

İLERİ ARAŞTIRMA
YÖNTEMLERİ
56901007

2020-21 BAHAR

DR. GÜNSELİ ÇUBUKÇUOĞLU DENİZ

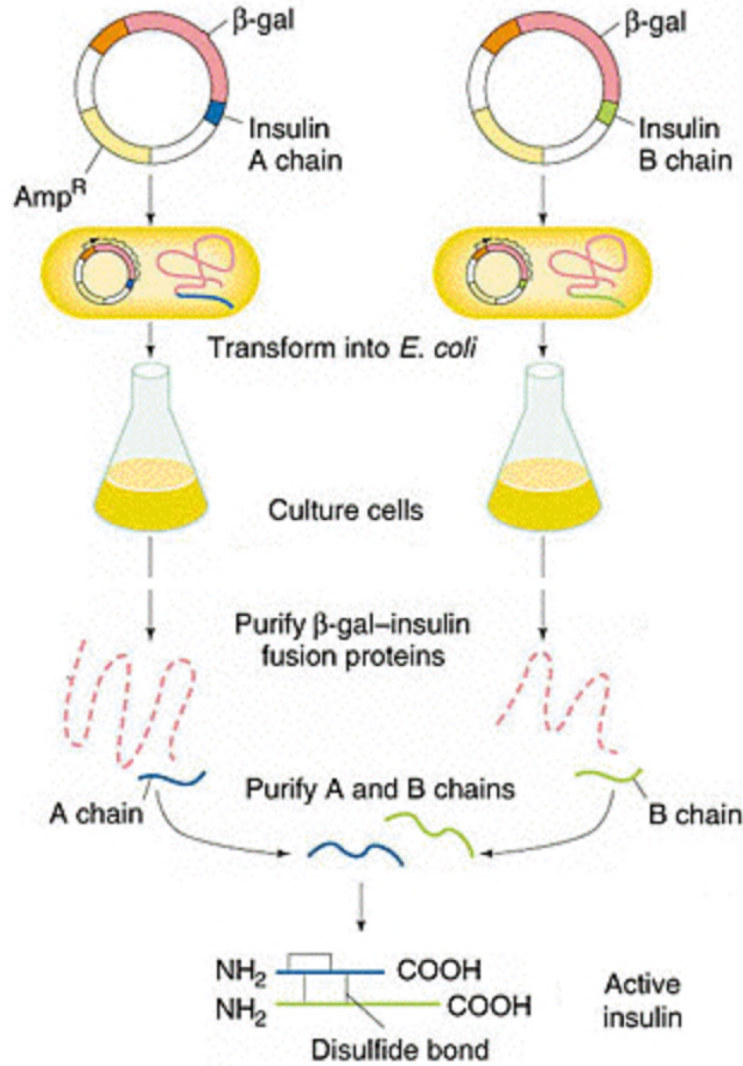
REKOMBİNANT DNA TEKNOLOJİSİ - 3

DERS 5

TRANSFORMASYON VE SELEKSİYON

- Yabancı DNA molekülünün hücre içerisine girmesidir.
- Elektriksel vev kimyasal yöntemler kullanılır.
- Bakterilerin kolay transforme olabilmesi için genetik modifikasyonlar gerçekleştirilmiştir.
- Kompetent hücreler ticari olarak bulunabilir.

Fiziksel	Kimyasal	Elektriksel
Pronükleer enjeksiyon Biyolistik	Kalsiyum fosfat Polietilen Glikol Lipozom	Elektroporasyon



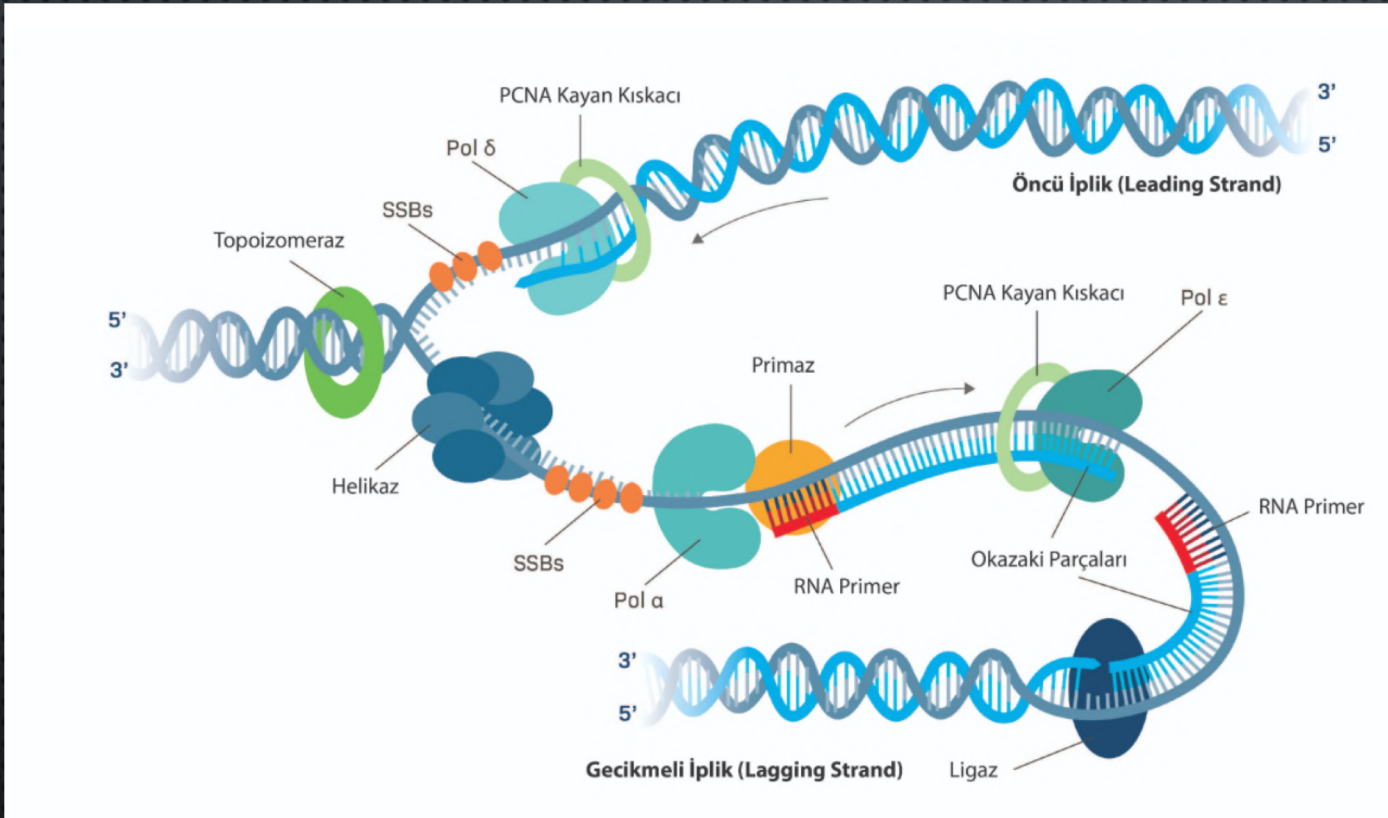
Insülin genleri bakteri plazmidlerine 'insert' edilmiş

Plazmidlerin 'marker' olarak bir antibiyotik rezistans geni bir de B-gal yapısal geni var.

Plazmidler E.coli'ye transforme edilir. Ab kültürde transforme hücreler çoğalır. B-galaktoz indüksiyonuyla transkripsiyon gerçekleşir.

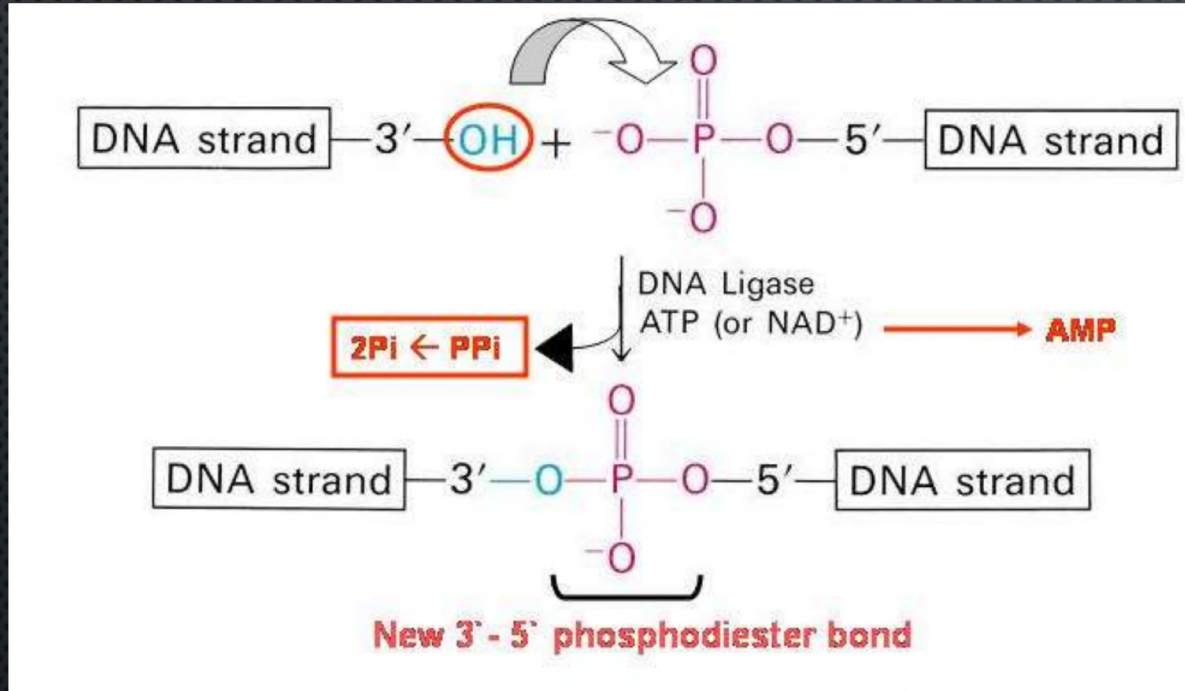
Plazmid proteini kimyasal ayrılması ve pürifikasyonu sonrasında insülin A ve B zincirleri spontan birleşerek biyolojik aktif insülin oluşturur.

MODİFİKASYON ENZİMLERİ



- Nükleazlar
- Ligazlar
- Polimerazlar
- Topoizomerazlar
- Alkalın fosfataz
- Polinükleotid kinaz
- Terminal deoksinükleotidil transferaz
- Metilaz

DNA LİGAZ



- DNA molekülünde açıkta kalmış 2 tek iplikli 5'-PO₄ ve 3'-OH grupları arasında fosfodiester bağ oluşumunu katalizler.
- Reaksiyon enerji bağımlıdır.

KLON KÜTÜPHANELERİ

