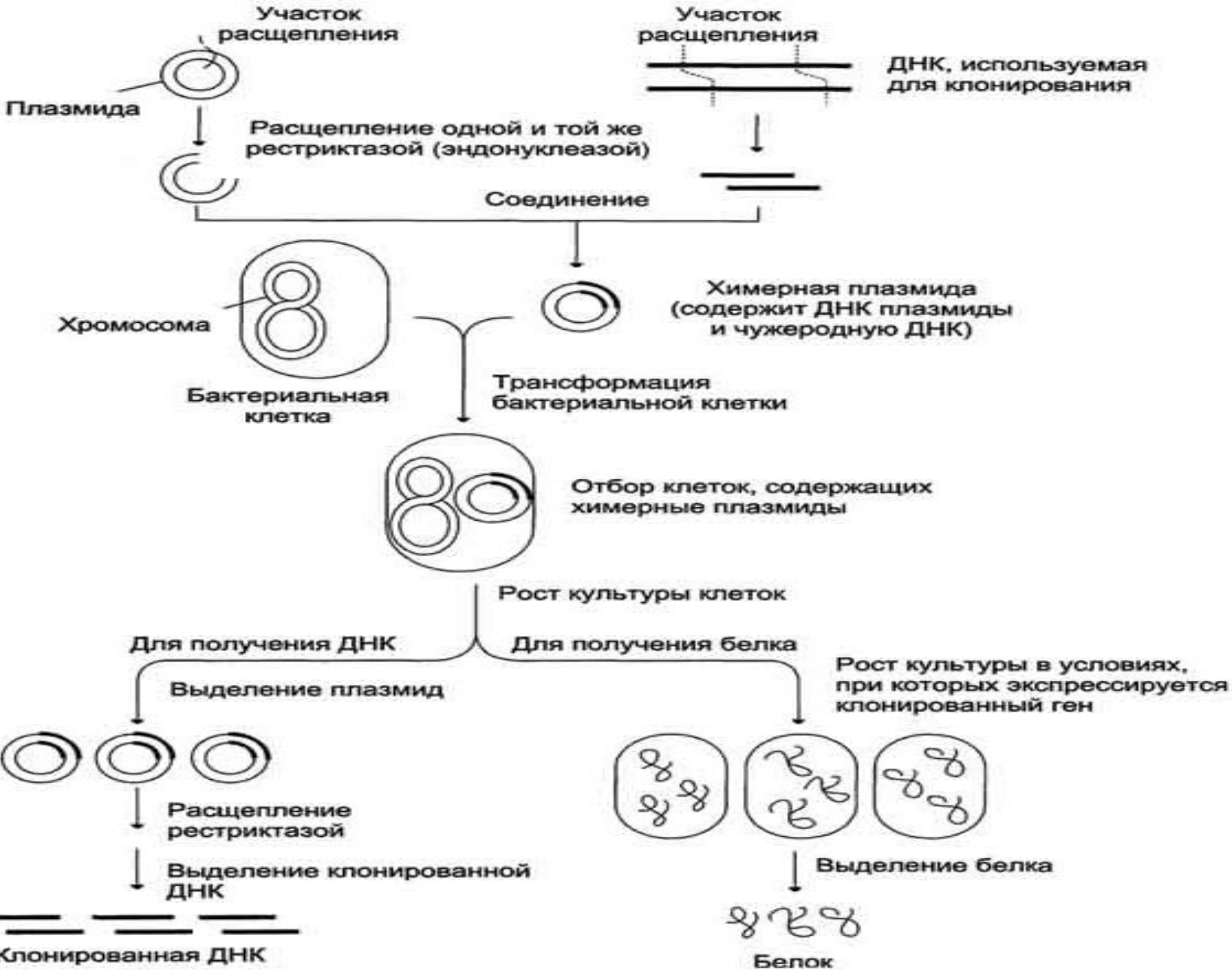
Рекомбинантная ДНК – гибридная молекула ДНК, содержащая искусственно введенный ген.



□ Механизм создания рекомбинантной ДНК

- 1. **Рестрикция** — разрезание ДНК рестрикционной эндонуклеазой (рестриктазой) на множество различных фрагментов, но с одинаковыми «липкими» концами. Такие же концы получают при разрезании плазмидной ДНК той же рестриктазой.

- **2. Лигирование** — включение фрагментов ДНК в плазмиды благодаря «сшиванию липких концов» ферментом лигазой.
- **3. Трансформация** — введение рекомбинантных плазмид в бактериальные клетки, обработанные специальным образом — так, чтобы они на короткое время стали проницаемыми для макромолекул.
- **4. Скрининг** — отбор среди клонов трансформированных организмов тех, которые содержат плазмиды, несущие нужный ген.

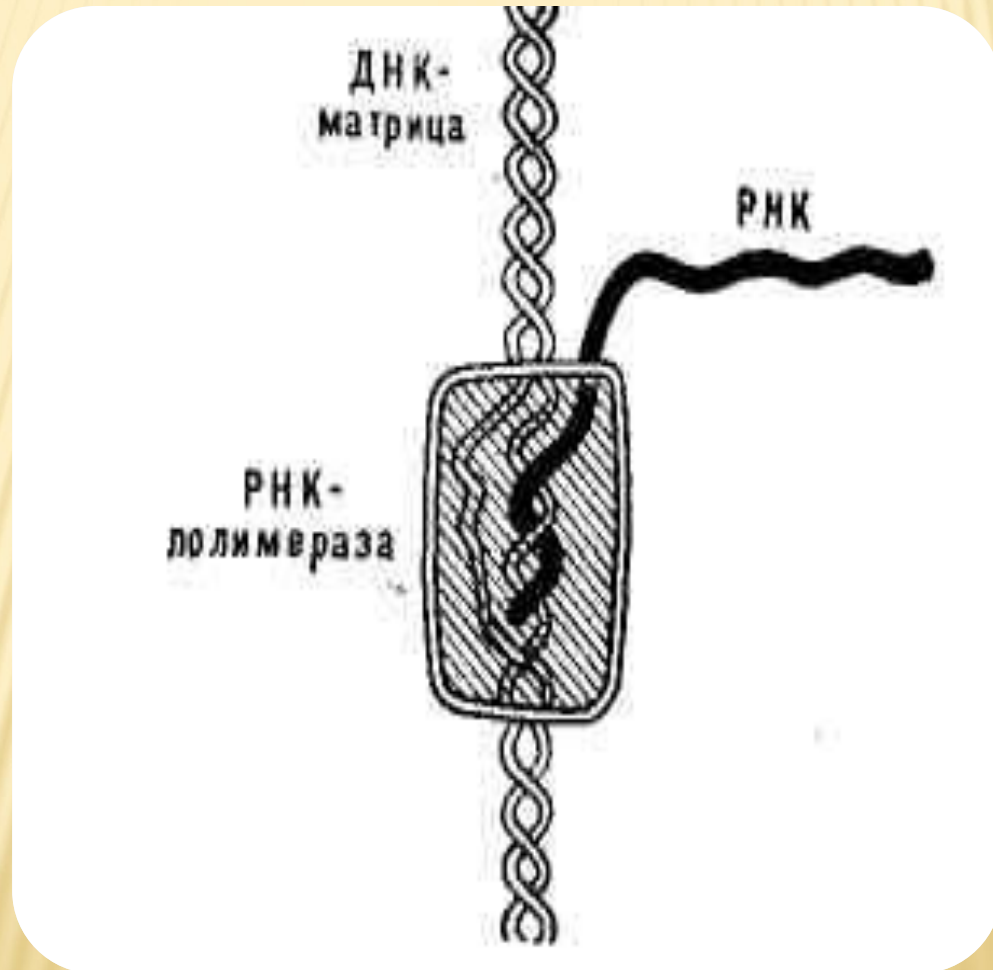


Ферменты используемые в генной инженерии:

Рестриктазы- ферменты, способные узнавать специфические последовательности ДНК(4-6 нуклеотидов)



Ревертаза- фермент, синтезирующий ДНК по матрице РНК



3. ДНК- полимераза – синтезирует нуклеиновые кислоты.

4. Терминальная трансфераза – наращивает на концах фрагмента ДНК односторонние участки путем последовательного присоединения нуклеотидов; используется для создания на соединяемых фрагментах ДНК «липких» концов.

5. Нуклеазы – большой класс ферментов, расщепляющих молекулы нуклеиновых кислот; имеются нуклеазы, расщепляющие одно- или двуцепочные ДНК и РНК путем отщепления по одному нуклеотиду или небольших олигонуклеотидов.

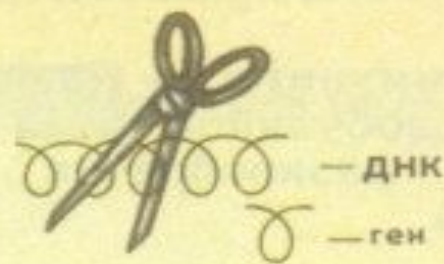
Методы получения трансгенных животных

Микроинъекция клонированных генов производят в один или оба пронуклеуса только что оплодотворенной яйцеклетки мыши. Чаще выбирают мужской пронуклеус, привнесенный сперматозоидом, так как его размеры больше. После инъекции яйцеклетку немедленно имплантируют в яйцевод приемной матери, или дают возможность развиваться в культуре до стадии бластоцисты, после чего имплантируют в матку.

1. Выделение ДНК



2. Вырезание гена



3. Размножение гена



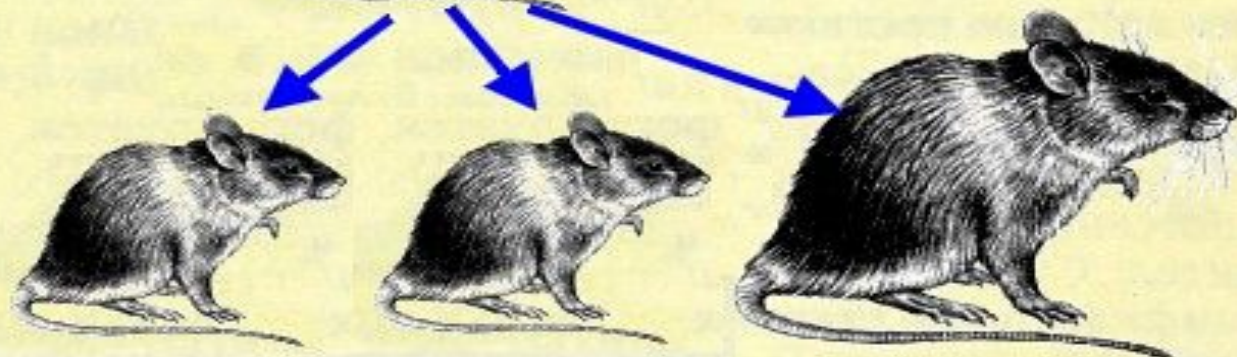
4. Введение раствора с ДНК в оплодотворенную яйцеклетку



5. Яйцеклетку трансплантируют приемной матери, где она продолжает развитие

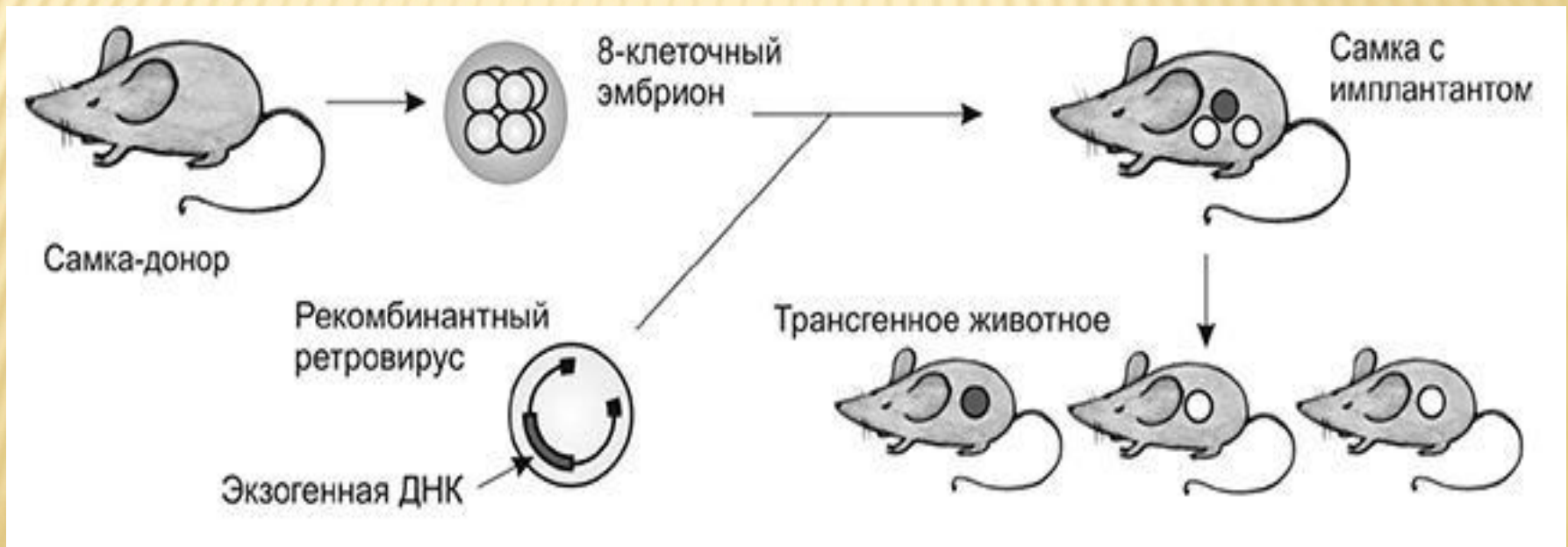


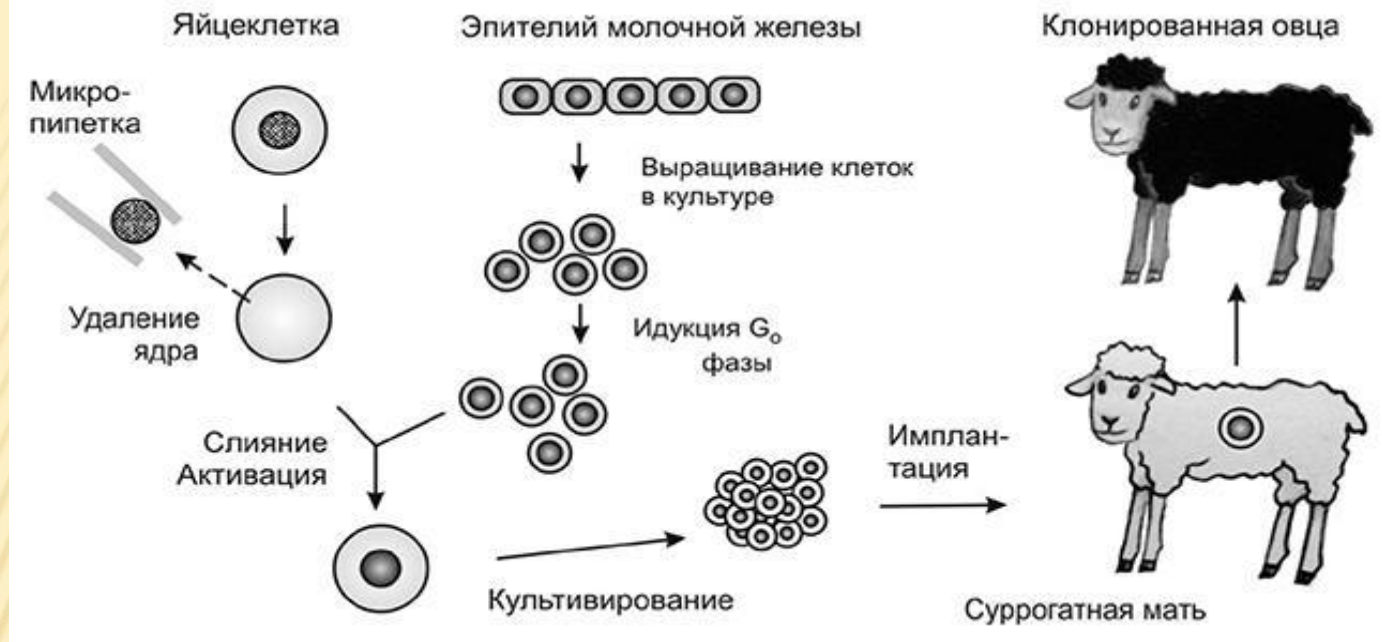
6. В потомстве появляется трансгенная гигантская мышь, если введен ген гормона роста



ВИРУСНЫЙ МЕТОД:

Эмбрион находящийся на стадии 8 клеток, инфицируют рекомбинантным ретровирусом, несущий трансген. Самки, которым был импортирован эмбрион, производят на свет трансгенное потомство. для идентификации мышей, несущих трансген в клетках зародышей линии, проводят ряд скрещиваний.





Клонирование овцы методом переноса ядра. Эпителиальные клетки молочной железы в культуре индуцируют для перехода в фазу G0 (стадия, на которой находится яйцеклетка). Затем осуществляют слияние такой клетки с энуклеированной яйцеклеткой и выращивают эмбрионы до ранних стадий эмбриогенеза. После чего эмбрионы имплантируют в матку суррогатной матери, где происходит дальнейшее развитие. В экс.Я. Уилмута (I. Wilmut) по клонированию Долли было проведено 277 слияний безъядерных яйцеклеток с клетками молочной железы в фазе G0, из 29 выживших эмбрионов только один развился до жизнеспособного

**Спасибо за
внимание!!**