

# ПОЛУЧЕНИЕ ПРОДУЦЕНТОВ С ПОМОЩЬЮ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

# Схема опыта по генетической инженерии

ЧУЖЕРОДНАЯ ДНК (в самых общих чертах).

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



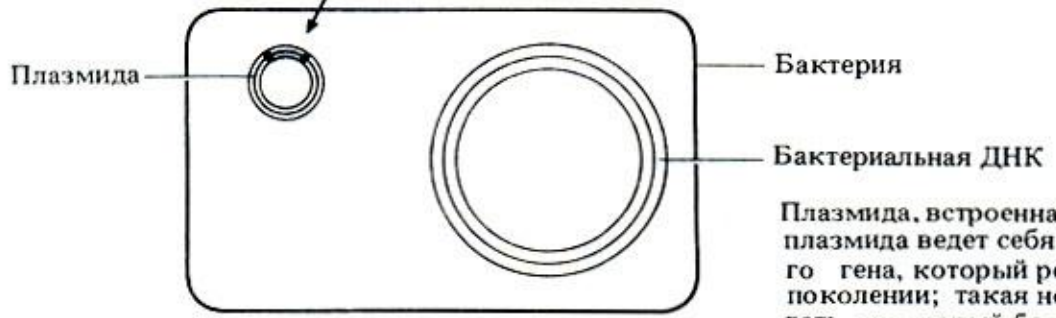
"Липкие концы" – это комплементарные последовательности оснований

ПЛАЗМИДА



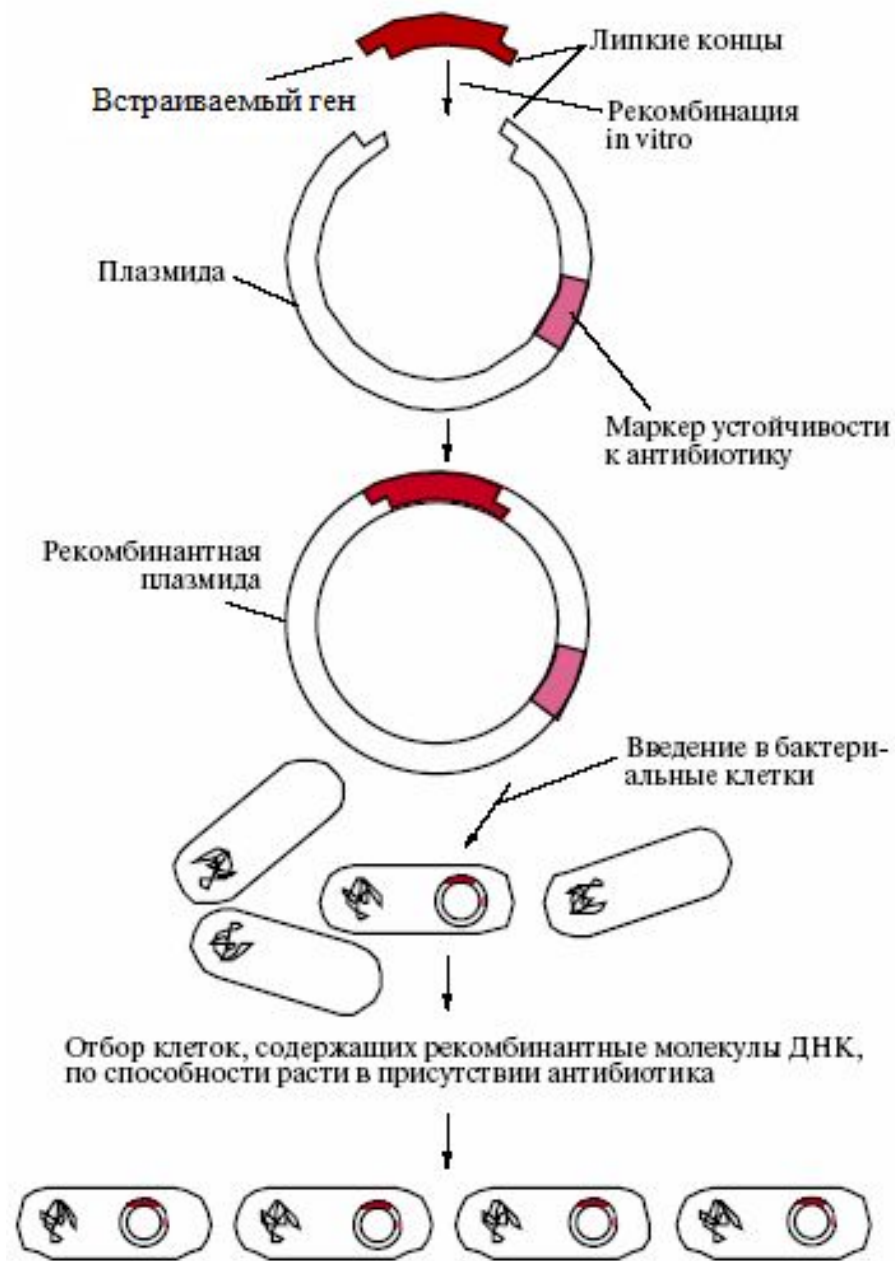
РЕКОМБИНАНТНАЯ ДНК

"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



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**

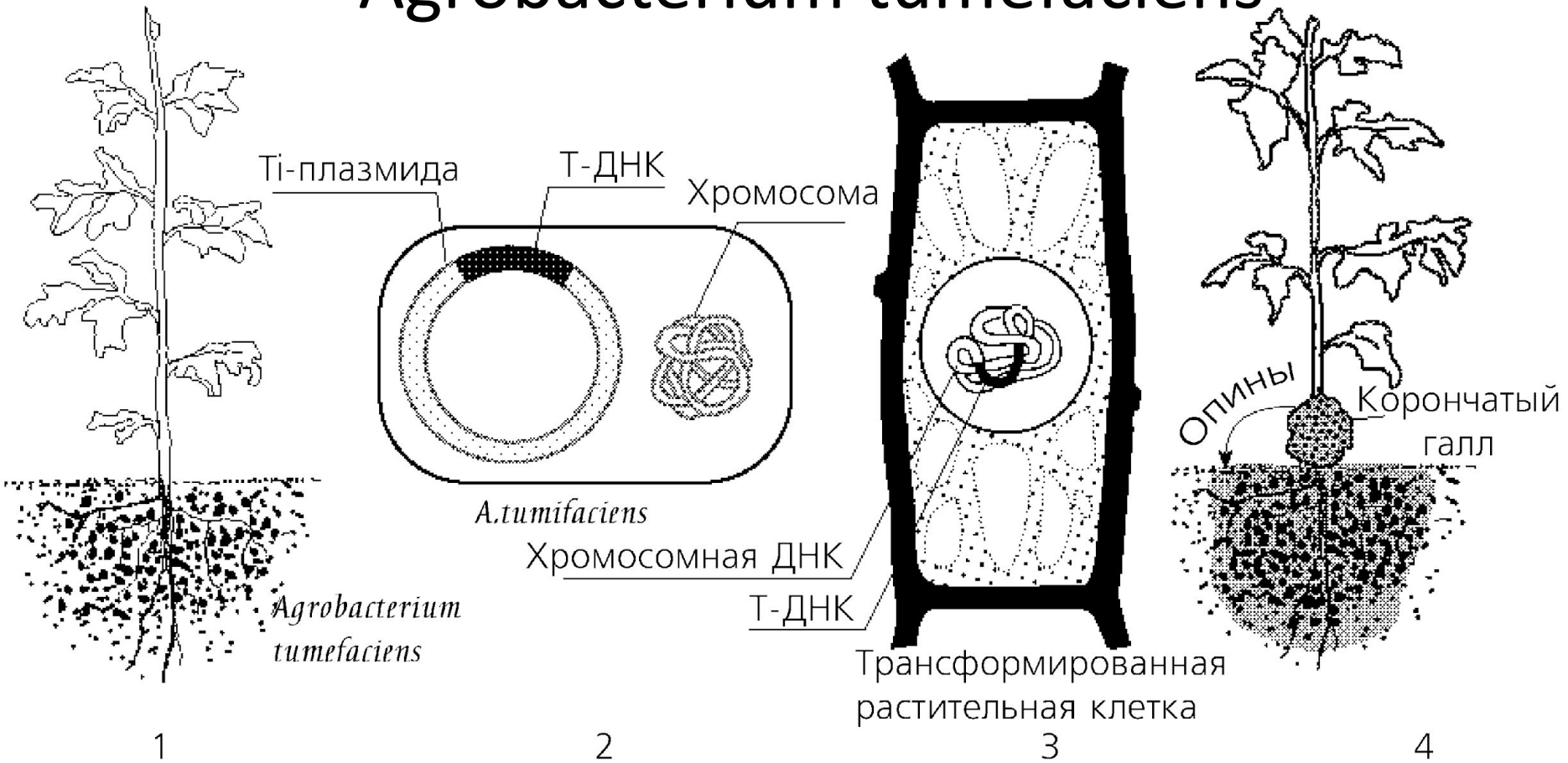


**Галлообразование на морковном ломтике привитом Agrobacterium tumefaciens.**

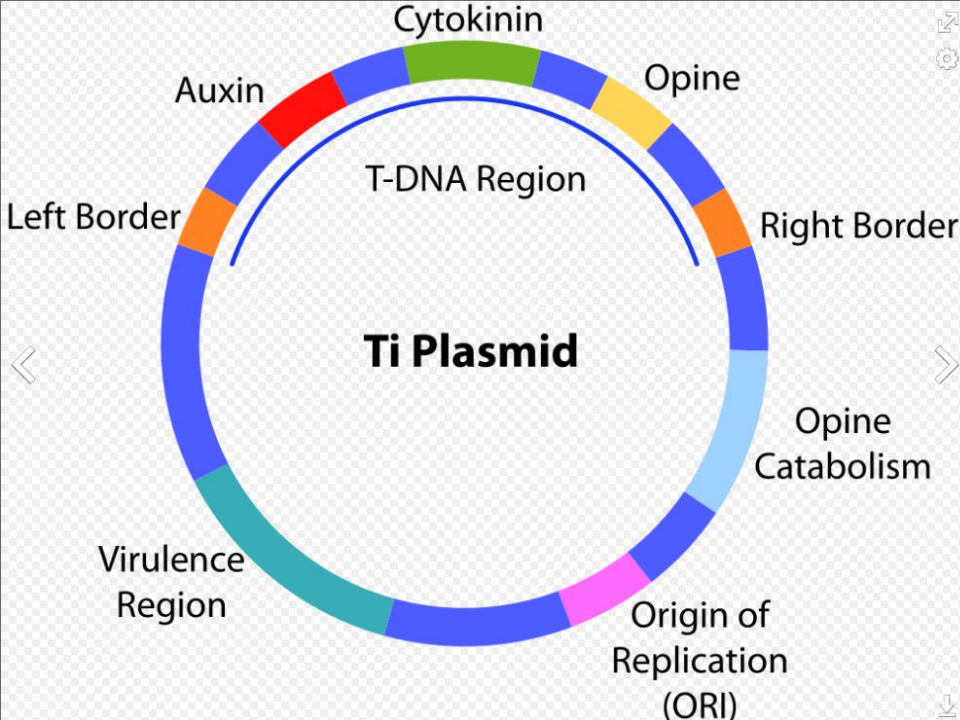


**корончатый**

# 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 **цитокенинов**) и **опинов** (производных аминокислот).



Т. о., кроме **T-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 T-области**, находятся не в ней самой, а рядом — в области вирулентности—vir-области.

**T-области** ограничены прямыми повторяющимися последовательностями по 24—25 п. н., и любая ДНК, вставленная между этими повторами, будет принята за T-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,

