

Сегмент ДНК (ген), который предназначен для молекулярного клонирования, должен обладать способностью к репликации при переносе его в бактериальную клетку, т. е. быть репликоном. Однако он такой способностью не обладает. Поэтому, чтобы обеспечить перенос и обнаружение клонируемых генов в клетках, их объединяют с так называемыми генетическими векторами. Последние должны обладать, как минимум, двумя свойствами. Во-первых, векторы должны быть способны к репликации в клетках, причем в нескольких копиях. Во-вторых, они должны обеспечивать возможность селекции клеток, содержащих вектор, т. е. обладать маркером, на который можно вести контрселекцию клеток, содержащих вектор вместе с клонируемым геном (рекомбинантные молекулы ДНК). Таким требованиям отвечают плазмиды и фаги. Плазмиды являются хорошими векторами по той причине, что они являются репликонами и могут содержать гены резистентности к какому-либо антибиотику, что позволяет вести селекцию бактерий на устойчивость к этому антибиотику и, следовательно, легкое обнаружение рекомбинантных молекул ДНК.

Поскольку природные плазмидные векторы неизвестны, то все известные к настоящему времени плазмидные векторы были сконструированы искусственно. Исходным материалом для создания ряда генетических векторов послужили R-плазмиды, в которых с помощью рестриктаз удаляли излишние последовательности ДНК, в том числе те, на которых располагались множественные сайты рестрикции. Это удаление определялось тем, что плазмидный вектор должен обладать только одним сайтом узнавания для одной рестриктазы, причем этот сайт должен лежать в функционально несущественном районе плазмидного генома. Например, плазмидный вектор pBR 322, который содержит гены резистентности к ампициллину и тетрациклину, что делает его очень удобным для селекции бактерий, содержащих клонируемый сегмент ДНК, обладает одиночными сайтами рестрикции для более 20 ферментов-рестриктаз, включая такие известные рестриктазы, как Eco R I, Hind III, Pst I, Pva II и Sal I .

Фаговые векторы тоже обладают рядом преимуществ. Они могут включать в себя более крупные (более длинные) клонируемые фрагменты ДНК по сравнению с плазмидными векторами. Далее, перенос фагами клонируемого фрагмента в клетки в результате ин-фицирования ими последних является более эффективным, чем трансформация ДНК. Наконец, фаговые векторы позволяют более эффективный скрининг (распознавание) на поверхности агара колоний, содержащих клетки, несущие клонируемый ген. Многие фаговые векторы сконструированы на базе фага лямбда.

Генетические векторы

Автор: Administrator
20.10.2010 20:25 -

Кроме фаговых используют и другие вирусные векторы, сконструированные на базе вируса герпеса, а также векторы, сконструированные на базе дрожжевой ДНК.

Если клонирование генов проводят, используя клетки млекопитающих или растений, то требования к векторам те же, что и в случае клонирования в бактериальных клетках.

Пехов А. П. Биология с основами экологии. Серия «Учебники для вузов. Специальная литература» — 2000.