

ПОЛУЧЕНИЕ ПРОДУЦЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Схема опыта по генетической инженерии

ЧУЖЕРОДНАЯ ДНК (в самых общих чертах).

"Липкие концы" – это комплементарные последовательности оснований

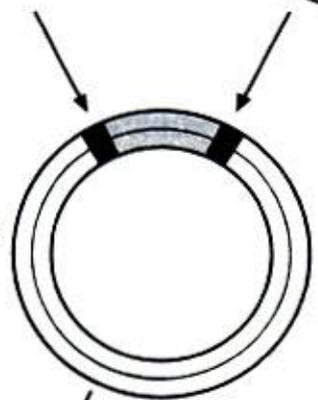
ПЛАЗМИДА

Ген нужного белка (этот ген можно синтезировать химическим путем) или его мРНК, выделенная из подходящего организма, на матрице которой с помощью специального фермента обратной транскриптазы можно снова синтезировать ДНК



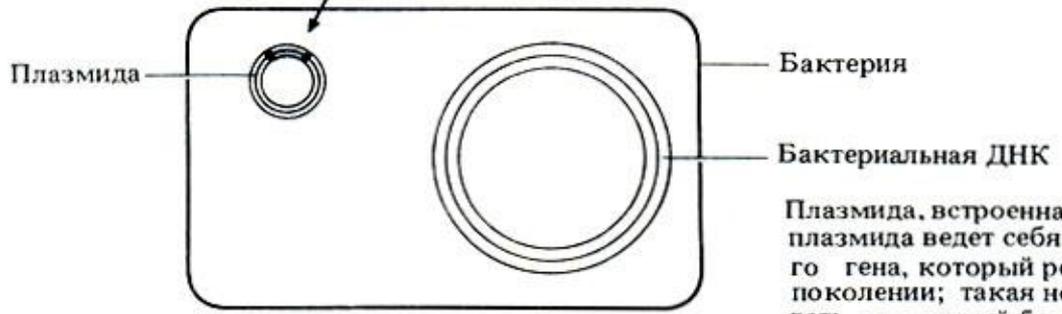
Плазмида, раскрывая (разрезанная) ферментом, оставляющим "липкие концы". Такие ферменты называются эндонуклеазами рестрикции

РЕКОМБИНАНТНАЯ ДНК



"Липкие концы" чужеродной ДНК и плазмиды взаимодействуют друг с другом, образуя комплементарные пары оснований; затем плазмида замыкается (отжигается), встраивая в себя новый ген; фермент ДНК-лигаза окончательно запечатывает плазмиду

Трансформация



Плазмида, встроенная в бактерию; таким образом, плазмида ведет себя как вектор (переносчик) нового гена, который реплицируется в каждом новом поколении; такая новая бактерия будет синтезировать уже новый белок; ее можно выращивать в ферментерах и получать биомассу в промышленном масштабе

Введение гена в
плазмиду
E. coli и
клонирование
рекомбинантной
ДНК в клетках.

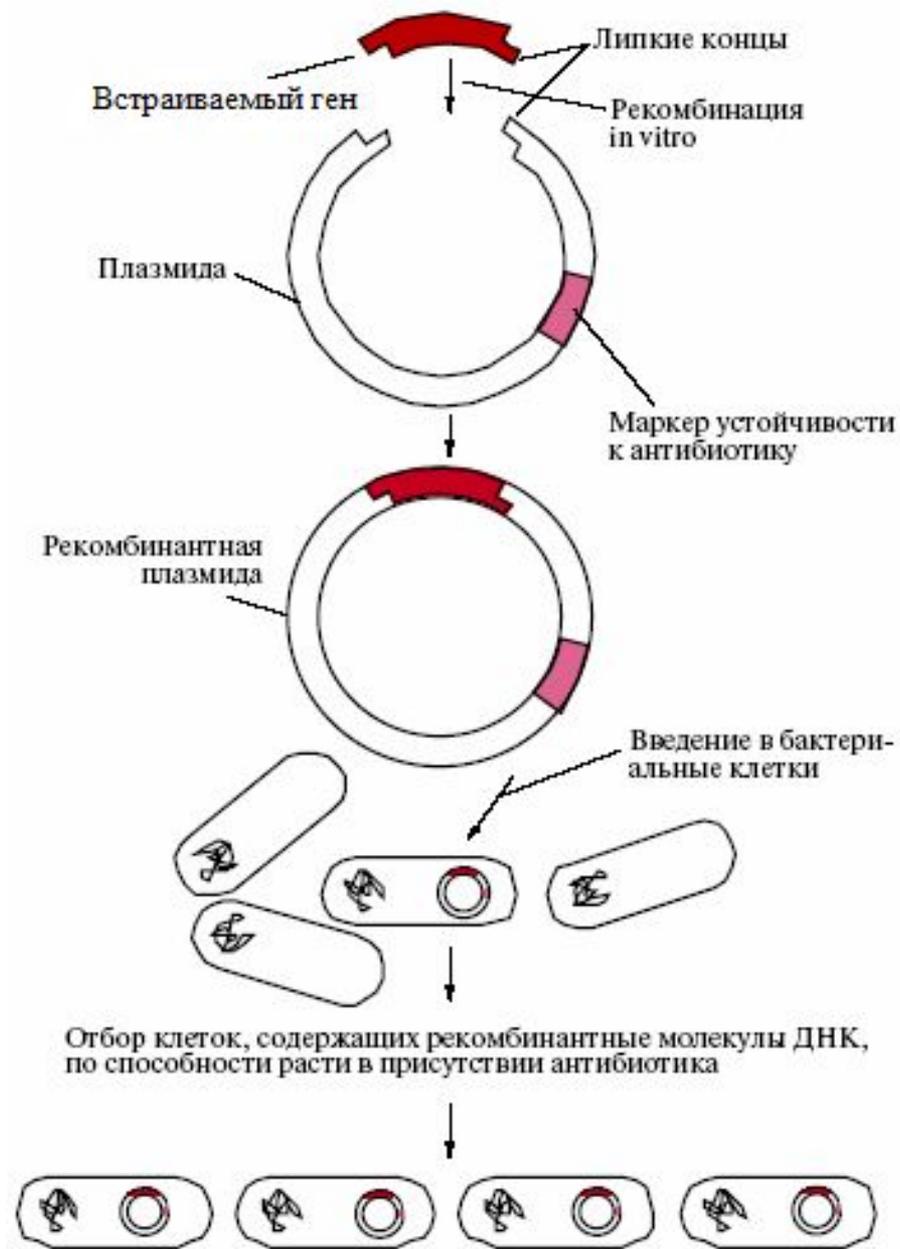


Схема клонирования ДНК с использованием фага λ в качестве вектора.



Ti-плазмиды (Tumor inducing? – индукция новообразований) агробактерии, которая в естественных условиях вызывает у растений образование опухолей (корончатых галлов) в местах проникновения бактерии **Agrobacterium tumefaciens**



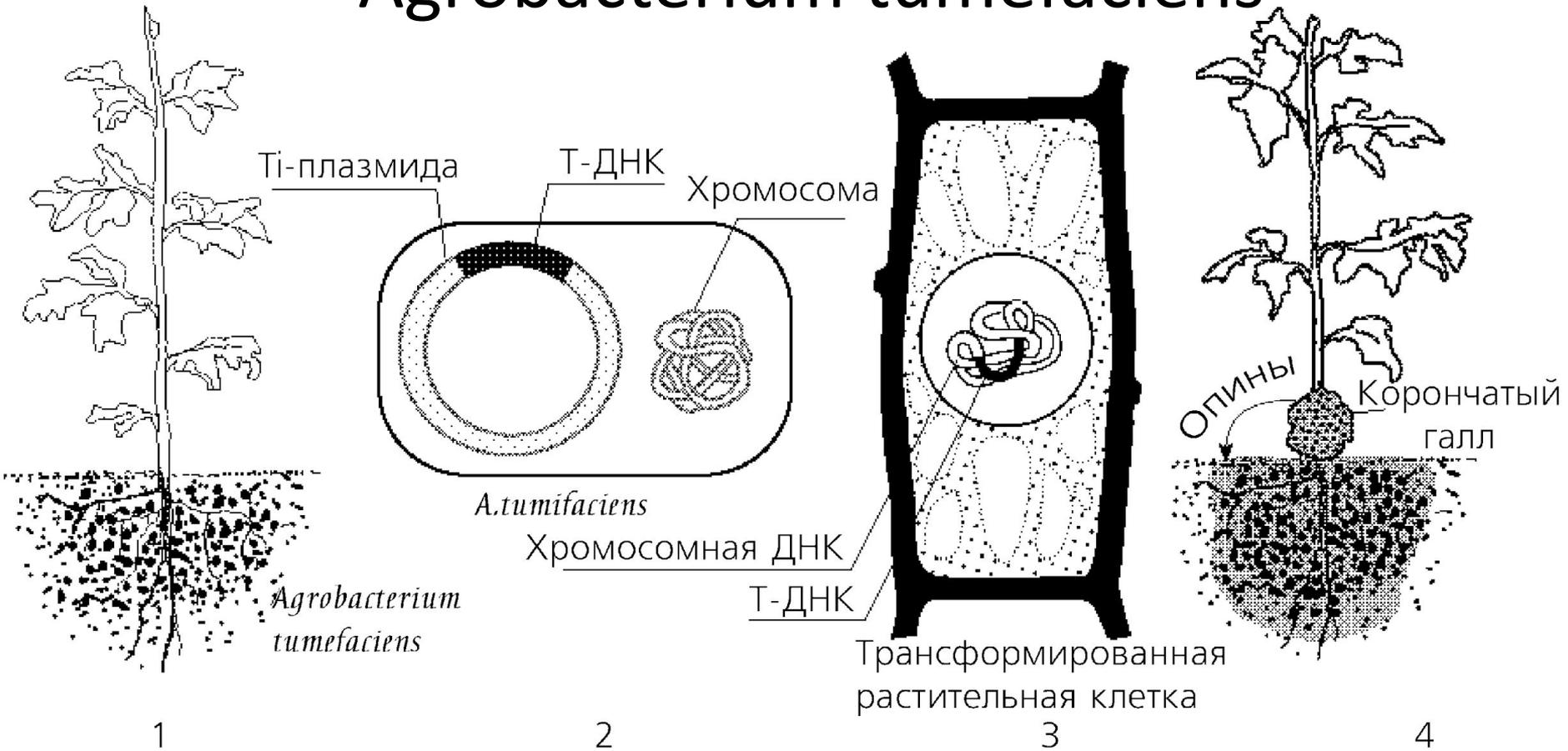
Галлообразование на морковном ломтике привитом Agrobacterium tumefaciens.



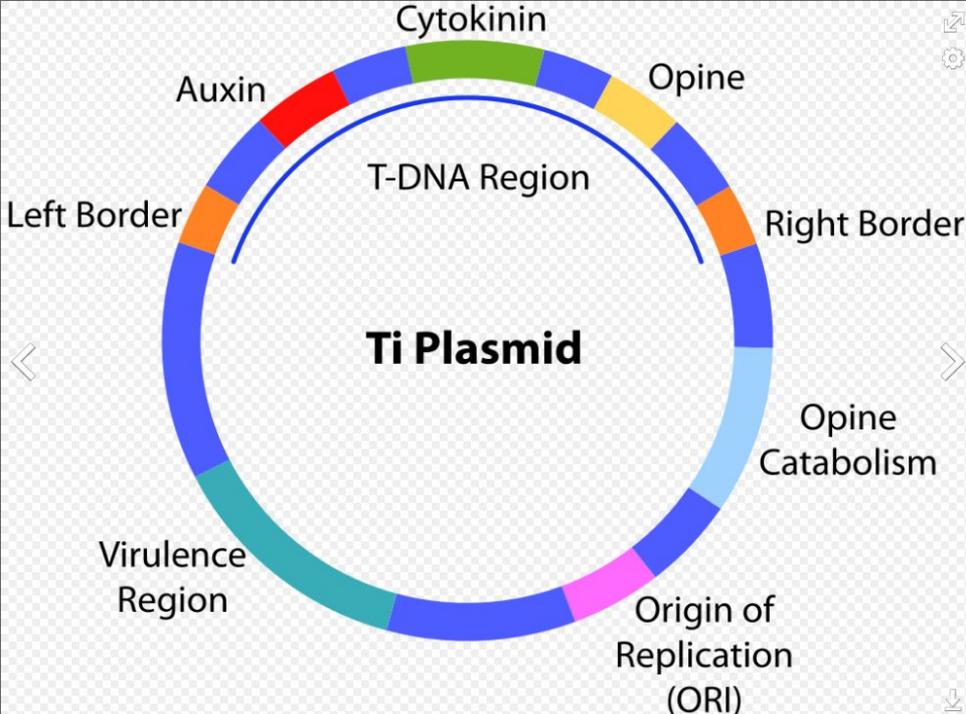
корончатый



Генетическая колонизация растения *Agrobacterium tumefaciens*



1- агробактерии существуют в ризосфере;
2 - строение *A. tumefaciens*; 3 – встраивание Т-ДНК в геном; 4 – образование опухоли



В состав Ti-плазмиды входят участок, встраивающийся в геном растения (Т-ДНК-область), гены **vir-области**, обеспечивающие перенос Т-ДНК в

фитогормонов (**ауксинов** и **цитокининов**) и **опинов** (производных аминокислот).



Т. о., кроме **Т-ДНК** в плаزمидах имеются область, кодирующая функцию конъюгации (Tra), область репликации (Ori V) и область вирулентности (Vir).

Важно отметить, что **все гены, ответственные за перенос и интеграцию генов Т-области**, находятся не в ней самой, а рядом — в области вирулентности—vir-области.

Т-области ограничены прямыми повторяющимися последовательностями по 24—25 п. н., и любая ДНК, вставленная между этими повторами, будет принята за Т-область и перенесена в растительную

Создание коинтегративного вектора на основе Ti-плазмиды:

Pp - расщепление рестриктазой

В результате этого T-ДНК со встроенным геном включается в нативную

Ti-плазмиду, замещая нормальную ДНК. Получаются клетки *A. tumefaciens*, несущие Ti-плазмиду со встроенными в T-сегмент нужными генами. Далее их перенос в кл растения осуществляется обычным способом,

