

# Τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA και εφαρμογές της

## κλωνοποίηση γονιδίου

### Ορολογία

Μια νέα αλληλουχία DNA που έχει προκύψει από τη συνένωση κομματιών DNA από διαφορετικές πηγές... Στην προκειμένη περίπτωση προκύπτουν ανασυνδυασμένα πλασμίδια, που το καθένα φέρει ένα μικρό κομμάτι από το γονιδίωμα του οργανισμού δότη DNA.

Εισαγωγή ξένου γενετικού υλικού σε βακτήρια (με αυτόν τον τρόπο αποκτούν κάποιες ιδιότητες που πριν δεν είχαν...πχ, ανθεκτικότητα σε συγκεκριμένα αντιβιοτικά, σύνθεση κάποιων πρωτεϊνών)

Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων, τα οποία περιέχουν τα πλασμίδια εκείνα τα οποία ανασυνδυάστηκαν με θραύσματα DNA που προήλθαν μετά την επίδραση ενδονου-κλεάσων περιορισμού σε δείγμα DNA στο οποίο βρισκόταν το συνολικό γονιδίωμα του οργανισμού δότη.

Εχουμε στη διάθεσή μας ένα βακτηριακό κλώνο που περιέχει, ταυτόχρονα κλωνοποιημένο και το επιθυμητό γονίδιο, ενσωματωμένο στα πλασμίδια των βακτηρίων του. Αν χρειάζεται μπορούμε να το απομονώσουμε και να το εισάγουμε σε άλλο φορέα κλωνοποίησης.

### Διαδικασίες

απομόνωση DNA από οργανισμό δότη

Με περιοριστικές ενδονου-κλεάσες, επιδρούμε στο DNA του δότη αλλά και σε πλασμίδια (φορείς κλωνοποίησης), που φέρουν γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά.. Τα τμήματα που προκύπτουν αλληλεπιδρούν μεταξύ τους παρουσία των κατάλληλων ενζύμων και έτσι προκύπτει.....

ανασυνδυασμένο DNA

Τα ανασυνδυασμένα πλασμίδια κάτω από τις κατάλληλες συνθήκες εισάγονται σε βακτήρια τα οποία δεν έχουν πλασμίδια...

μετασχηματισμός βακτηρίων

Με τη χρήση του κατάλληλου αντιβιοτικού, επιλέγονται εκείνα τα βακτήρια που λόγω των πλασμιδίων που περιέχουν απέκτησαν αντοχή σ' αυτό το αντιβιοτικό

γονιδιωματική βιβλιοθήκη

Με τεχνικές υβριδοποίησης (αποδιάταξη - επαναδιάταξη) και την χρήση των κατάλληλων μορίων ανιχνευτών εντοπίζουμε το βακτηριακό κλώνο με το επιθυμητό γονίδιο

κλωνοποίηση γονιδίου

**Γονιδιωματική  
ή  
cDNA  
βιβλιοθήκη**

**Σύνθεση ανθρώπινων  
πρωτεϊνών από  
βακτήρια**

το γονίδιο προέρχεται  
από μια cDNA  
βιβλιοθήκη.... πιθανά το  
προϊόν να χρειαστεί  
μεταμεταφραστικές  
τροποποιήσεις

**Δημιουργία  
διαγονιδιακών ζώων**

το απομονωμένο  
γονίδιο εισάγεται στο  
ζυγωτό....



**Κλωνοποιημένο γονίδιο**  
βρίσκεται ενσωματωμένο στα  
πλασμίδια ενός βακτηριακού  
κλώνου, είτε το έχουμε  
απομονώσει...

**Γονιδιακή θεραπεία**

το απομονωμένο  
γονίδιο αφού  
ενσωματωθεί στον  
κατάλληλο φορέα  
(συνήθως ιός) εισάγεται  
σε συγκεκριμένα  
κύτταρα όπου η  
έκφρασή του θα  
υποκαταστήσει τη  
λειτουργία του γονιδίου  
που ευθύνεται για μια  
παθολογική κατάσταση

**Δημιουργία  
διαγονιδιακών φυτών**

το απομονωμένο  
γονίδιο εισάγεται με τις  
τεχνικές του  
ανασυνδυασμού σε  
τροποποιημένο  
πλασμίδιο -Τι και αυτό  
με τη σειρά του στο  
Agrobacterium  
tumefaciens με το οποίο  
μολύνονται φυτικά  
κύτταρα. Αυτά τα  
κύτταρα κάτω από τις  
κατάλληλες συνθήκες  
θα δώσουν γενετικά  
τροποποιημένα φυτά