

2. Technologie rekombinantní DNA

Směs technik

Techniky

- Některé nové
- Některé z jiných oborů

Nejdůležitější mezníky při vývoji technik rekombinantní DNA

- Tab.
- 1869 po prvé izolována DNA (Miescher)
- 1944 DNA je nositelkou genetické informace (Avery)
- 1953 DNA je dvoušroubovice (Watson a Crick)
- 1957 objevena DNA polymerasa – používaná pro přípravu DNA sond (Kornberg)
- 1961 objevena DNA renaturace (Marmur a Doty)
- 1962 popsány a izolovány restriční endonukleázy (Arber, Nathan, Smith)
- 1966 rozluštěn genetický kód (Nierenberg, Ochoa, Khorana)
- 1967 objevena DNA ligáza (Gellert)
- 1972-1973 vyvinuty techniky DNA klonování (Boyer, Cohen, Berg)
- 1975 vyvinul metodu hybridizace po přenosu DNA na membránu (Southern)
- 1975-1977 vyvinuta metoda DNA sekvencování (Sanger a Barrell, Maxam a Gilbert)
- 1981-1982 transgenní rostliny, transgenní živočichové
- 1985 objevena PCR (Mullis)

1. Štěpení DNA restrikčními nukleázami

- Izolace a manipulace s jednotlivými geny

2. Sekvencování

- Stanovení pořadí nukleotidů v purifikovaném fragmentu DNA
- Určení počátku a konce genu
- Určení aminokyselinových sekvencí, které kóduje

3. Hybridizace nukleových kyselin

- Velmi přesná a citlivá detekce specifických sekvencí DNA nebo RNA
- S využitím komplementárního párování bází

4. Klonování DNA

- Příprava velkého množství identických molekul (kopií) DNA

5. DNA inženýrství

- Příprava modifikovaných verzí genů
- Jejich včlenění zpět do buněk
- A využití
- Příp. navýšení genetické informace buněk
- Konstrukce GMO