The background is a dark grey surface with various white chalk-like sketches. On the left, there is a detailed drawing of a microscope. Above it, a globe of the Earth is sketched. In the bottom right corner, there are sketches of a percentage sign, an exclamation mark, and a right-angle symbol. The overall theme is scientific and technical.

Введение в генную инженеррию

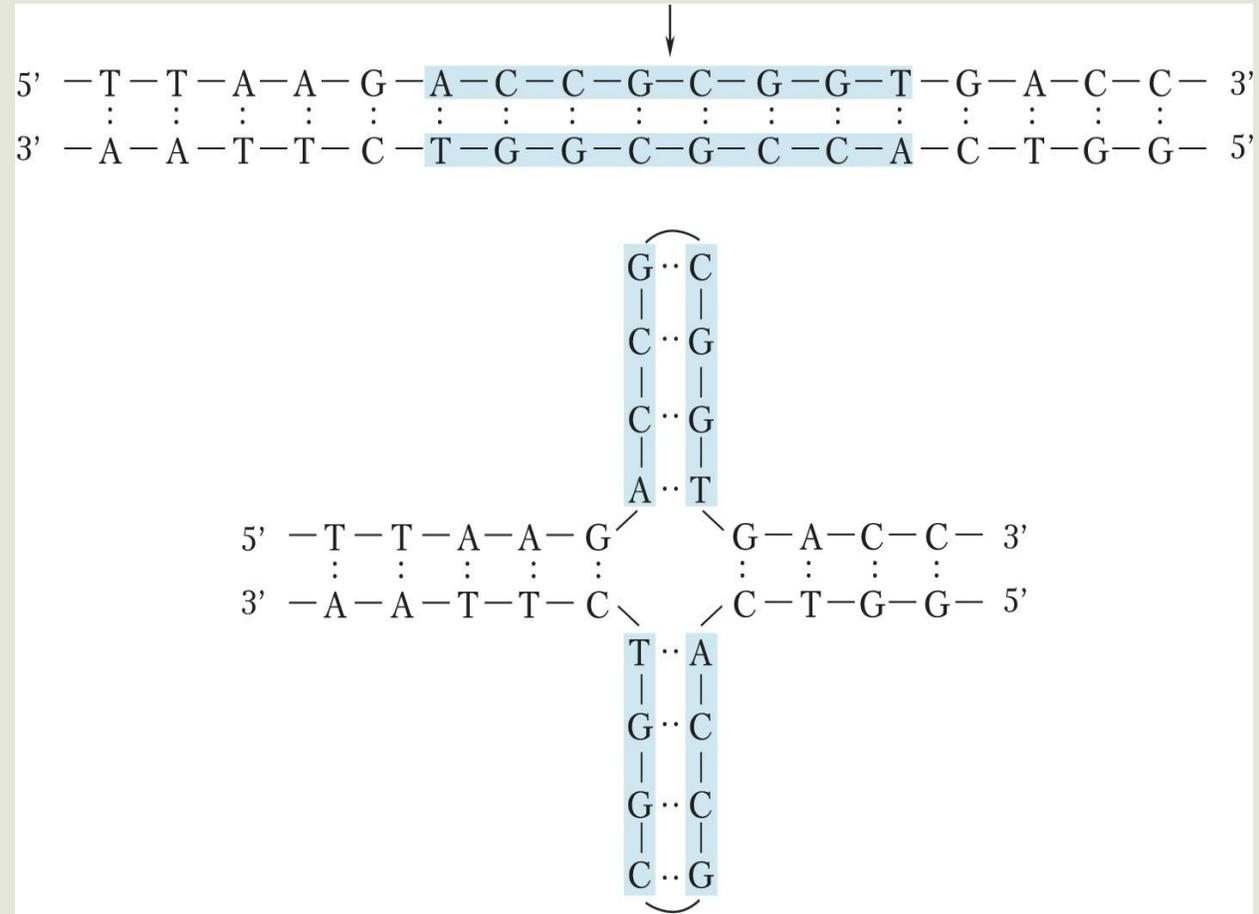
Работу выполнила
Студентка 10111 группы
Афонькина Мария

- **Генетическая инженерия (генная инженерия)** — совокупность приёмов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов из организма (клеток), осуществления манипуляций с генами, введения их в другие организмы и выращивания искусственных организмов после удаления выбранных генов из ДНК. Генетическая инженерия не является наукой в широком смысле, но является инструментом *биотехнологии*, используя методы таких биологических наук, как молекулярная и клеточная биология, генетика, микробиология, вирусология.

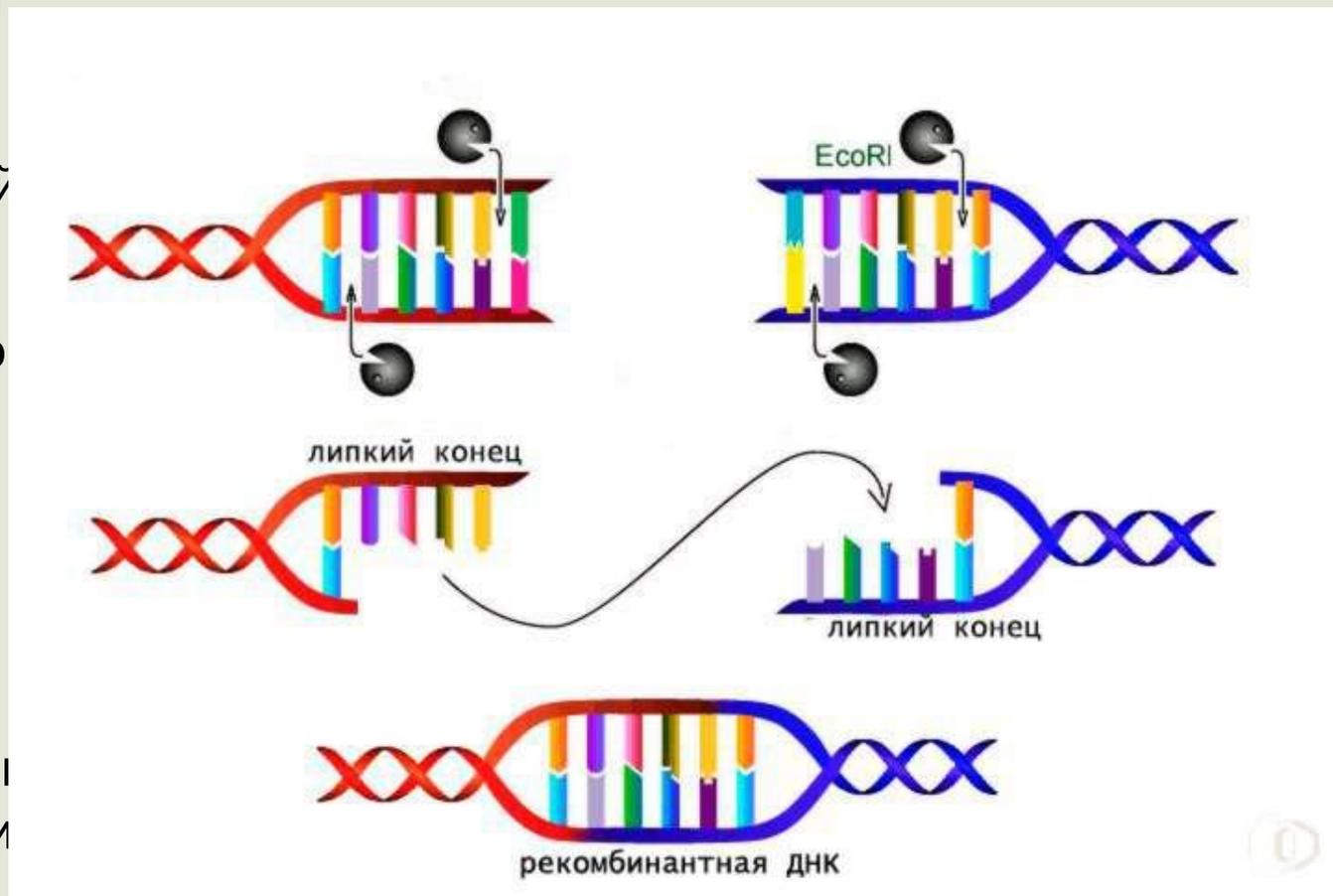
- 
- Генная инженерия возникла в 1972 г., когда в лаборатории П. Берга была получена первая рекомбинантная (гибридная) ДНК (рекДНК), в которой были соединены фрагменты ДНК фага лямбда и кишечной палочки с кольцевой ДНК обезьяньего вируса SV40. С конца 1980-х гг. генетически модифицированные растения начинают использоваться в сельском хозяйстве.

Палиндромы и рестриктазы

- Палиндром (palindrome): последовательность ДНК, состоящая из смежных инвертированных повторов, одинаково считывающихся и в левом направлении одной цепи, и в правом направлении другой цепи.
- Палиндромные последовательности — это последовательности оснований, которые одинаково читаются вперед и назад, как, например, последовательность букв в слове «радар».
- Поскольку цепи ДНК обладают антипараллельным направлением, то считают, что последовательность является палиндромной, если она идентична, когда читается в направлении от 5'-к 3'-концу на верхней и 3'-к 5'-концу на нижней цепи.

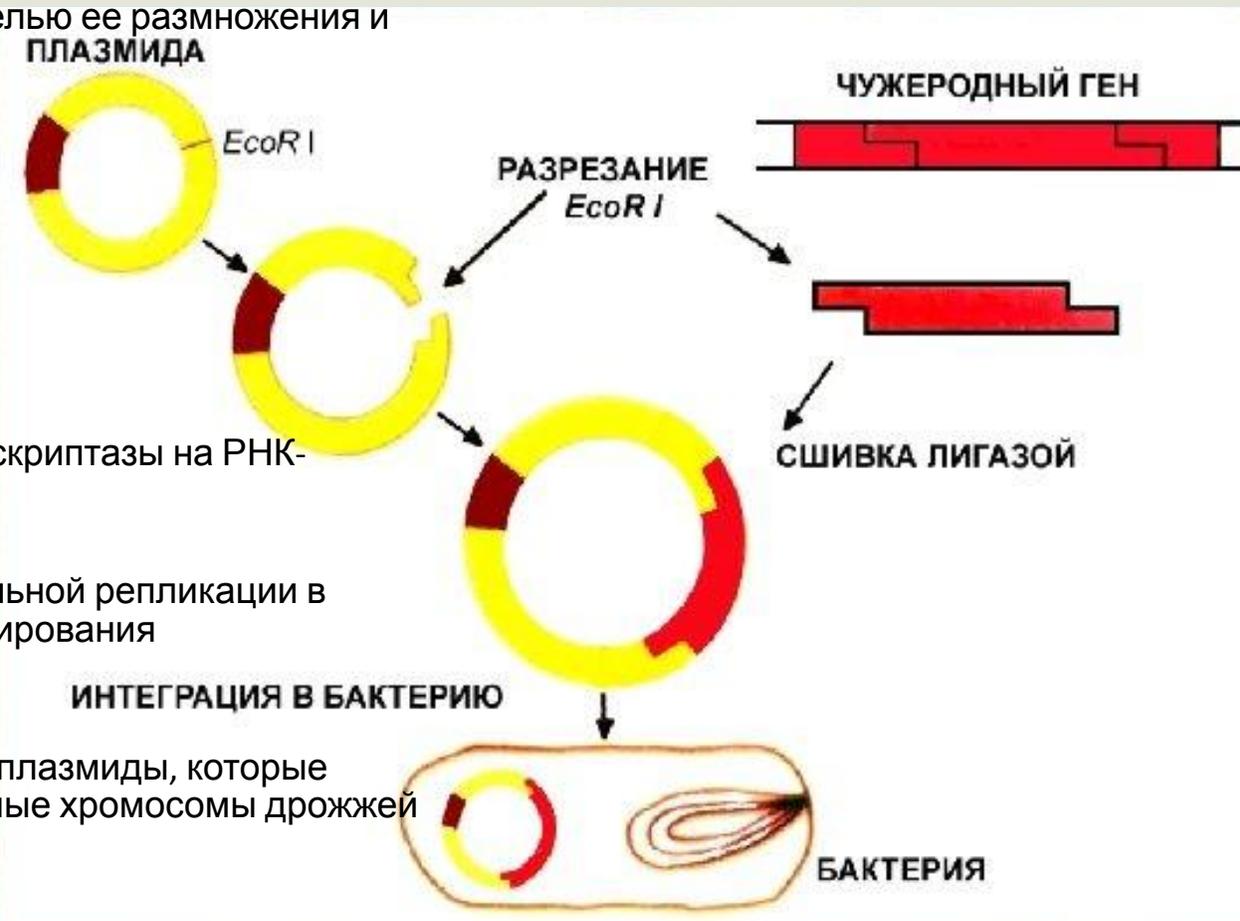


- Действие системы рестрикции-модификации «рационализуется» так называемыми палиндромными (распознающими последовательностями) азотистых оснований которые являются сайтами рестрикции ДНК.
- Палиндромы могут быть любых размеров, но большинство тех палиндромов, которые используют в качестве сайтов узнавания рестриктазами, состоят из 4, 5, 6 и реже 8 оснований.
- Рестриктазы — это абсолютно необходимый инструмент в генной инженерии для вырезания интересующих фрагментов (генов) из больших молекул ДНК.



Концепция создания рекомбинантной ДНК: вектор – вставка

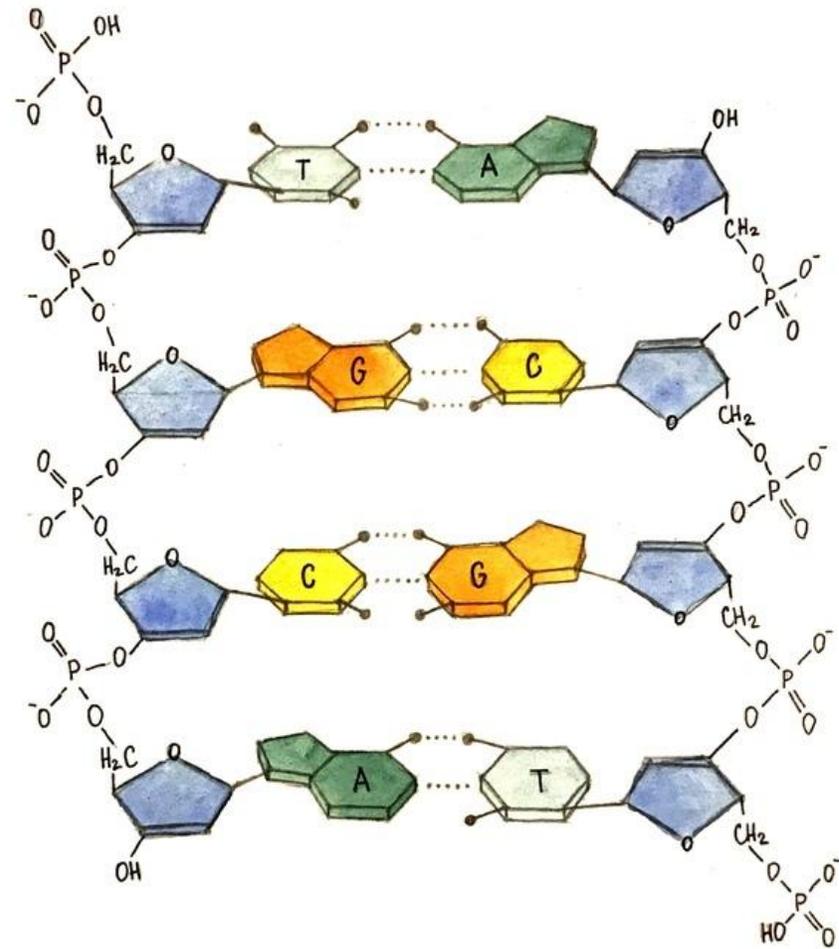
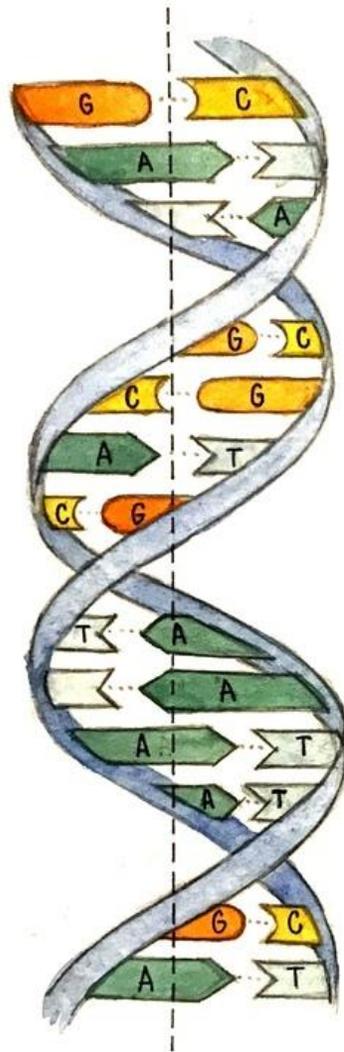
- Вставка – это чужеродная ДНК, встроенная в вектор. Вектор – это молекула ДНК, которую используют для переноса рекомбинантной ДНК в клетку-хозяина с целью ее размножения и клонирования.
- Для вставки используют:
 - ⊗ Геномную ДНК, выделенную из клеток
 - ⊗ Гены, синтезированные *in vitro*
 - ⊗ Копии ДНК (кДНК), полученные с помощью фермента обратной транскриптазы на РНК-матрице
- Вектор должен содержать точку начала репликации для самостоятельной репликации в клетке-хозяине и иметь два селективных маркера для отбора и клонирования трансформированных клеток хозяина
- В качестве генетических векторов используют: Плазмиды, Космиды (плазмиды, которые содержат *cos*-сайты фага λ), Бактериофаги, Вирусы, *Yac* – искусственные хромосомы дрожжей



Тканеспецифический промотор

- **Тканеспецифический промотор**— промотор, обеспечивающий специфическую экспрессию гена в определенном типе тканей.
- Повышенный интерес вызывают промоторы гена регулятора трансмембранной проводимости кистозного фиброза (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator – CFTR) и различных генов, специфически экспрессирующихся в мышечных тканях. Установлено, что фрагмент ДНК длиной в 2 т.п.о., фланкирующий ген *CFTR* с 5'-конца, обеспечивает, хотя и на низком уровне, экспрессию трансгенов в клетках дыхательных путей человека и мышей как *in vitro*, так и *in vivo*.
- Эксперименты такого рода приближают то время, когда экспрессия трансгенов в процессе генотерапии будет строго управляемой и тканеспецифической, что является необходимым условием использования генотерапии для лечения заболеваний человека

- В генетике **комплементарная ДНК (кДНК)** - это ДНК, синтезируемая из одноцепочечной РНК в реакции, катализируемой ферментом обратной транскриптазой. кДНК часто используется для клонирования эукариотических генов у прокариот. В молекулярной биологии кДНК генерируется для анализа транскриптомных профилей в объемной ткани, отдельных клетках или отдельных ядрах в таких анализах, как микрочипы и РНК-seq.



- РНК служит матрицей для синтеза кДНК. В клеточной жизни кДНК генерируется вирусами и ретротранспозонами для интеграции РНК в геномную ДНК-мишень. В молекулярной биологии РНК очищается от исходного материала после удаления геномной ДНК, белков и других клеточных компонентов. Затем кДНК синтезируется путем обратной транскрипции *in vitro*
- Очистка РНК
- Обратная транскрипция

Для создания молекулы кДНК, необходимо:

1. изолировать ДНК из клетки-донора (будь то животная клетка или клетка растения),
2. обработать выделенную ДНК и плазмиду (молекулу-вектор) одними и теми же рестриктазами и смешать их вместе. “Липкие концы” донорской ДНК образуют водородные связи с липкими концами плазмиды, затем происходит “сшивание” рекомбинантной молекулы с помощью лигаз.
3. Модифицированная плазида переносится в бактерию, которая потом увеличивает копии той генетической информации, которую мы внесли в плазмиду.

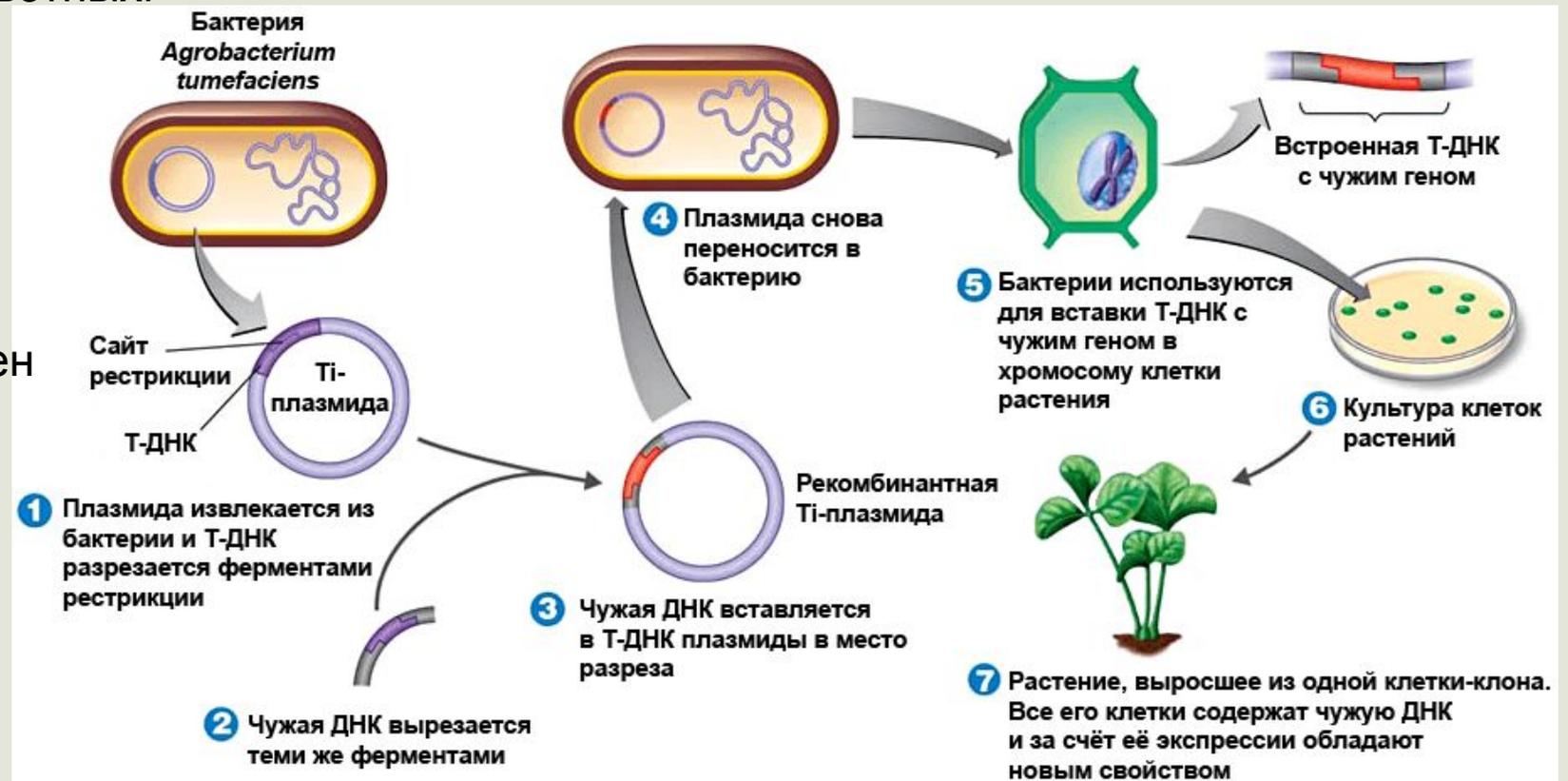
Процедура получения и использования синтетической генной продукции, состоит из нескольких этапов

1. Внедрение интересующего исследователей гена
2. Введение рекомбинантной (гибридной) векторной ДНК в клетку
3. Отбор клеток, экспрессирующих введённый ген (молекулярное клонирование)
4. Культивирование отобранных клонов.
5. Введение чужеродного гена в организм
6. Трансформация бактериальных клеток
7. Избирательная инактивация гена

Трансгендерные растения

- Трансгенными могут называться те виды растений, в которых успешно функционирует ген (или гены) пересаженные из других видов растений или животных.

Трансгенные растения используются для экспрессии белков, таких как криотоксины, генов, устойчивых к гербицидам, антител, и антигенов для вакцинации. Трансгенная морковь была использована для производства препарата Талиглуцераза альфа, который используется для лечения болезни Гоше



Семена ГМ-сои содержат намного больше
олеиновой кислоты, из которой получают
высококачественное и полезное для здоровья масло

картофель, устойчивый
к колорадскому жуку



сахарный тростник более
устойчив к засухам



Хлопок, который
не едят бабочки

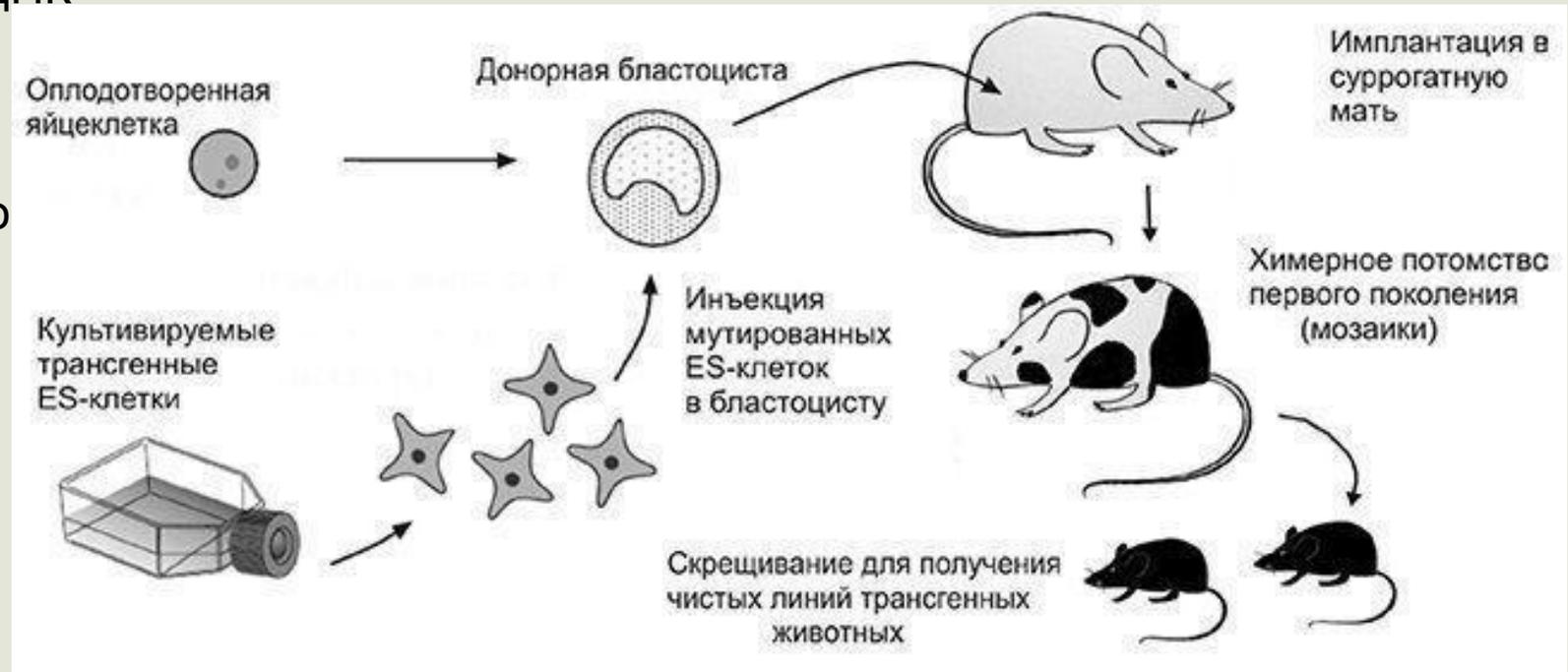


кукуруза устойчива к определенному
классу гербицидов, а сорняки нет



Трансгенные животные

- Экспериментально полученные животные, содержащие во всех клетках своего организма дополнительную интегрированную с хромосомами и экспрессирующуюся чужеродную ДНК (трансген), которая передается по наследству по законам Менделя. Получение трансгенных животных осуществляется с помощью переноса клонированных генов (ДНК) в ядра оплодотворенных яйцеклеток или эмбриональных стволовых клеток.



Трансгенная
мышь с геном
гормона роста
человека



Контроль

