Лабораторна робота 9

**Клонування ДНК у бактеріальних клітинах. Вектори генетичної трансформації.**

**Завдання 1**. Заповніть пропуски у наступних твердженнях:

А. Введення у клітину генетичної інформації, що міститься у рекомбінантних молекулах ДНК, досягається за допомогою \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_.

Б. \_\_\_\_\_\_\_\_\_ для \_\_\_\_\_\_\_\_\_ використовують для \_\_\_\_\_\_\_\_ (збільшення кількості) шляхом реплікації фрагмента ДНК, що вбудований у такий вектор.

В. \_\_\_\_\_\_\_\_\_для \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ використовують для аналізу певних послідовностей генів і білкових продуктів, а також для створення певного білка.

Г. \_\_\_\_\_\_\_\_\_для \_\_\_\_\_\_\_\_\_ використовують для введення чужорідного фрагмента ДНК у геном реципієнта.

Д. У складі \_\_\_\_\_\_ існує \_\_\_\_\_\_\_\_ ген, який після проникнення \_\_\_\_\_\_\_\_\_ у клітину надає їй фенотип, який свідчить про наявність у клітині \_\_\_\_\_\_\_\_\_.

Е. Після проникнення фагу λ у клітину E. coli події можуть розвиватися за двома сценаріями. Якщо реалізується \_\_\_\_\_\_\_ \_\_\_\_\_\_\_, то фаг починає інтенсивно розмножуватися й приблизно через 20 хв клітина руйнується - \_\_\_\_\_\_\_з вивільненням до 100 нових фагових часток. При альтернативному варіанті розвитку подій фагова ДНК включається в хромосому Е. coli як \_\_\_\_\_\_і \_\_\_\_\_\_\_\_\_в клітині разом із нормальними бактеріальними генами.

Є. \_\_\_\_\_\_\_\_являють собою невеликі плазміди, в які in vitro введені \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ ДНК фага λ.

Ж. Клітини, що здатні поглинати \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ ДНК, називаються \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ клітин можна збільшити за рахунок \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ при обробці їх електричним струмом.

**Завдання 2.** На підставі наведених етапів створення плазмідних векторів скласти схему їх отримання.

Принципи створення плазмідних та вірусних векторів загальні, тому розглянемо їх на прикладі плазмідних. Слід зазначити, що з вірусних ДНК краще використовувати ДНК фагів, оскільки вони мають велику ємність і дозволяють вставляти більші ділянки генома.

Очищені кільцеві молекули ДНК плазміди обробляють рестриктазою, отримуючи лінійну ДНК. Клітинну ДНК обробляють тієї ж рестриктазою й додають до плазмідної, додають лігази. Таким чином отримують рекомбінантну плазмідну ДНК, яку вводять у бактеріальні або дріжджові клітини. Плазміда реплікується з утворенням багатьох копій. Деякі плазміди несуть ген стійкості 30 до антибіотиків, і якщо в рекомбінантній плазміді є такий ген, то клітини легко виявляти, вирощуючи на середовищі з антибіотиком.

**Завдання 3.** Порівняти між собою векторні системи на основі плазмід, вірусів, космід і фазмід, зазначивши недоліки і переваги кожного типу.