A thick black L-shaped frame surrounds the text. The top-left corner is a horizontal bar extending to the right, and the bottom-right corner is a vertical bar extending upwards. The rest of the frame is implied by the negative space.

ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

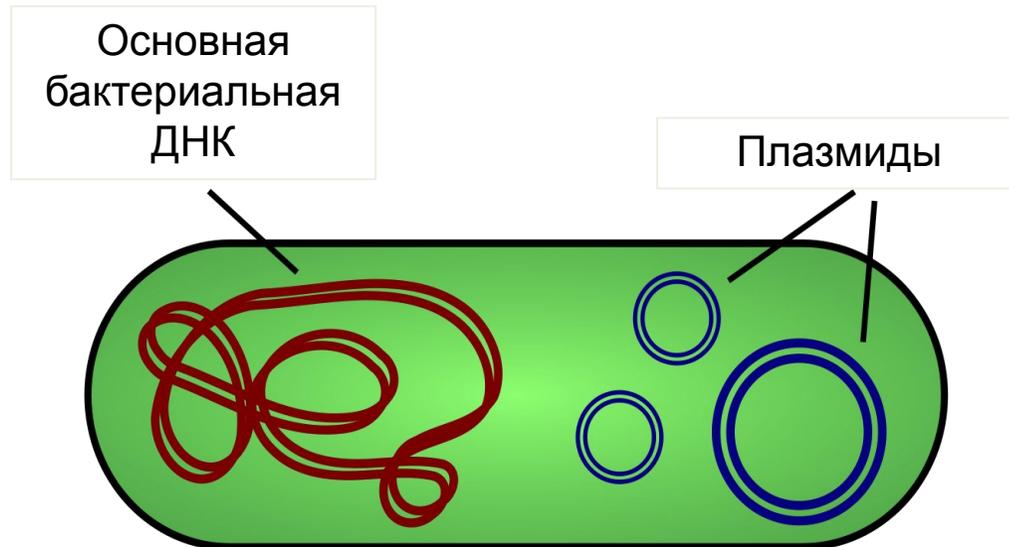
*Зачем придумывать то, что уже придумано
природой?*

Молекулярное клонирование

Плазмиды. Трансфекция

1952 г. – Джошуа Ледерберг открыл бактериальные плазмиды

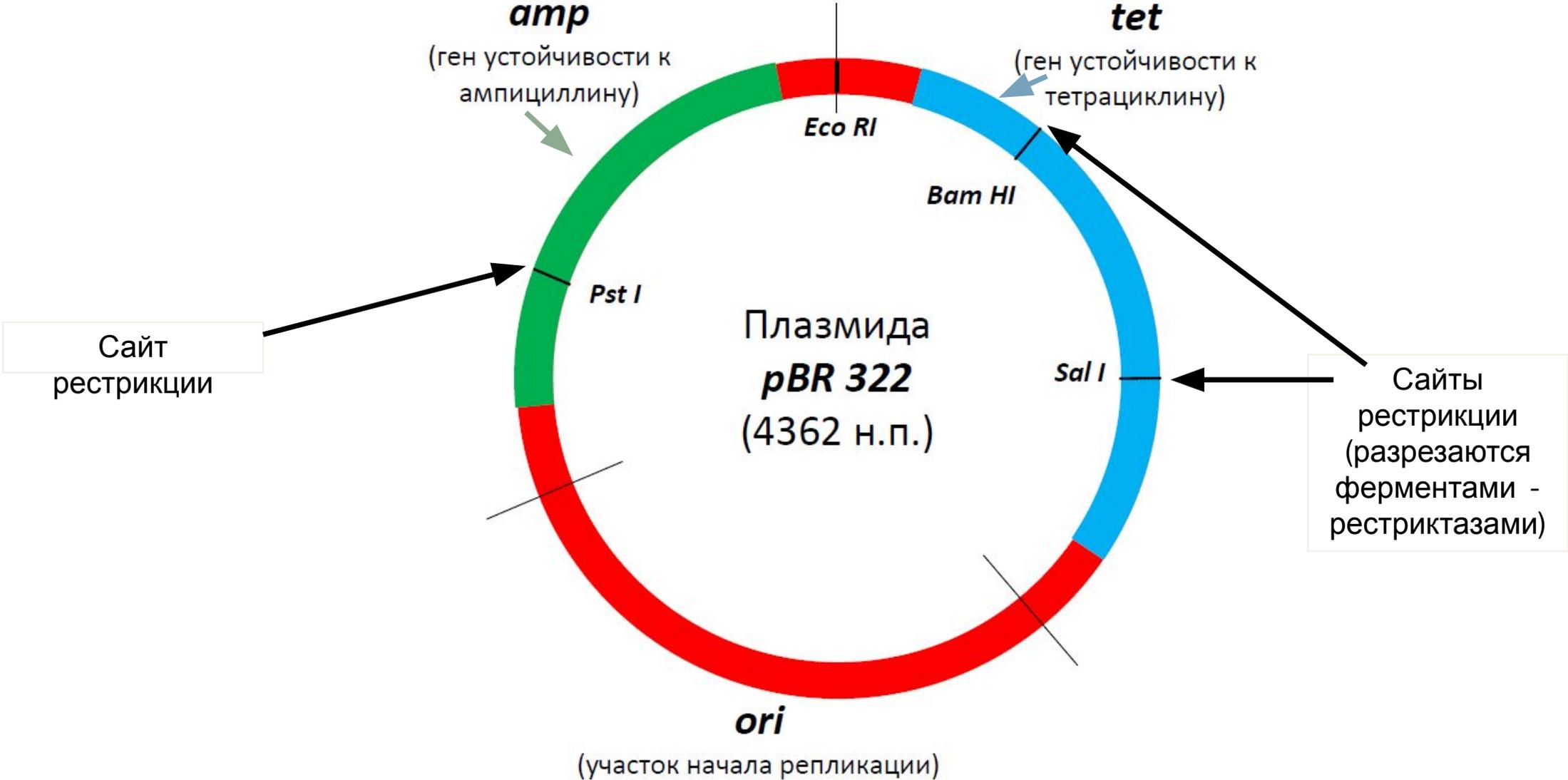
[1958 - Нобелевская премия по физиологии и медицине (совместно с Э.Тейтемом и Дж. Бидлом) за открытия в области генетической рекомбинации и организации генетического материала у бактерий]



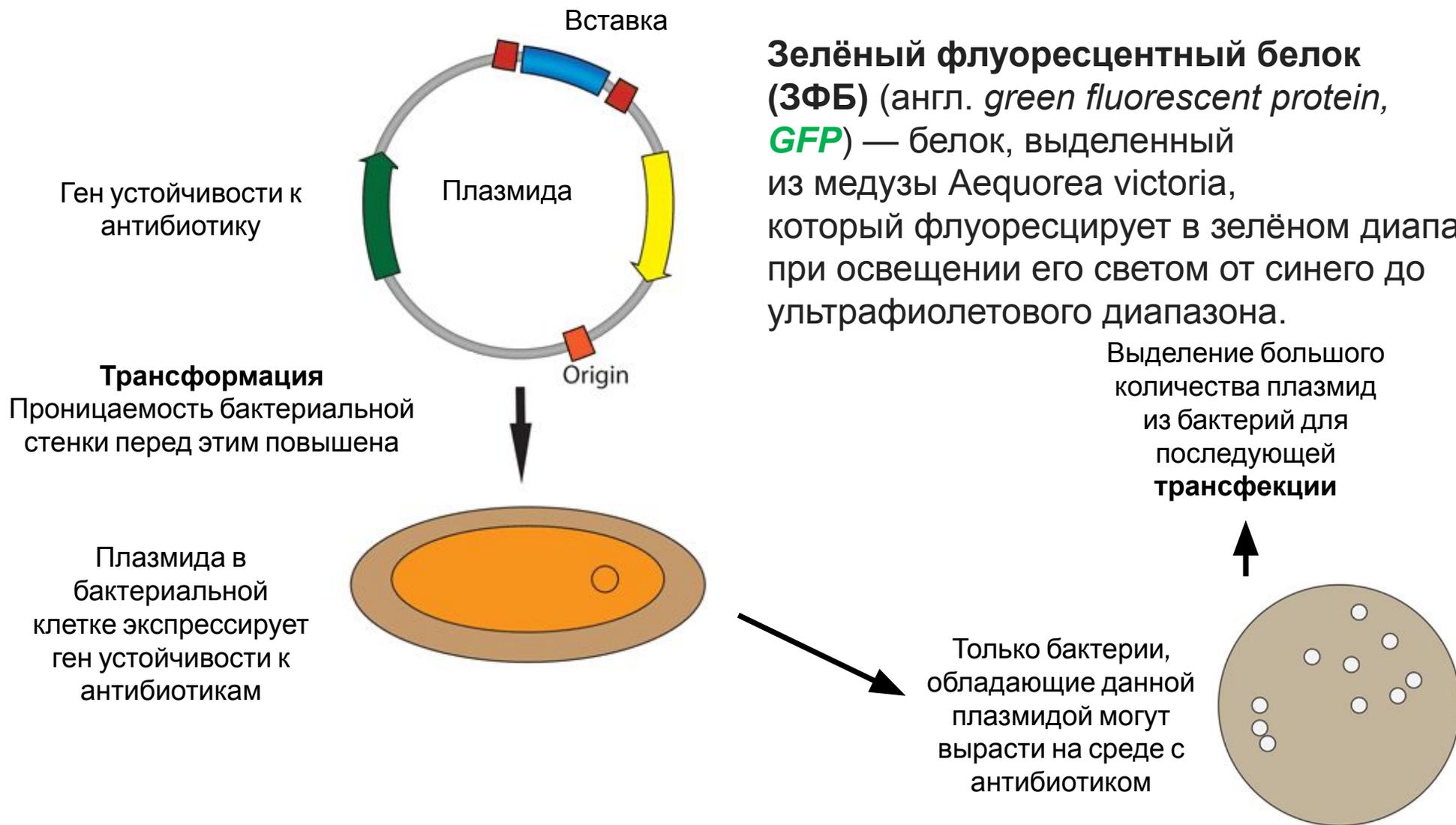
ДЕНЬ ВСЕХ ВЛЮБЛЕННЫХ У БАКТЕРИЙ



Плазмиды. Трансфекция

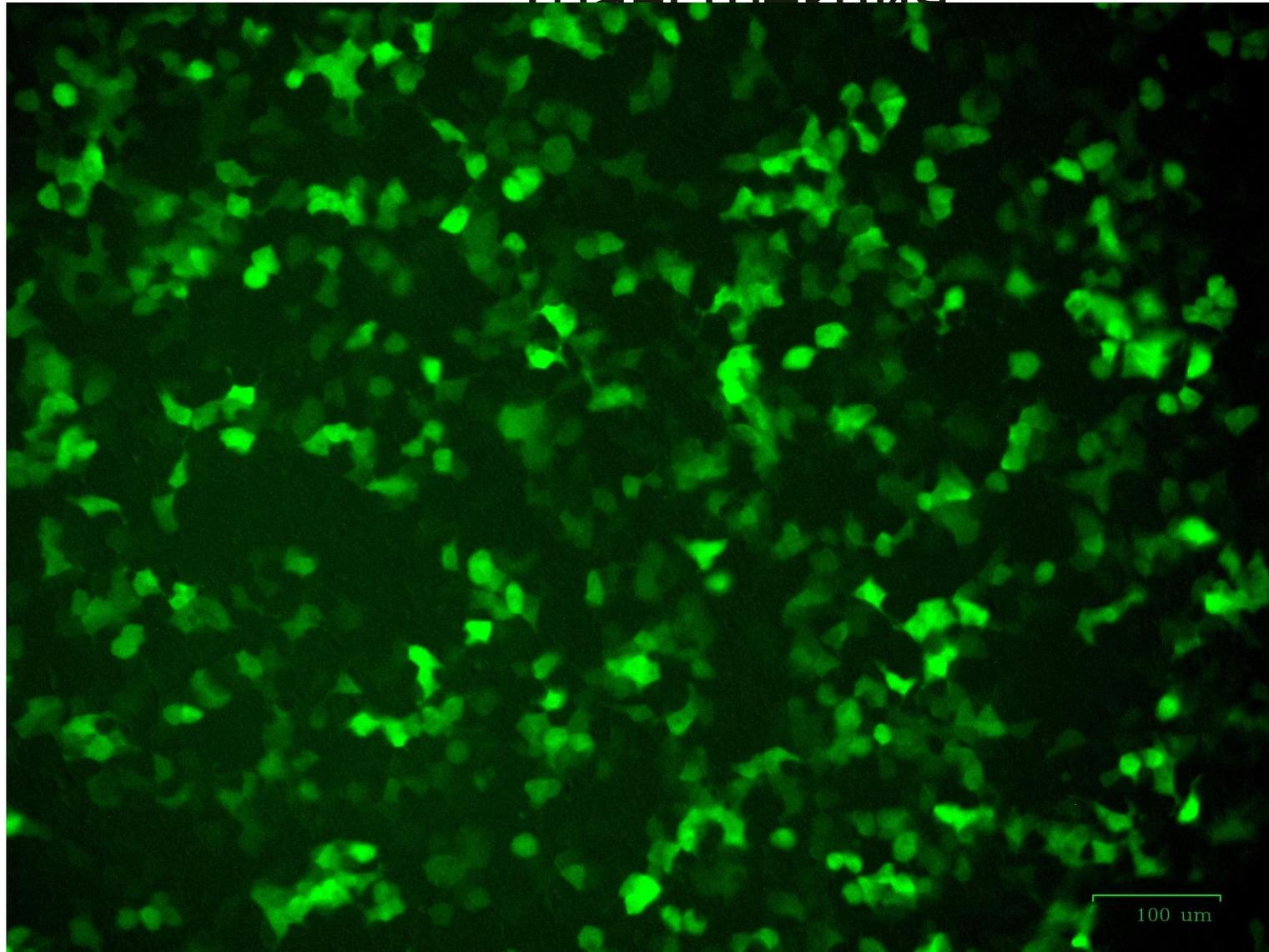


Размножение плазмид

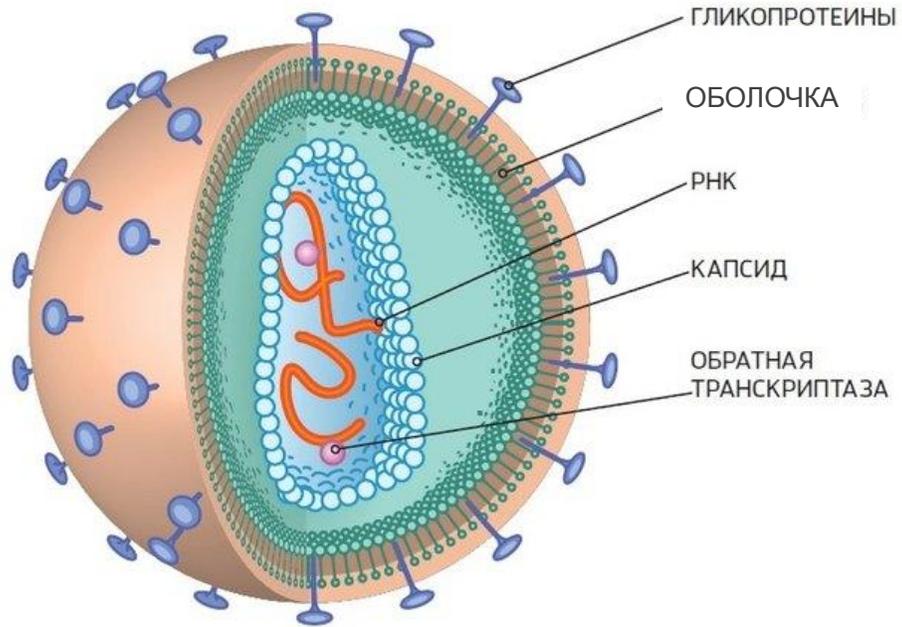


Зелёный флуоресцентный белок (ЗФБ) (англ. *green fluorescent protein*, **GFP**) — белок, выделенный из медузы *Aequorea victoria*, который флуоресцирует в зелёном диапазоне при освещении его светом от синего до ультрафиолетового диапазона.

Трансформация



Вирусы. Трансдукция



Лентивирус

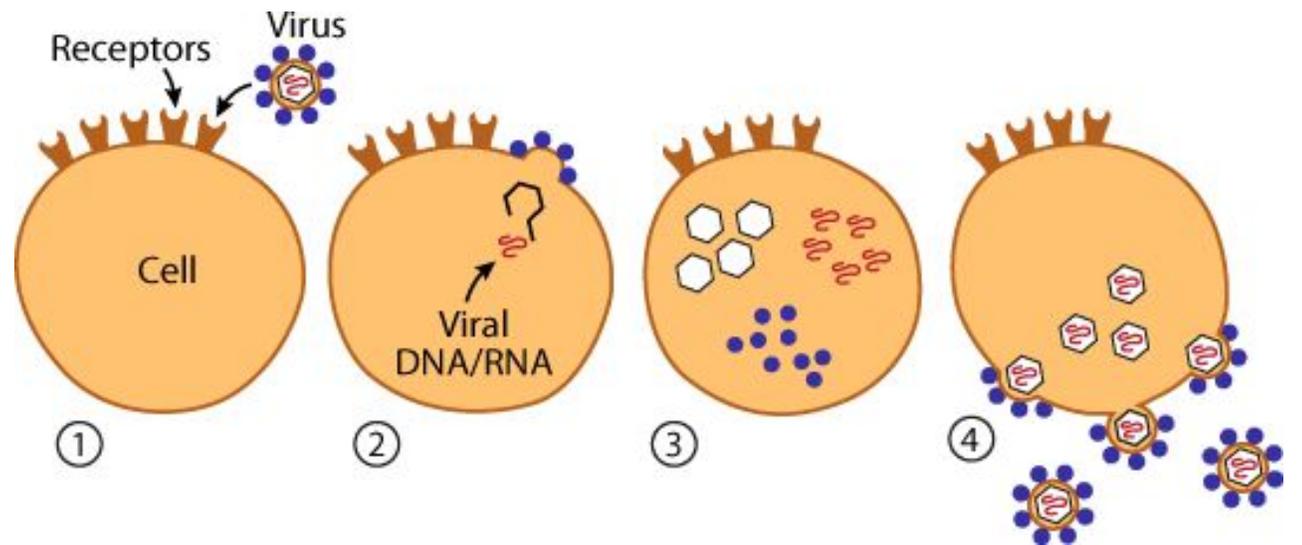
Ретровирусы

Аденовирусы

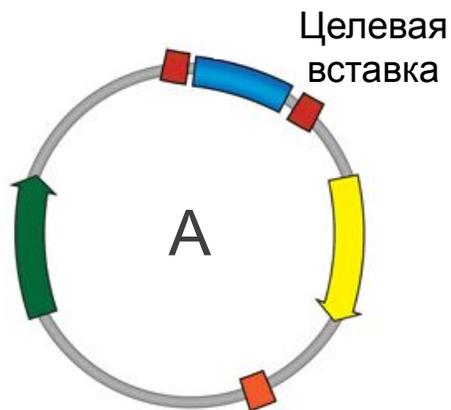
Аденоассоциированны
й вирус

1892 г.- статьи Дмитрия Ивановского, описывающая небактериальный патоген растений табака

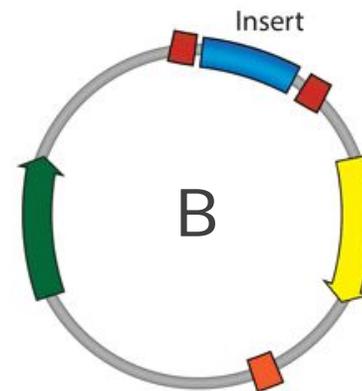
1898 г. - открытие Мартином Бейеринком вируса табачной мозаики



Вирусы. Трансдукция

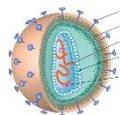


+

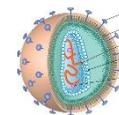


- гены, которые обеспечивают встраивание вирусного генома в геном хозяйской клетки
- точки начала репликации
- селективные маркеры
- наша вставка

- гены белков оболочки
- гены белков, необходимых для самосборки вирусов.

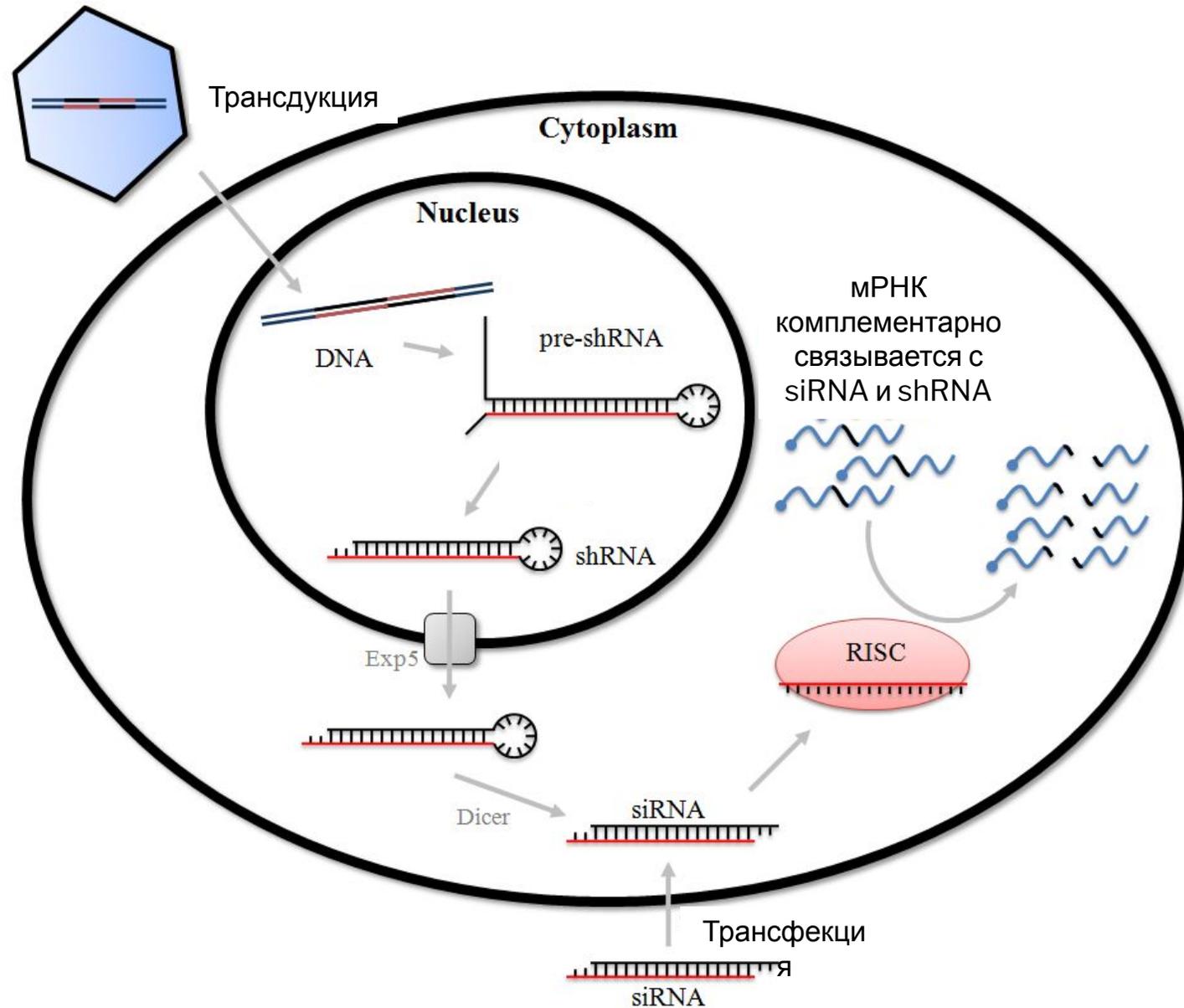


Трансформация клеток, в которых собирается вирус



Трансдукция нужных нам клеток

РНК-интерференция. siRNA и shRNA.



CRISPR/CAS9

CRISPR/Cas9 — это новая технология редактирования геномов высших организмов, базирующаяся на иммунной системе бактерий. В основе этой системы — особые участки бактериальной ДНК, короткие палиндромные кластерные повторы, или CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) и расположенные между ними ДНК-свойсеры.

1980ые – секвенирование бактериального генома – обнаружение CRISPR последовательностей

2000ые – группа биоинформатика **Евгения Кунина** предложила схему работы CRISPR/CAS механизма.

2007 г. - Джона ван дер Оост - статья в Science, подтверждающая принцип работы CRISPR-системы

2010ые - **Эммануэль Шарпентье** – открытие и изучение белка CAS9

2012 г. - **Дженнифер Дудны, Эммануэль Шарпентье** и коллеги предложили способ перепрограммирования системы CRISPR/Cas таким образом, чтобы она стала разрезать ДНК в участках, целенаправленно выбранных исследователем (в пробирке)

В тоже время работы групп **Джорджа Черча и Фенга Жанга** показали способность CRISPR системы направленно разрезать ДНК в клетках высших организмов, в частности человека.

CRISPR/CAS



В ДНК бактерий и архей выделяют особый участок - CRISPR-кассету. Она состоит из лидерного участка, регулярно повторяющихся (повторов) и уникальных участков ДНК (спейсеров). CRISPR-кассета вместе с cas-генами и кодируемыми ими cas-белками формирует CRISPR-систему [6]

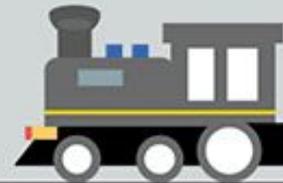
Структура CRISPR-системы



cas-гены

Кодируют белки cas, необходимые для функционирования системы CRISPR/Cas

Лидерная последовательность



Отвечает за увеличение количества спейсеров после вирусных атак

Повторяющиеся идентичные участки (повторы)



Уникальные участки ДНК (спейсеры)

Появляются после вирусных инфекций и необходимы для приобретенного иммунитета.

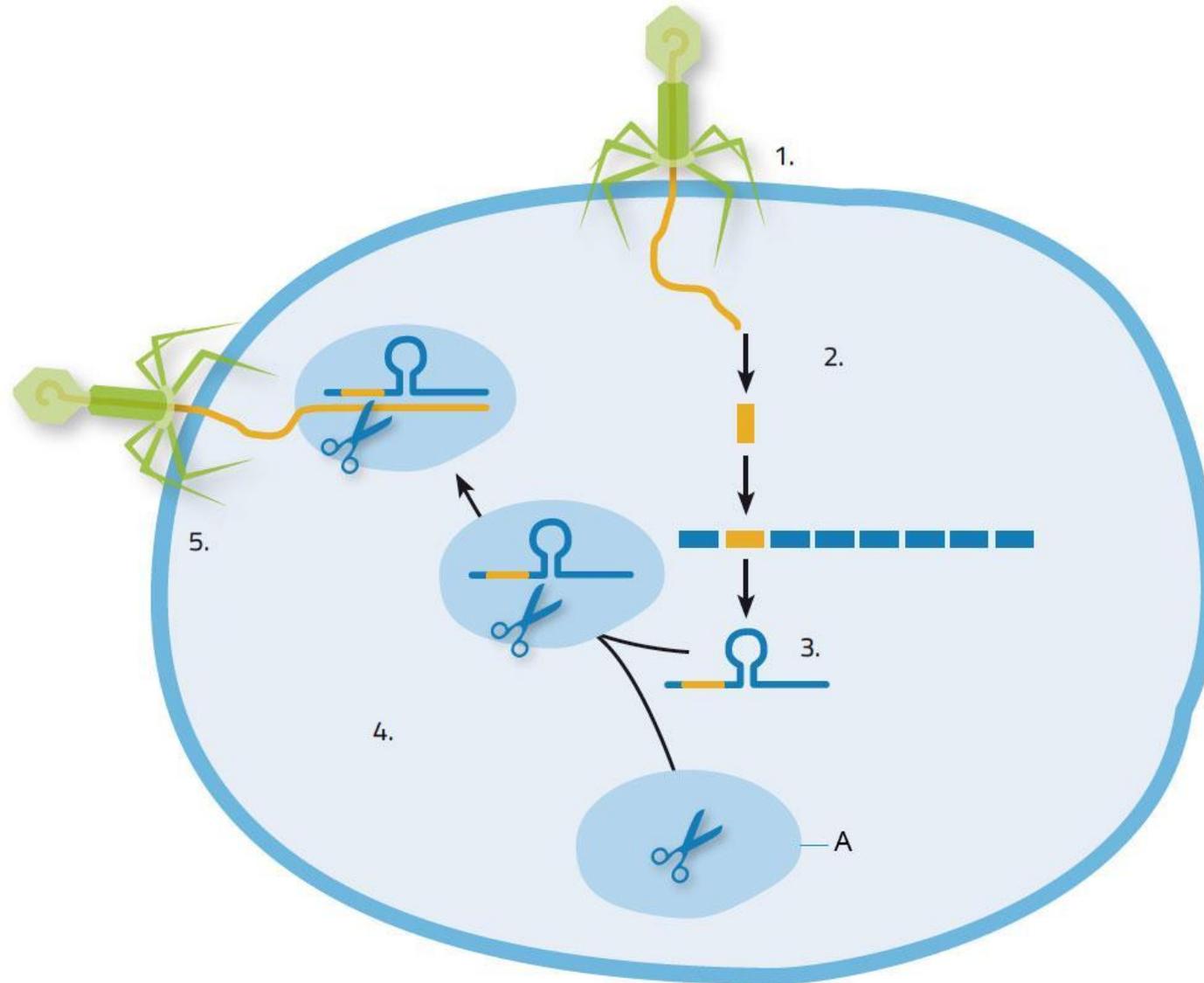
CRISPR/CAS

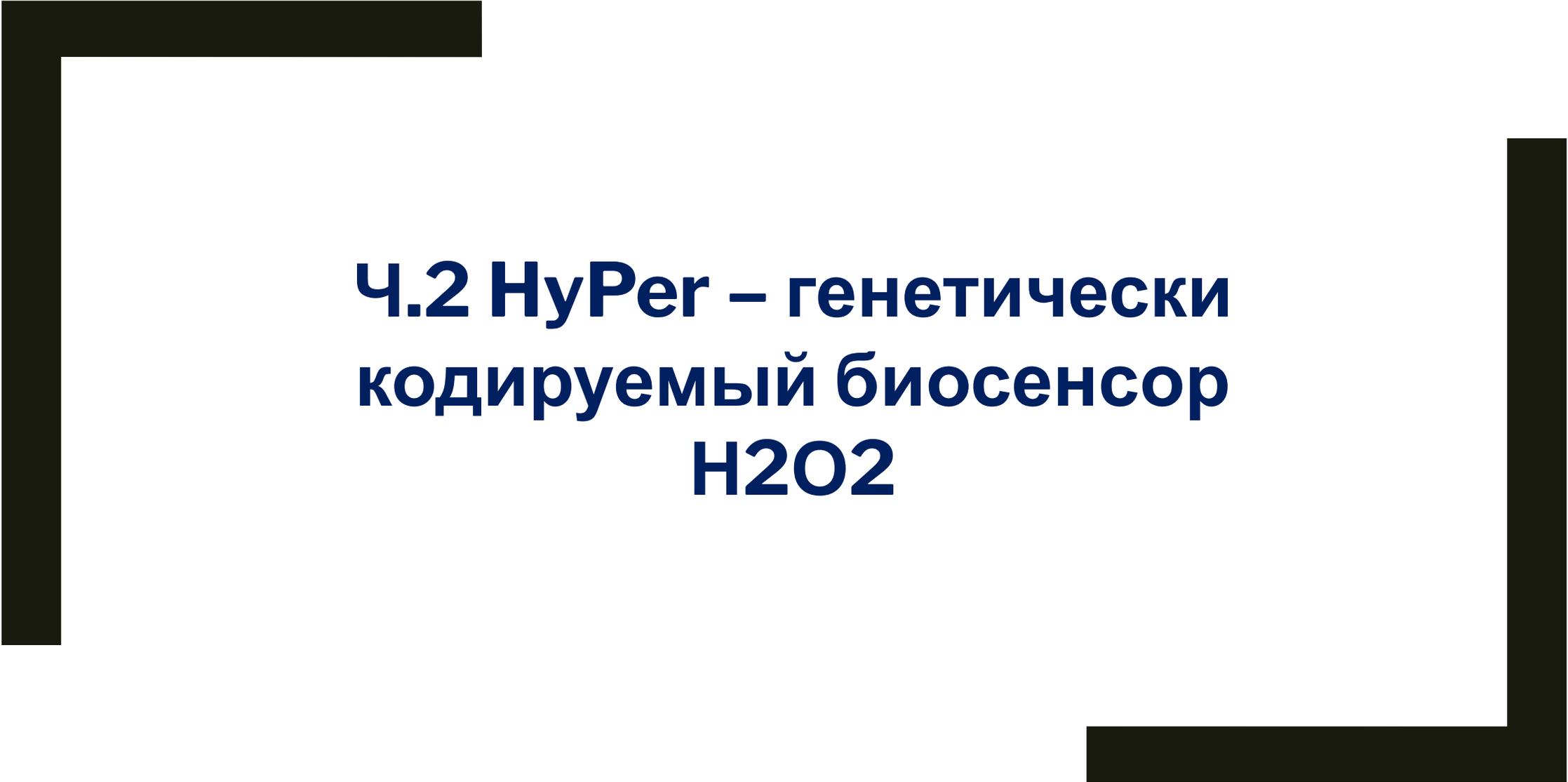


Как же появляются спейсеры?^[6]



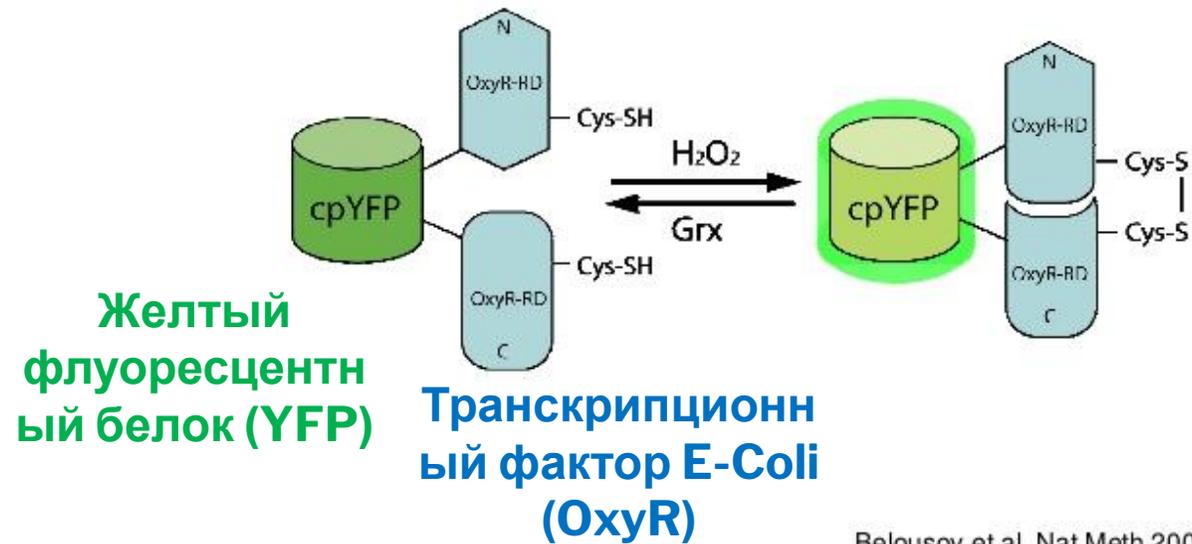
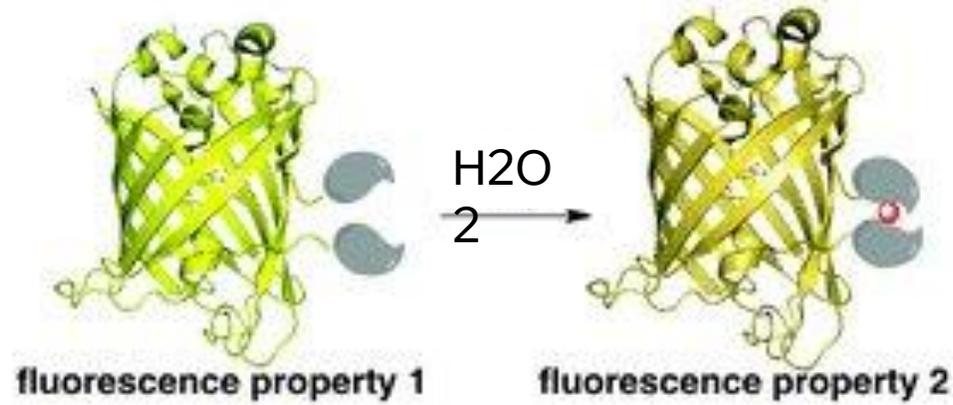
CRISPR/CAS9



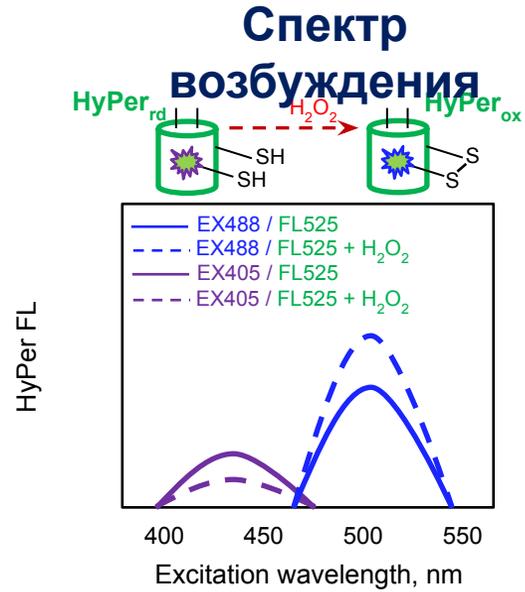


**Ч.2 НуPer – генетически
кодируемый биосенсор
H2O2**

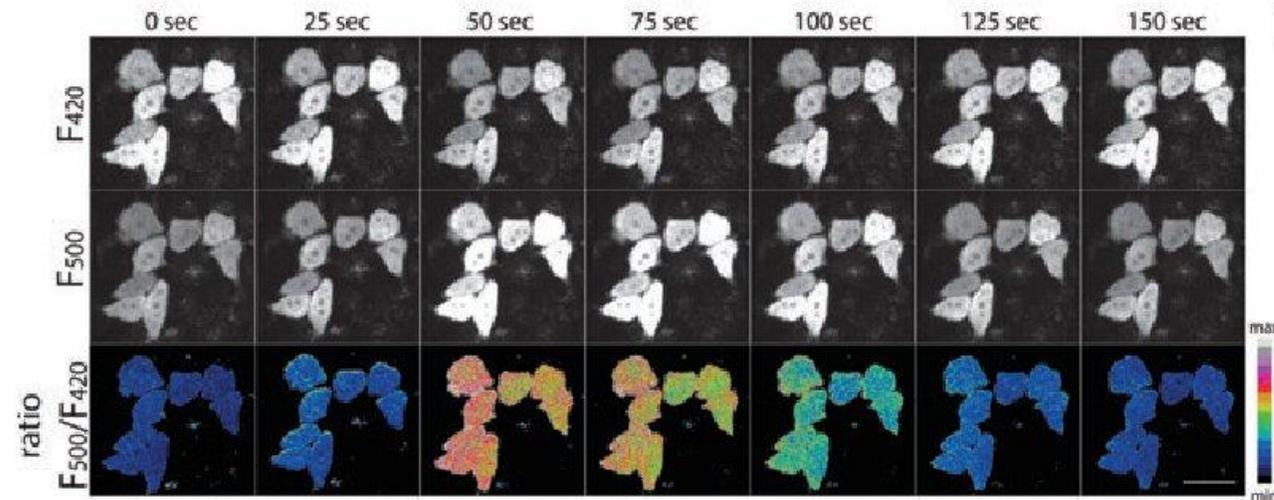
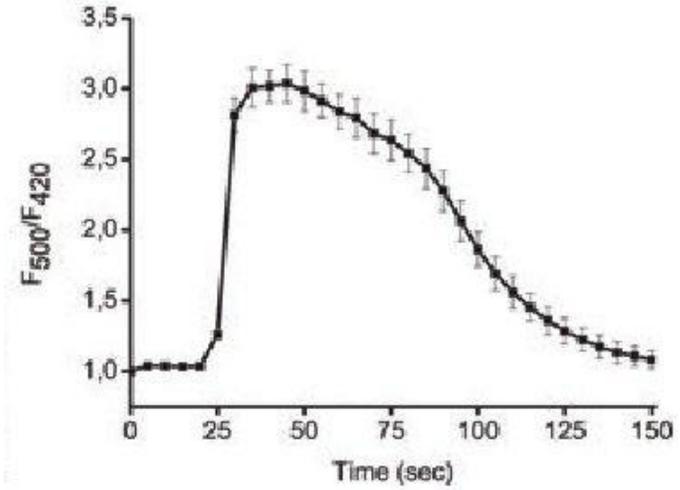
Структура биосенсора



Оптические свойства HyPer

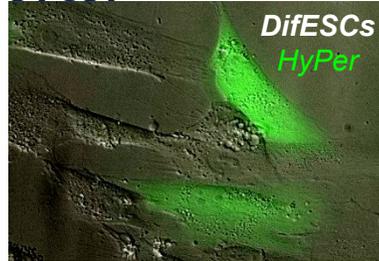
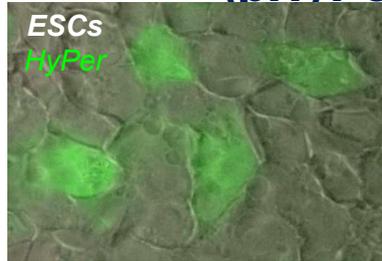


Рациометрический сигнал (ratio)

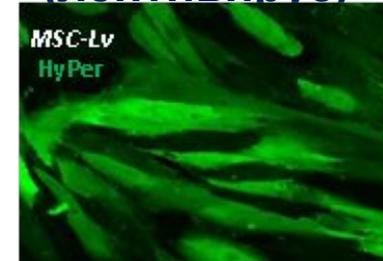


Экспрессия HyPer в клетках

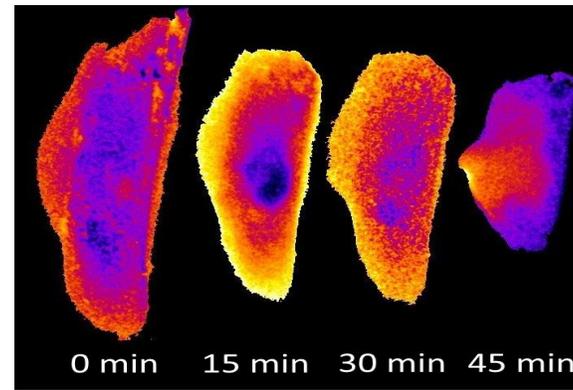
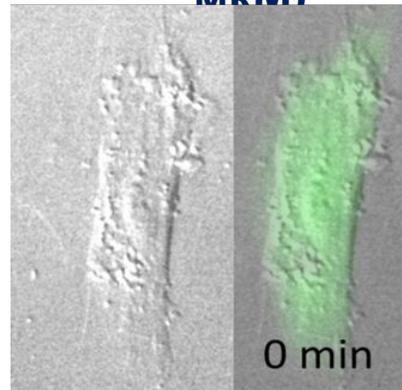
Трансфекция (pHyPer-cyto)



Трансдукция (лентивирус)

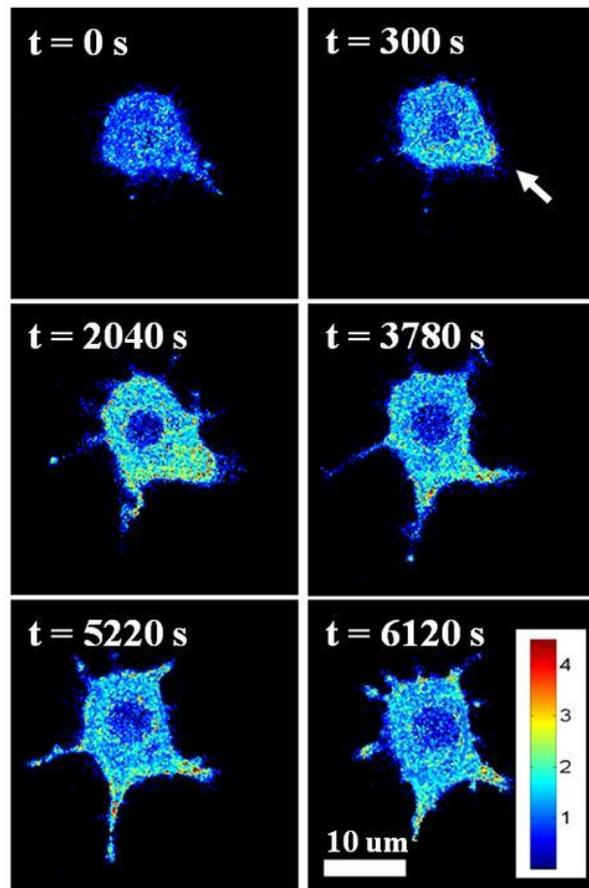


Инкубация клеток с H₂O₂ (500 мкМ)



Измерения внутриклеточного уровня H2O2

Подвижность клеток



Воспалительные реакции в организме

