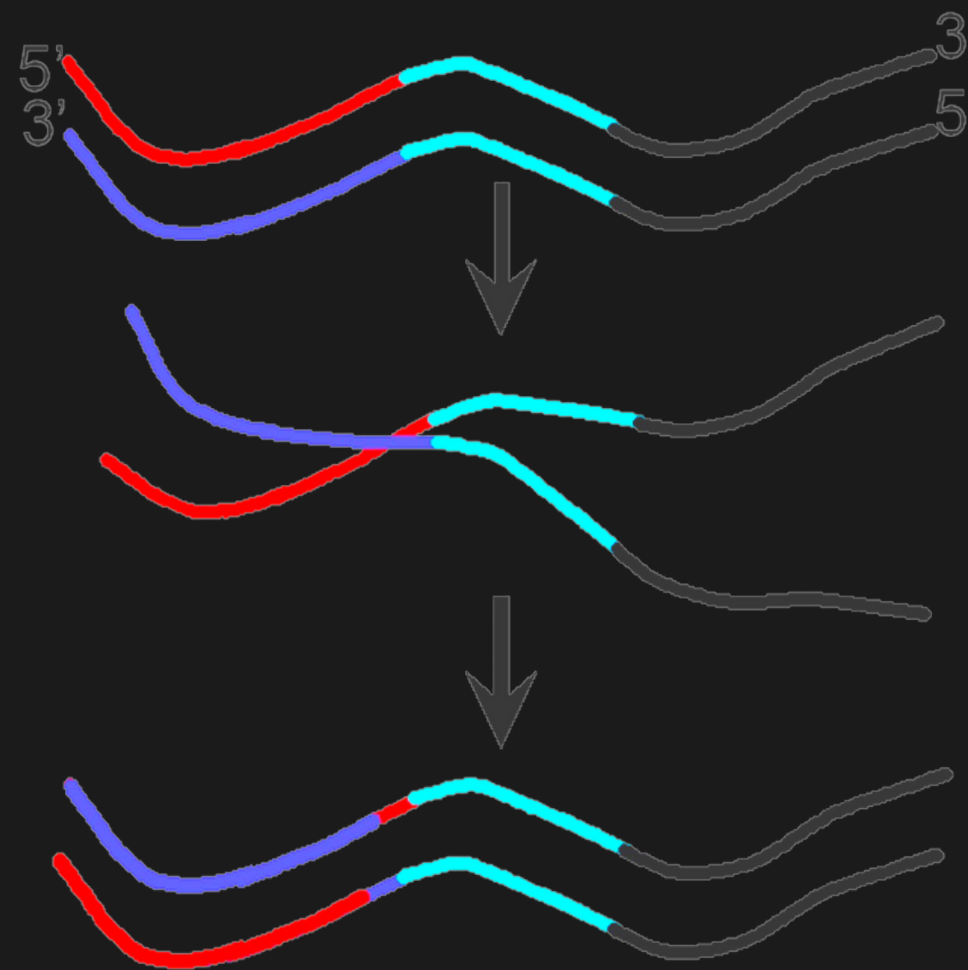




Технология рекомбинантных ДНК



Технология рекомбинантных ДНК (молекулярное клонирование или генная инженерия) - совокупность экспериментальных процедур, позволяющая осуществлять перенос генетического материала из одного организма в другой



Механизм рекомбинации на цепочках нуклеиновой кислоты

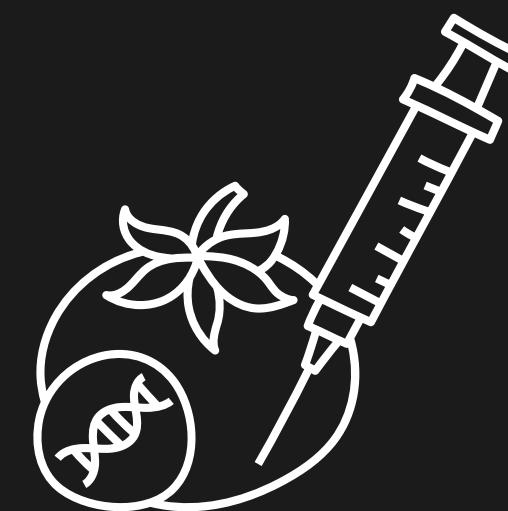
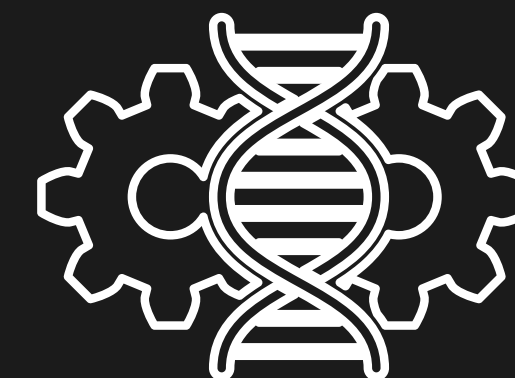
Рекомбинация — процесс, обратный ионизации. Состоит в захвате ионом свободного электрона. Рекомбинация приводит к уменьшению заряда иона или к превращению иона в нейтральный атом или молекулу

Организм, который получает рекомбинантную ДНК, называется генетически модифицированным организмом (ГМО).

Когда вводится чужая ДНК, имеющая происхождение от другого вида, организм-хозяин называется трансгенным.

Организм, который получает рекомбинантную ДНК, называется генетически модифицированным организмом (ГМО).

Когда вводится чужая ДНК, имеющая происхождение от другого вида, организм-хозяин называется трансгенным.



Технология рекомбинантных ДНК использует следующие методы:

• специфическое расщепление ДНК эндонуклеазами рестрикции, ускоряющее выделение и манипуляции с отдельными генами;

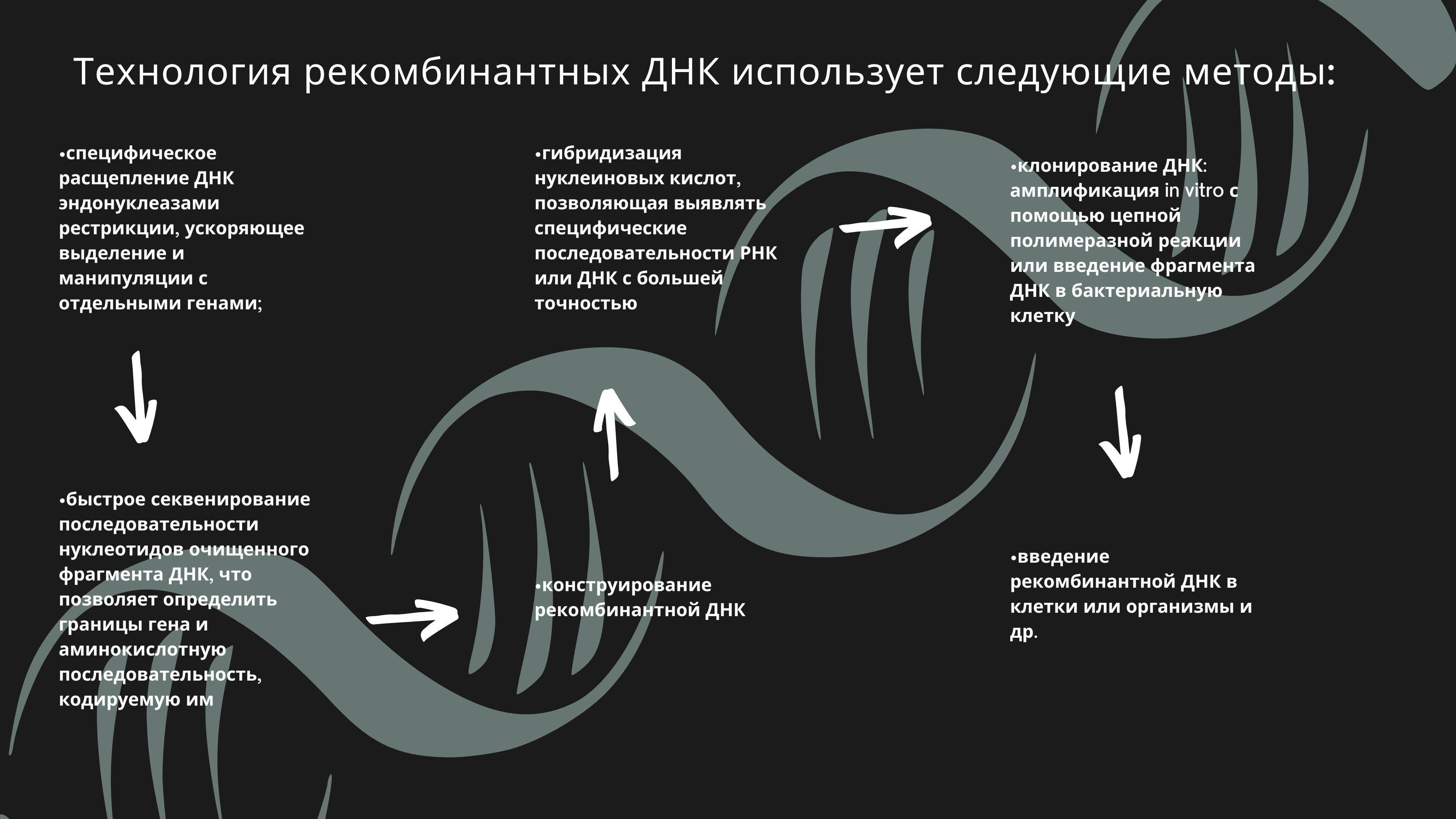
• гибридизация нуклеиновых кислот, позволяющая выявлять специфические последовательности РНК или ДНК с большей точностью

• клонирование ДНК: амплификация *in vitro* с помощью цепной полимеразной реакции или введение фрагмента ДНК в бактериальную клетку

• быстрое секвенирование последовательности нуклеотидов очищенного фрагмента ДНК, что позволяет определить границы гена и аминокислотную последовательность, кодируемую им

• конструирование рекомбинантной ДНК

• введение рекомбинантной ДНК в клетки или организмы и др.



I

из организма — донора нужных генов — экстрагируют нативную ДНК (клонлируемая ДНК, встраиваемая ДНК, ДНК-мишень, чужеродная ДНК), подвергают ее ферментативному гидролизу (расщепляют, разрезают) и соединяют (лигируют, сшивают) с другой ДНК (вектор для клонирования, клонирующий вектор) с образованием новой, рекомбинантной молекулы (конструкция “клонлирующий вектор—встроенная ДНК”);



II

эту конструкцию вводят в клетку-хозяина (реципиент), где она реплицируется и передается потомкам. Этот процесс называется трансформацией;



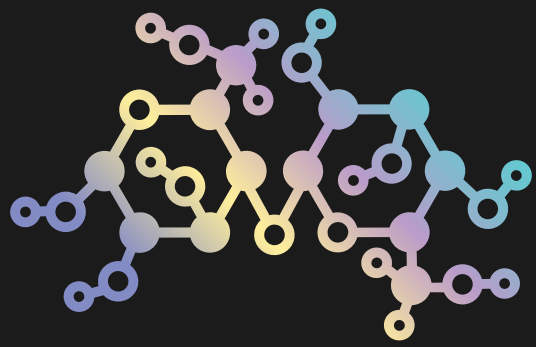
III

идентифицируют и отбирают клетки, несущие рекомбинантную ДНК (трансформированные клетки)



IV

получают специфический белковый продукт, синтезированный клетками-хозяевами, что служит подтверждением клонирования искомого гена



Ферменты,
применяемые
при
конструировании
рекомбинантных
ДНК, можно
объединить в
несколько групп



ФЕРМЕНТЫ, С ПОМОЩЬЮ КОТОРЫХ ПОЛУЧАЮТ
ФРАГМЕНТЫ ДНК (ЭНДОНУКЛЕАЗЫ РЕСТРИКЦИИ ИЛИ
РЕСТРИЦИРУЮЩИЕ ЭНДОНУКЛЕАЗЫ);

ФЕРМЕНТЫ, СИНТЕЗИРУЮЩИЕ ДНК НА МАТРИЦЕ ДНК
(ПОЛИМЕРАЗЫ) ИЛИ РНК (ОБРАТНЫЕ ТРАНСКРИПТАЗЫ);

ФЕРМЕНТЫ, СОЕДИНЯЮЩИЕ ФРАГМЕНТЫ ДНК (ЛИГАЗЫ);

ФЕРМЕНТЫ, ПОЗВОЛЯЮЩИЕ ОСУЩЕСТВИТЬ ИЗМЕНЕНИЕ
СТРУКТУРЫ КОНЦОВ ФРАГМЕНТОВ ДНК

ПОНЯТИЕ "РЕКОМБИНАЦИЯ" ВКЛЮЧАЕТ БОЛЬШОЙ НАБОР РАЗНЫХ ПО СВОЕЙ ПРИРОДЕ ЯВЛЕНИЙ.

ДЛЯ ВСЕХ РЕКОМБИНАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ ХАРАКТЕРЕН ЭТАП, НА КОТОРОМ МОЛЕКУЛЫ ДНК ВСТУПАЮТ В КОНТАКТ В УЧАСТКЕ, ГДЕ ПРОИЗОЙДЕТ ОБМЕН ПОЛИНУКЛЕОТИДНЫМИ ЦЕПЯМИ. ЭТОТ ЭТАП ПОЛУЧИЛ НАЗВАНИЕ "СИНАПСИС" .

ОДНАКО МЕХАНИЗМ СИНАПСИСА ПРИ РАЗНЫХ ТИПАХ РЕКОМБИНАЦИИ ПРИНЦИПИАЛЬНО РАЗЛИЧЕН. БОЛЕЕ ТОГО, ОН ЯВЛЯЕТСЯ ОДНИМ ИЗ КРИТЕРИЕВ ПРИ КЛАССИФИКАЦИИ РЕКОМБИНАЦИОННЫХ ЯВЛЕНИЙ.

ГОМОЛОГИЧНАЯ (КРОССИНГОВЕР)

ОСНОВАНА НА СПАРИВАНИИ КОМПЛЕМЕНТАРНЫХ ЦЕПЕЙ ДНК

УСЛОВИЕ: НЕОБХОДИМОСТЬ В ОБЩЕЙ (ПО ВСЕЙ ДЛИНЕ МОЛЕКУЛ) ГОМОЛОГИИ МЕЖДУ РЕКОМБИНИРУЮЩИМИ ДНК.

РЕЗУЛЬТАТ: ОБМЕН РАВНЫМИ ЧАСТЯМИ ГОМОЛОГИЧНЫХ МОЛЕКУЛ. В ПРОЦЕССЕ УЧАСТВУЕТ БОЛЬШОЙ НАБОР СПЕЦИАЛЬНЫХ БЕЛКОВ

НЕГОМОЛОИЧНАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ

1. САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ

2. ТРАНСПОЗИЦИИ

3. НЕЗАКОННАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ



Список литературы

Биотехнология, Курс лекций для студентов IV курса факультета биологии РГПУ им. А.И. Герцена, технология рекомбинантных ДНК, Цымбаленко Н.В

Генная инженерия - Технология рекомбинантной ДНК, 2022,
<https://biology.reachingfordreams.com/>

Технология рекомбинантных ДНК или генная инженерия, глава 4, 2015:
FARMF.RU - тесты, лекции, обзоры,

