

Γ' ΛΥΚΕΙΟΥ

ΚΕΦ. 4

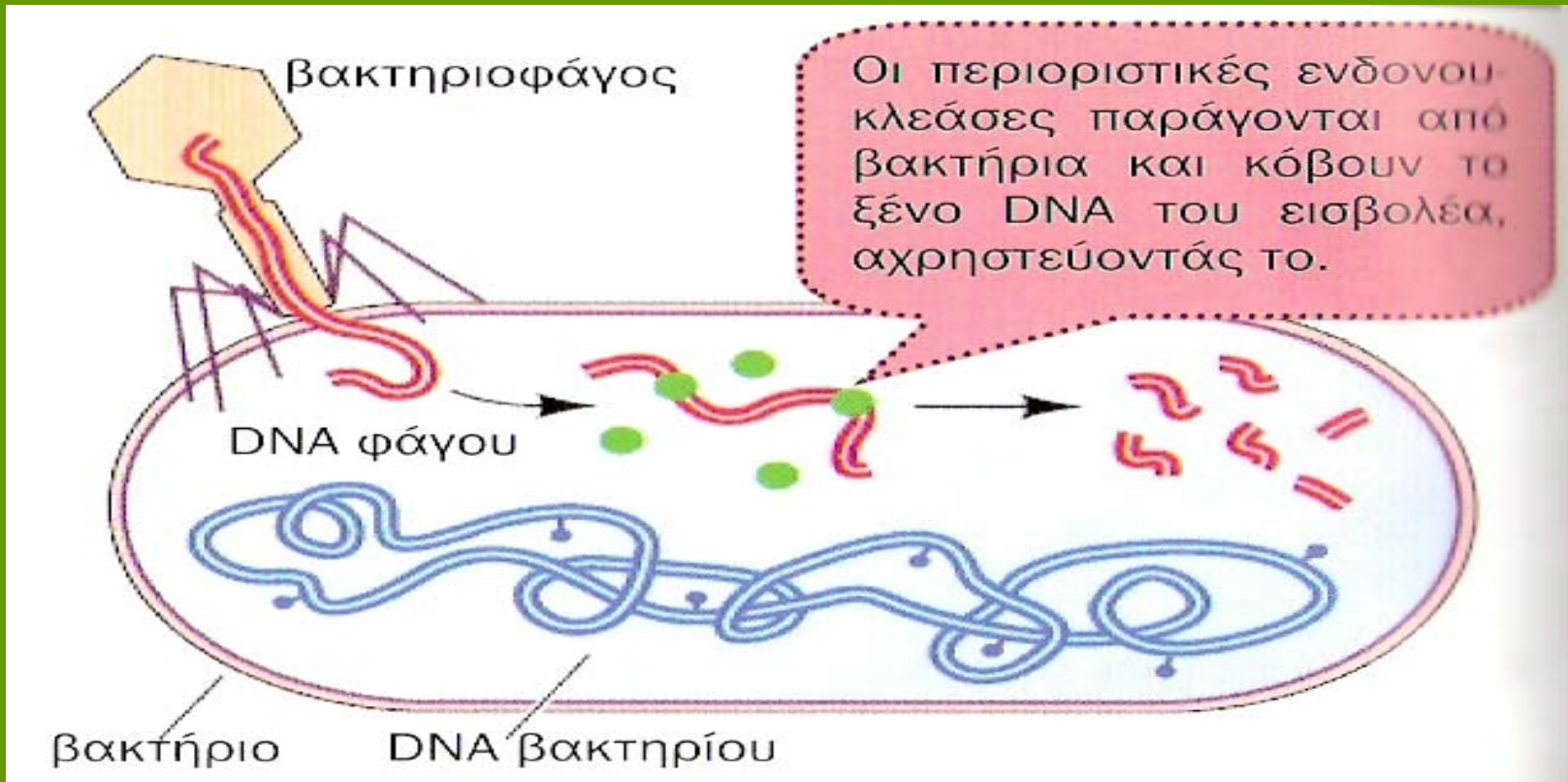
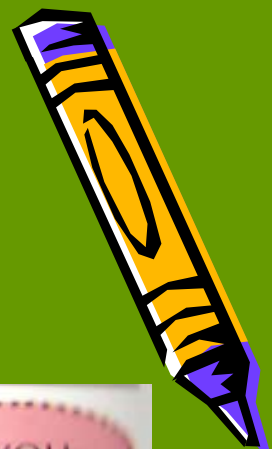
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΟΥ DNA



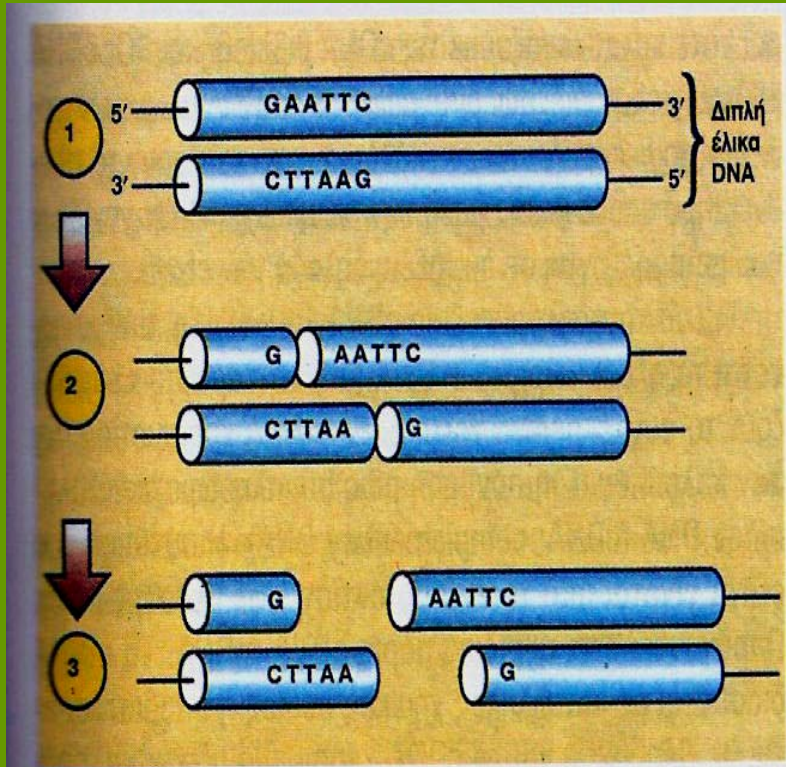
Ζαφτζιάν Μαριλένα
Πειραματικό Σχολείο Πανεπιστημίου Μακεδονίας

Εικόνα 4.1: Ποντίκι πριν πλύνει τον εγκέφαλό του

Περιοριστικές ενδονουκλεάσες (ο φυσιολογικός τους ρόλος)



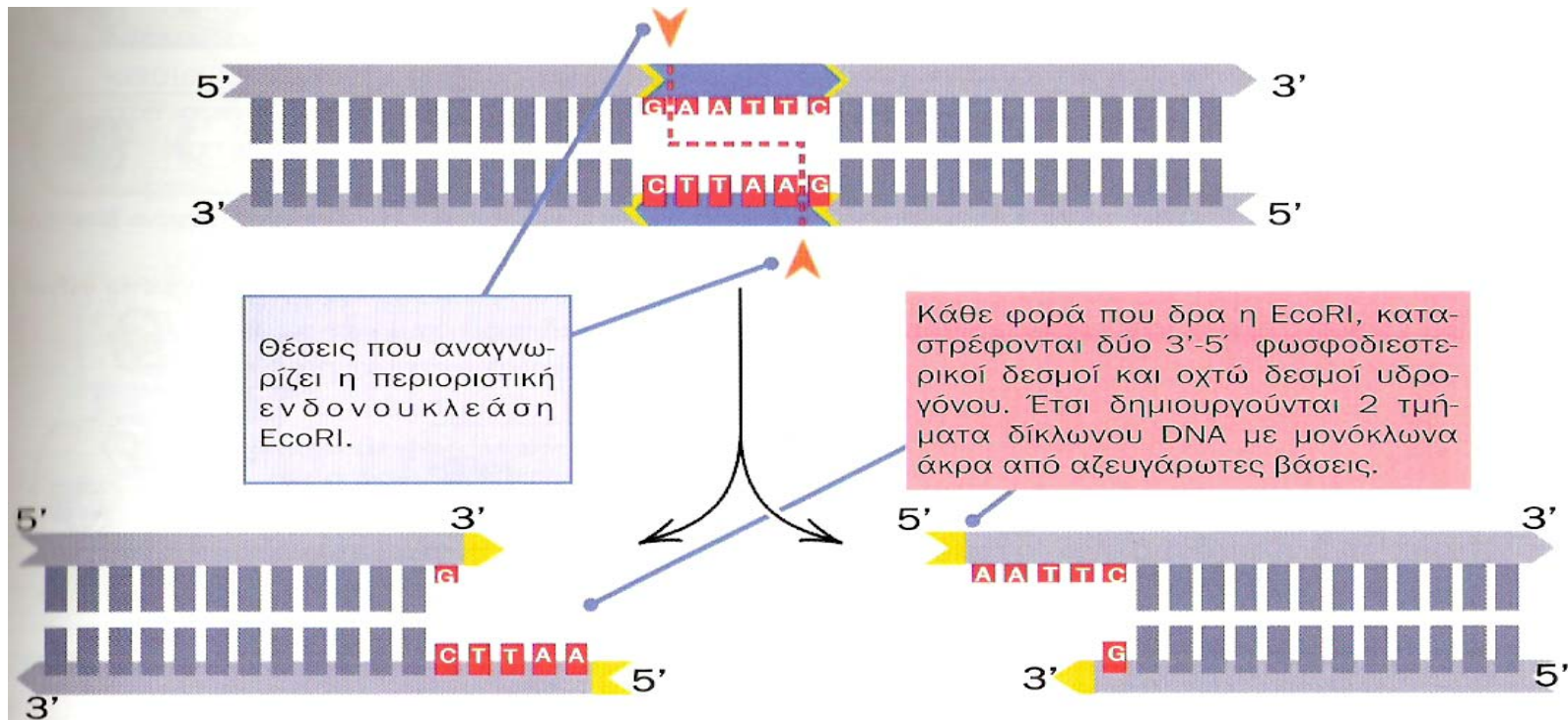
ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΕΣ ΕΝΔΟΝΟΥΚΛΕΑΣΕΣ



- Παράγονται από βακτήρια για να τα προστατεύουν από εισβολή ξένου DNA
- Αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες 4-8 νουκλεοτιδίων στο δίκλωνο DNA
- Σπάνε το DNA σε θραύσματα (100-1000αδες)



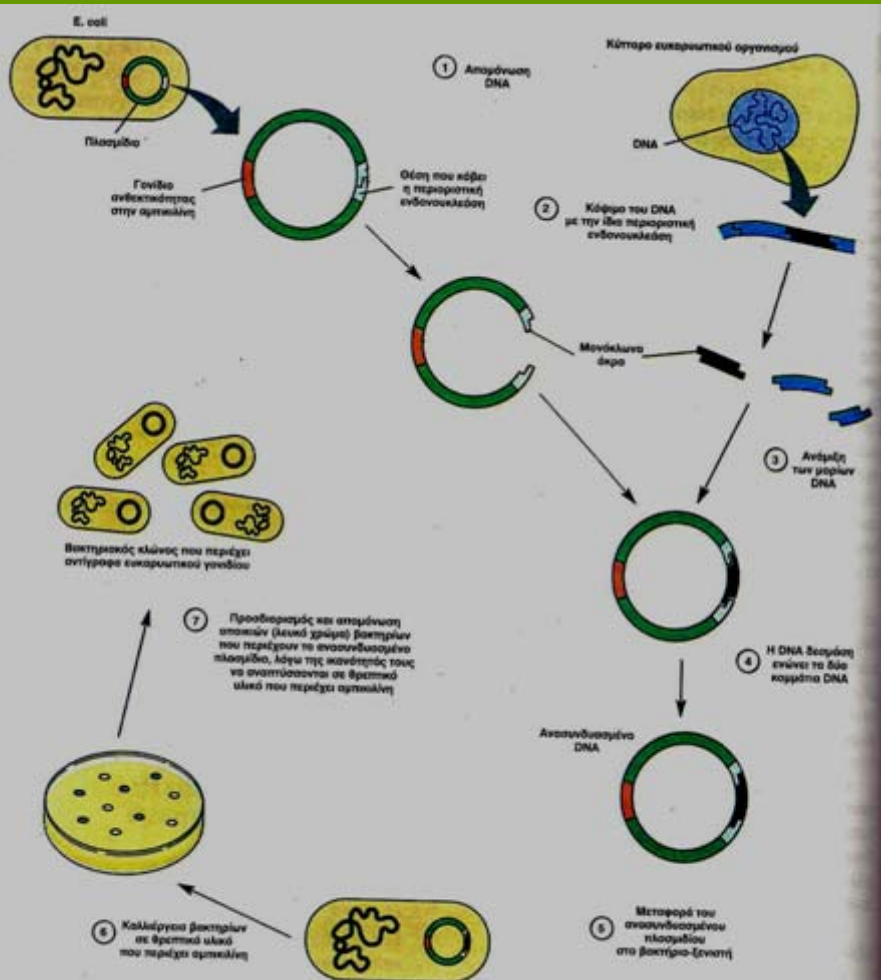
Δράση της EcoRI



Εικόνα 4.6: Δράση της EcoRI (Molecular Genetics - Hearts)



ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΟΥ DNA - ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ



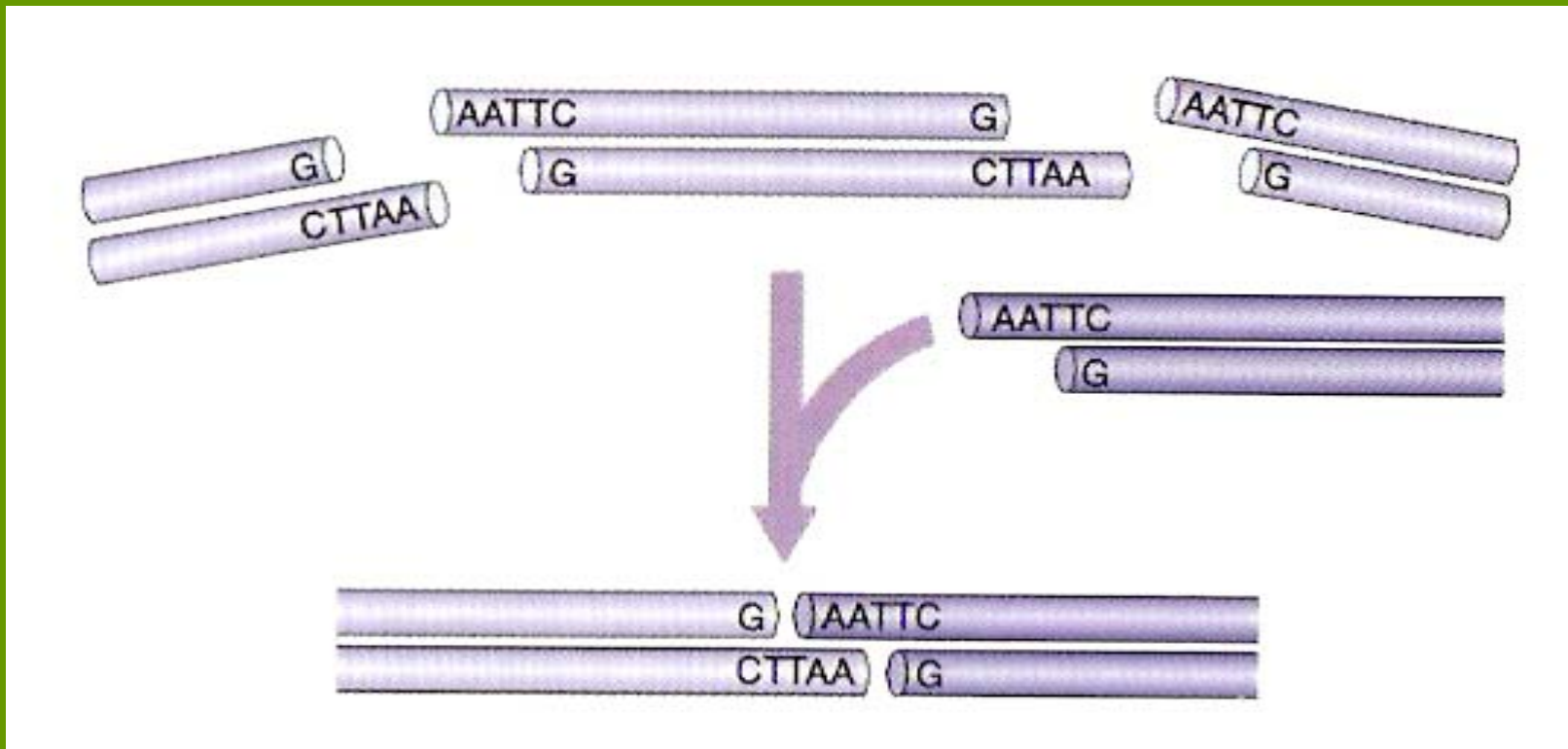
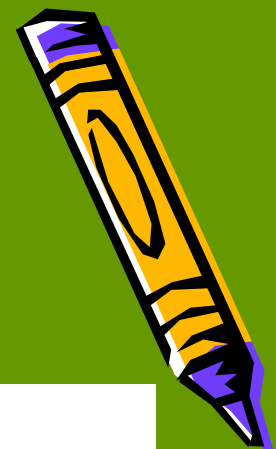
- Το DNA δότη κόβεται και ενώνεται με φορέα κλωνοποίησης
- =ανασυνδυασμένο DNA
- Επιλέγονται τα κύτταρα που προσέλαβαν το αν. DNA (αντιβιοτικό)
- Τα κύτταρα πολ/νται = κλώνοι
- Επιλέγονται οι κλώνοι (με μόρια ανιχνευτές)



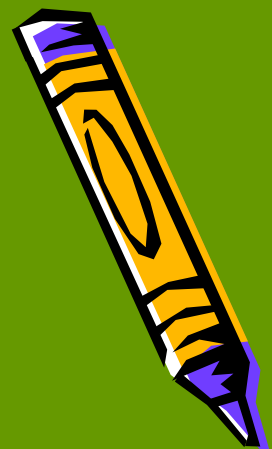
- Το κόψιμο γίνεται με τις περιοριστικές ενδονουκλέασες
- Φορέας κλωνοποίησης: πλασμίδιο, φάγος Λ
- Η εισαγωγή του ανασυνδυασμένου DNA στον ξενιστή = μετασχηματισμός (κατεργασία κυτταρικού τοιχώματος)



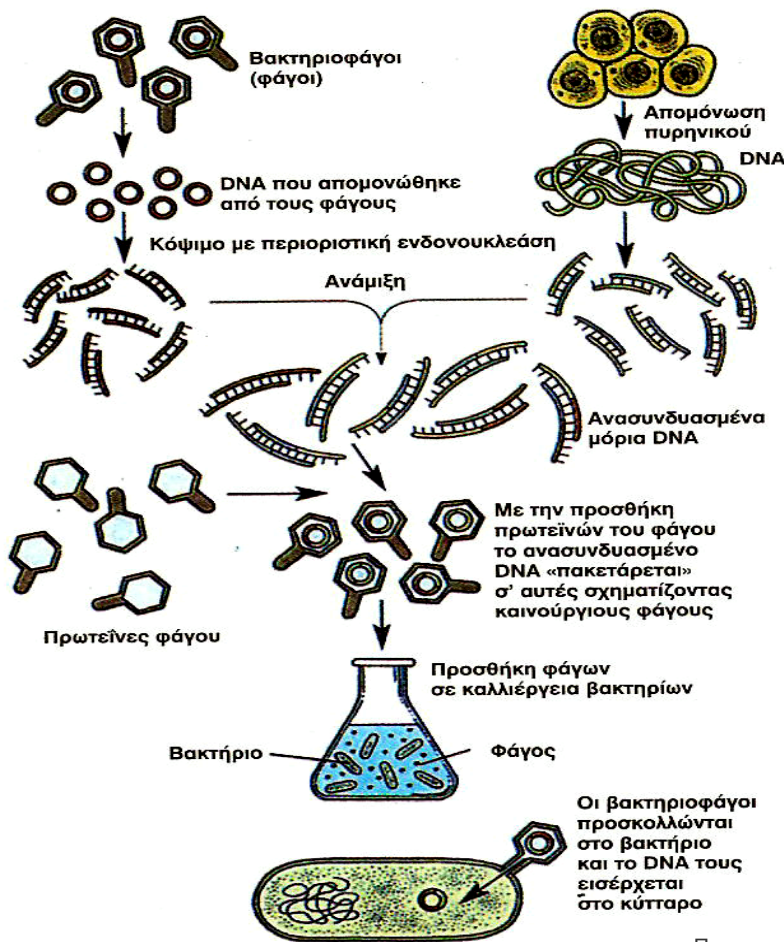
Ρόλος της DNA δεσμάσης



ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

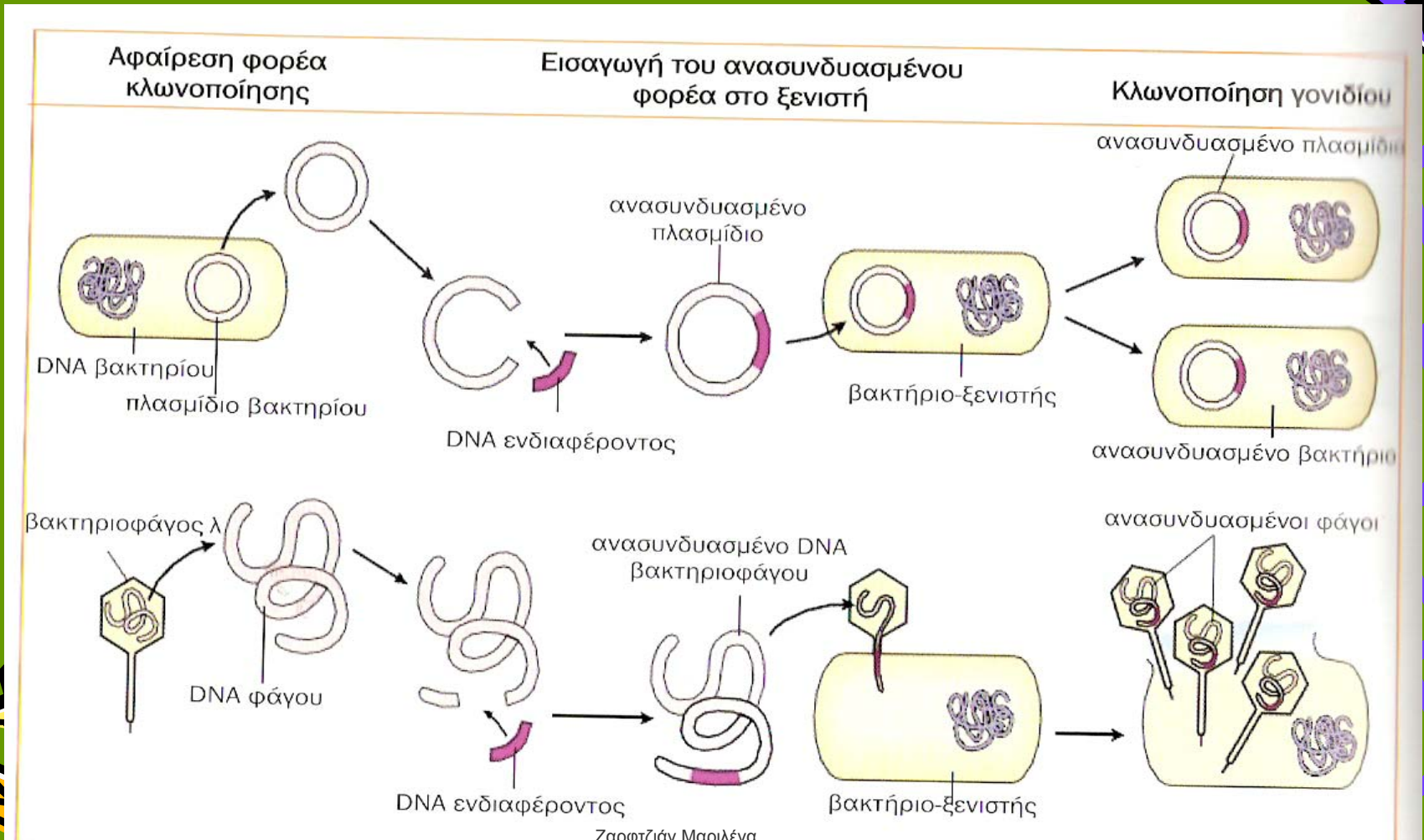


Εικόνα 4.4 Κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης.



- =το σύνολο των βακτηριακών κλώνων που περιέχουν το συνολικό DNA του οργανισμού δότη
- Γίνεται και με τον βακτηριοφάγο λ και με κοσμίδια
- ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ: μελέτη αλληλουχιών και της εξέλιξής τους

Πλασμίδια και φάγοι ως φορείς κλωνοποίησης

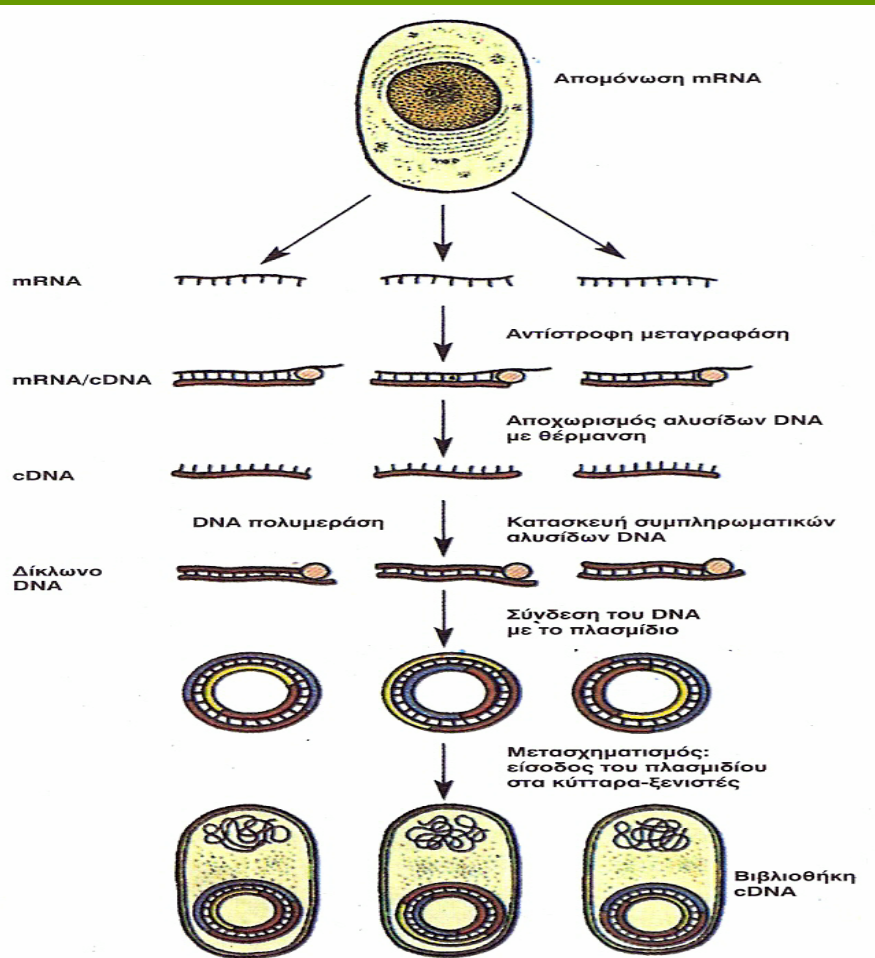


Ζαφρτζιάν Μαριλένα

Πειραματικό Σχολείο Πανεπιστημίου Μακεδονίας



c DNA ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

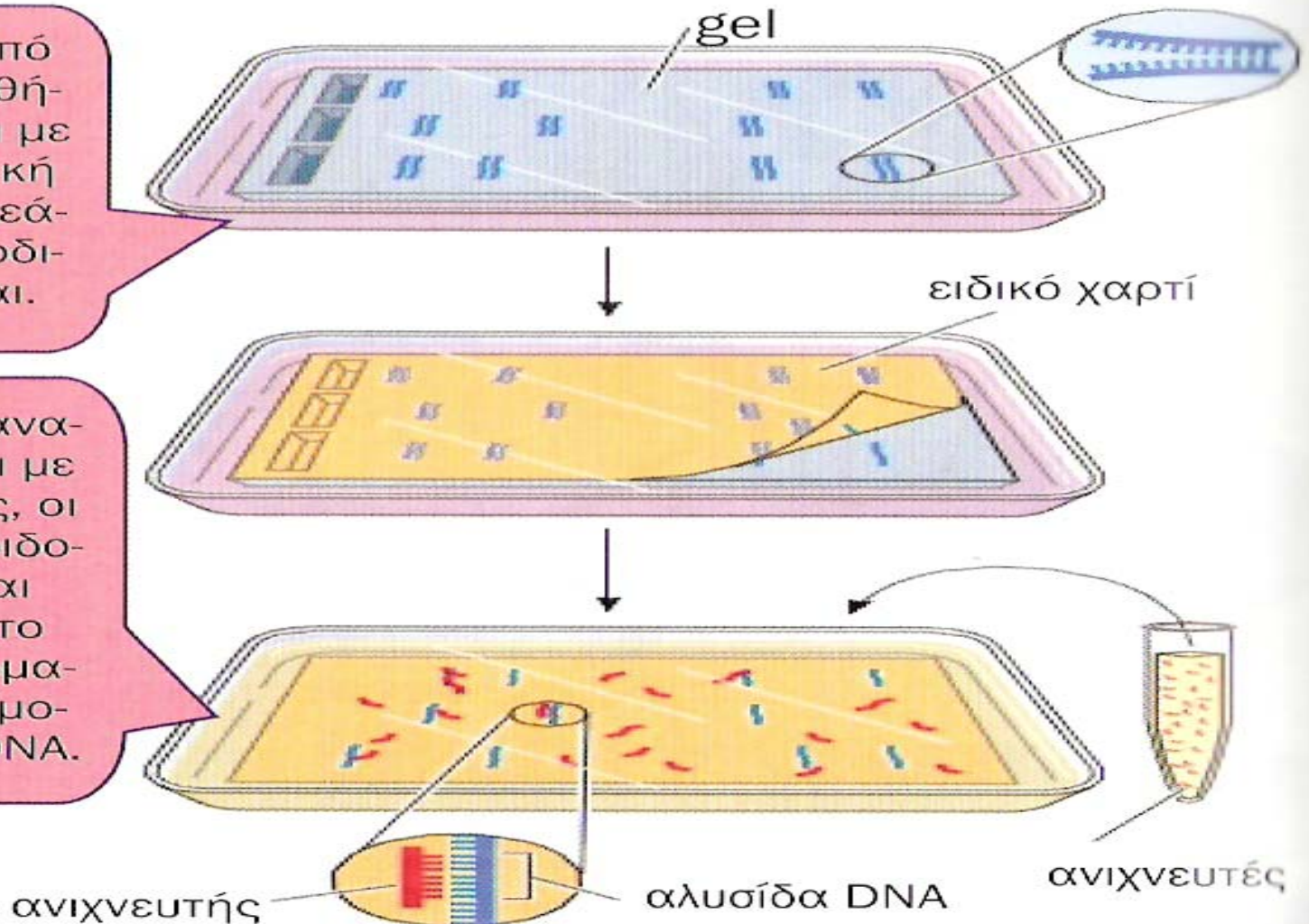


- Περιέχουν αντίγραφα των mRNA όλων των γονιδίων (μόνο εξώνια) που εκφράζονται σε συγκεκριμένα κύτταρα
- ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ: σύνθεση ανθρώπινων πρωτεϊνών

ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ

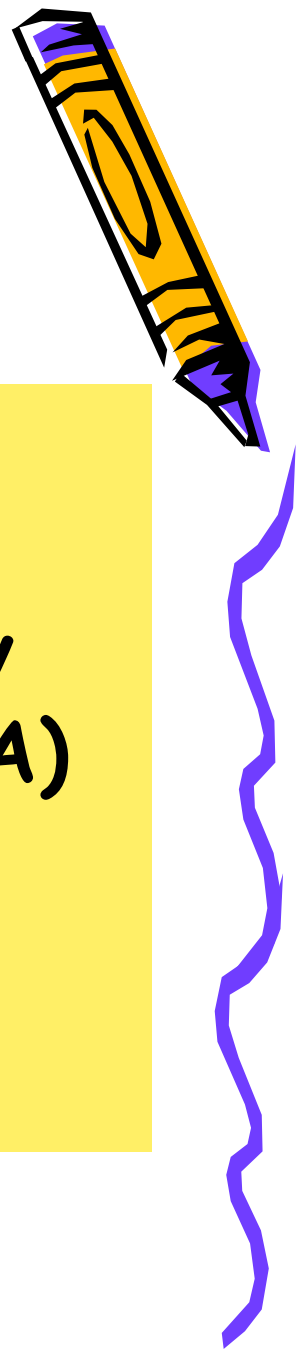
Το DNA από μια βιβλιοθήκη κόβεται με περιοριστική ενδονουκλεάση και αποδιετάσσεται.

Τα μόρια αναμιγνύονται με ανιχνευτές, οι οποίοι υβριδοποιούνται μόνο με το συμπληρωματικό τους μονόκλωνο DNA.

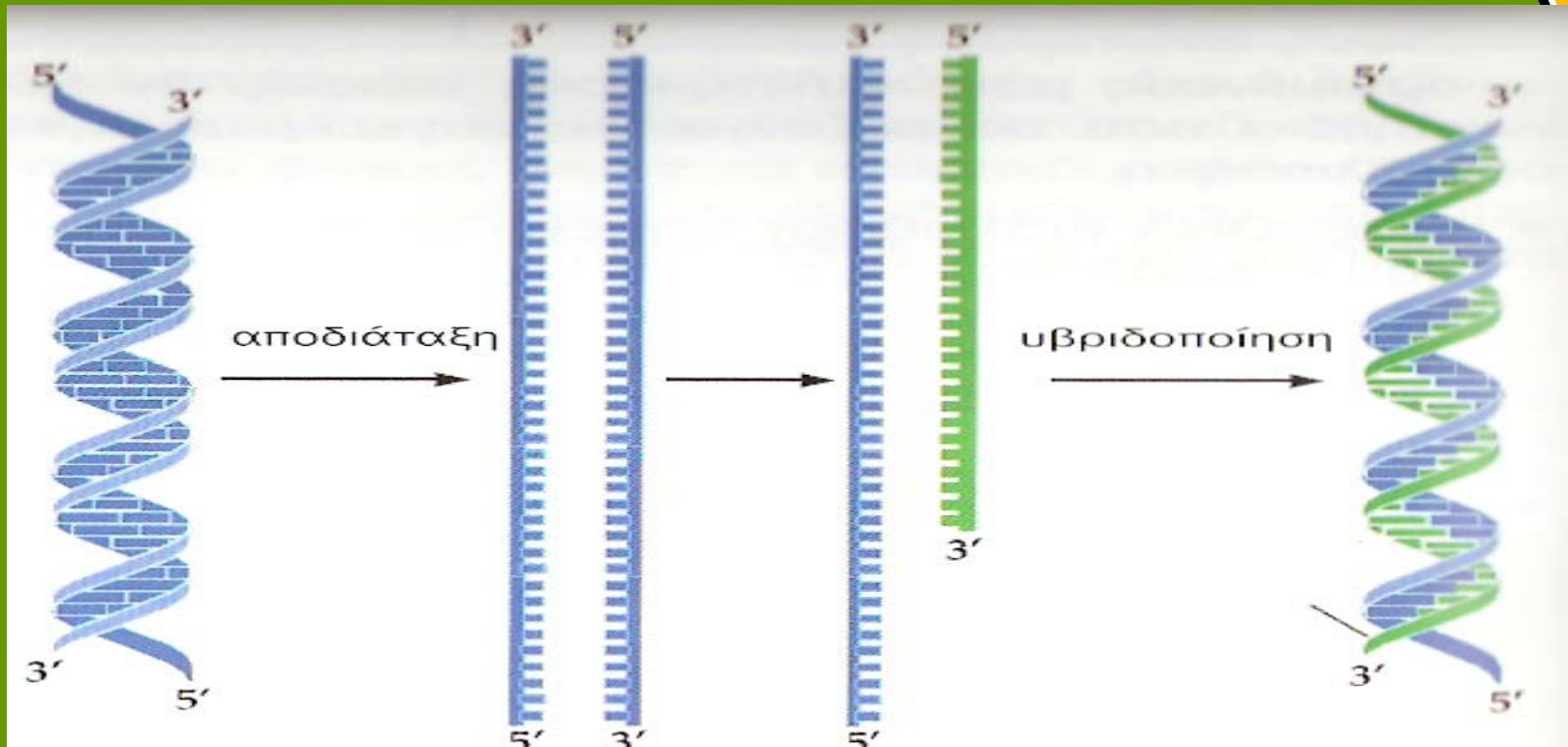
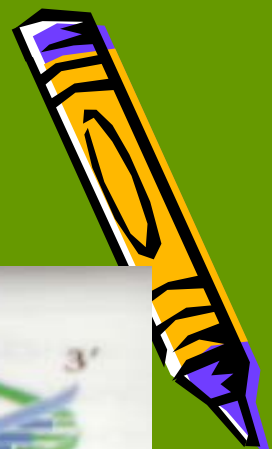


ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ

μόρια DNA ή RNA με αλληλουχίες συμπληρωματικές προς το κλωνοποιημένο DNA (υβριδοποιούν μόνο το συμπληρωματικό τους DNA)



Αποδιάταξη - Υβριδοποίηση



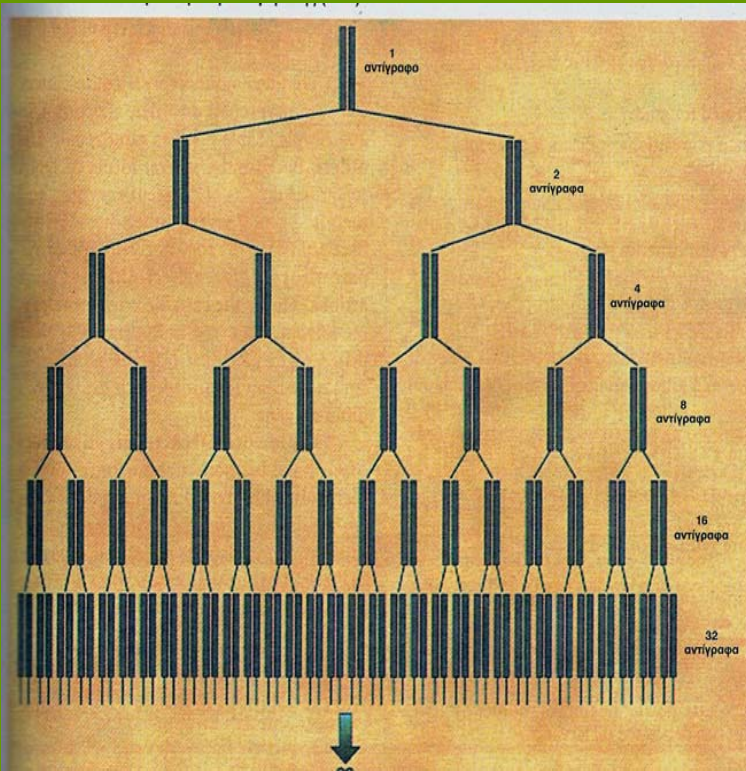
Αποδιάταξη: οι 2 αλυσίδες αποχωρίζονται η μία από την άλλη (με θερμοκρασία / χημικές ουσίες)

Υβριδοποίηση: σύνδεση μονόκλωνων συμπληρωματικών DNA-DNA ή DNA-RNA



PCR

(polymerase chain reaction)



- Δημιουργία εκατομμυρίων αντιγράφων ειδικών αλληλουχιών DNA χωρίς τη μεσολάβηση ζωντανών κυττάρων

- Εφαρμογές: Ιατρική, εγκληματολογία, εξέλιξη

