

Genetyka ogólna

wykład dla studentów II roku biotechnologii

Andrzej Wierzbicki

Uniwersytet Warszawski

Wydział Biologii

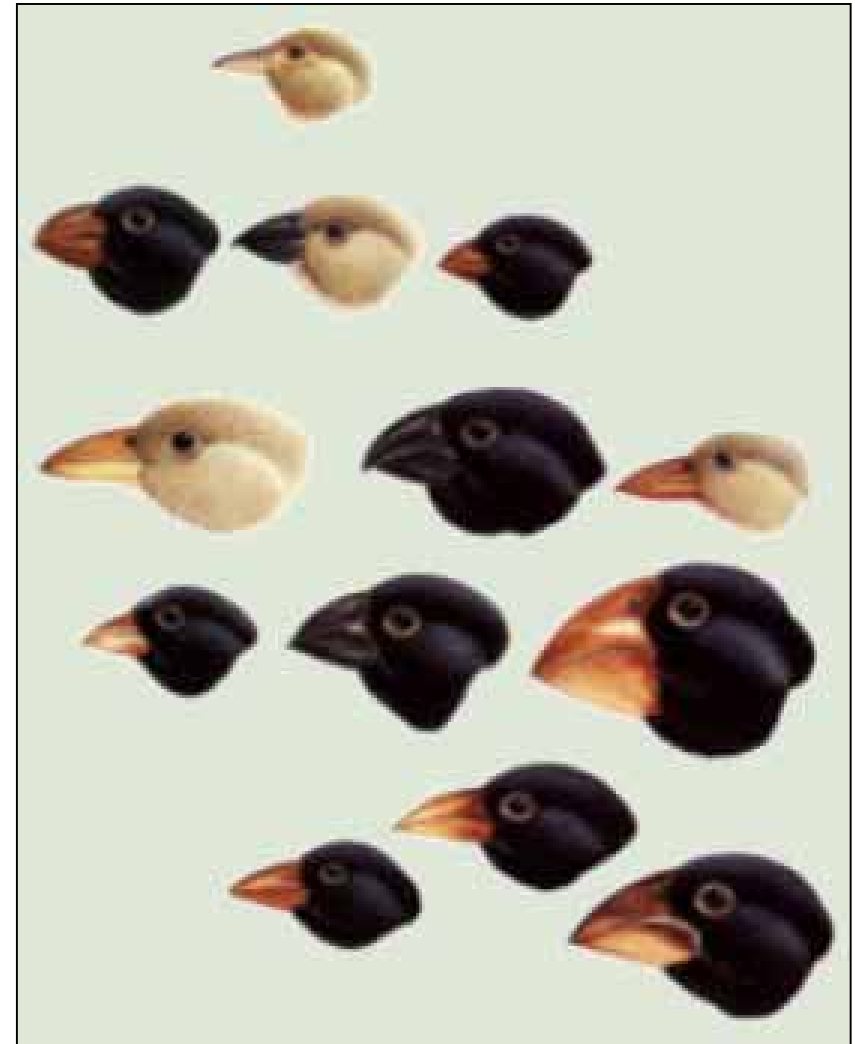
andw@ibb.waw.pl

<http://arete.ibb.waw.pl/private/genetyka/>

1. Historię życia kształtuje proces ewolucji.
2. Ewolucja to losowa zmienność i ukierunkowana selekcja.
3. Ewolucja to zmiana częstości alleli i powstawanie nowych genów.

Mechanizmy izolacji gatunków

- behawioralna
- przestrzenna
- czasowa
- mechaniczna
- gametyczna
- nieżywotność mieszańców
- sterylność mieszańców

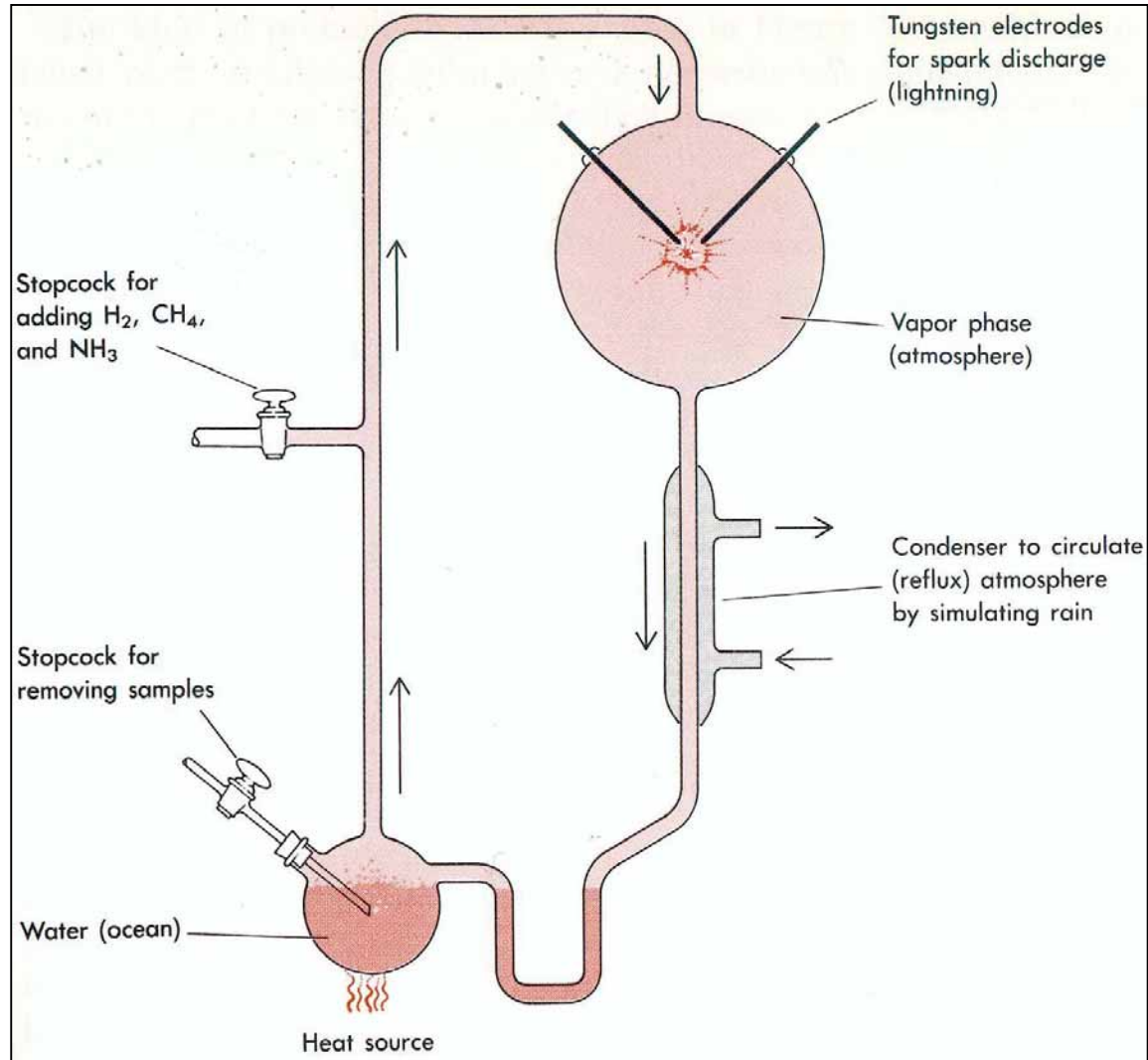


zięby Darwina

Jak powstało życie?

Problem pierwszego organizmu

- symulacja warunków z przed 4 miliardów lat
- odgadywanie jego cech na podstawie cech dzisiejszych organizmów
- teoria świata RNA



1. Gatunki powstają dzięki izolacji.
2. Istnieją ciekawe teorie na temat powstania życia.

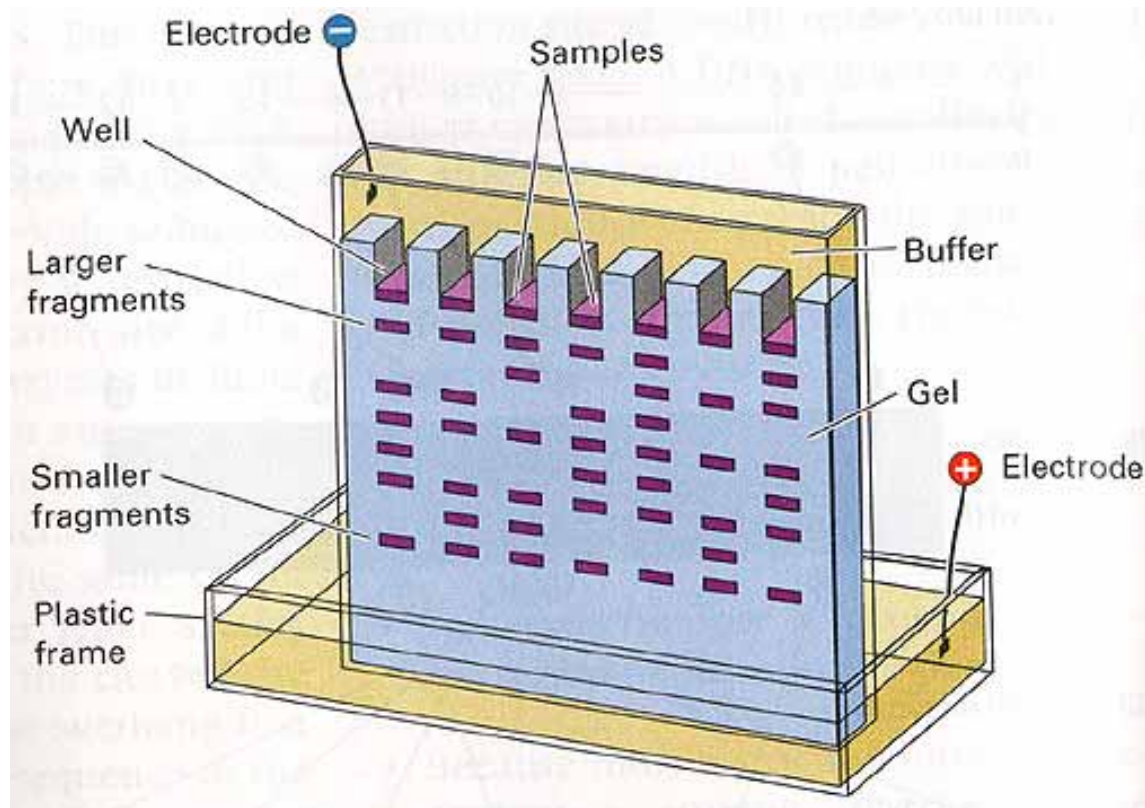
Metody genetyki molekularnej

- Jak ciąć i łączyć cząsteczki DNA?
- Co to jest PCR?
- Co to jest hybrydyzacja?
- Do czego służy immunodetekcja?

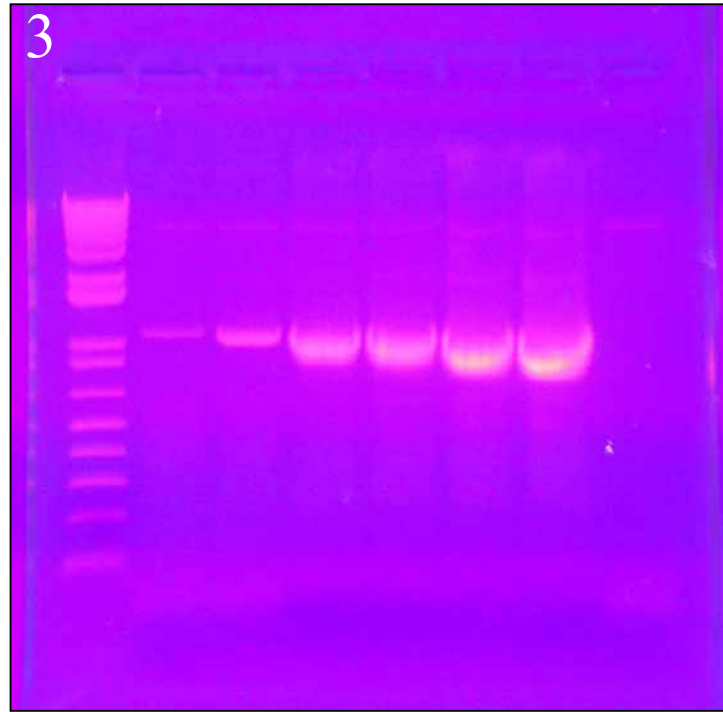
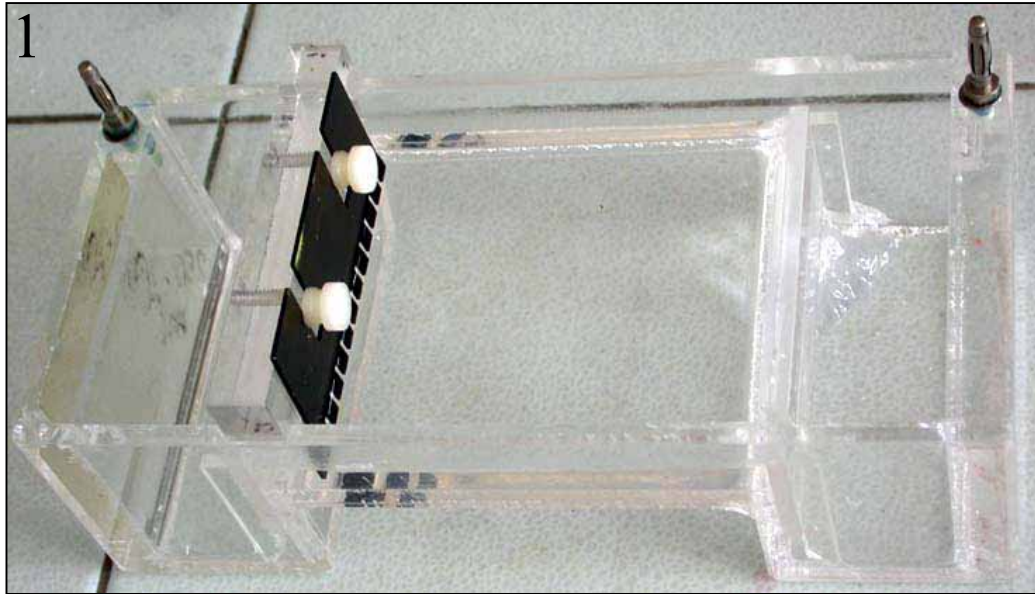
Elektroforeza DNA

Elektroforeza DNA umożliwia rozdział cząsteczek ze względu na wielkość

- pole elektryczne - DNA się porusza
- żel stawia opór proporcjonalny do wielkości cząsteczki
- małe cząsteczki DNA wędrują szybko, duże wolno
- prążki - grupy cząsteczek o identycznej długości



Elektroforeza DNA



Plazmidy - najczęściej stosowane wektory, umożliwiają namnażanie cząsteczek DNA

- kolisty
- zdolne do autonomicznej replikacji
- mają marker oporności
- mają różne sekwencje pomocnicze

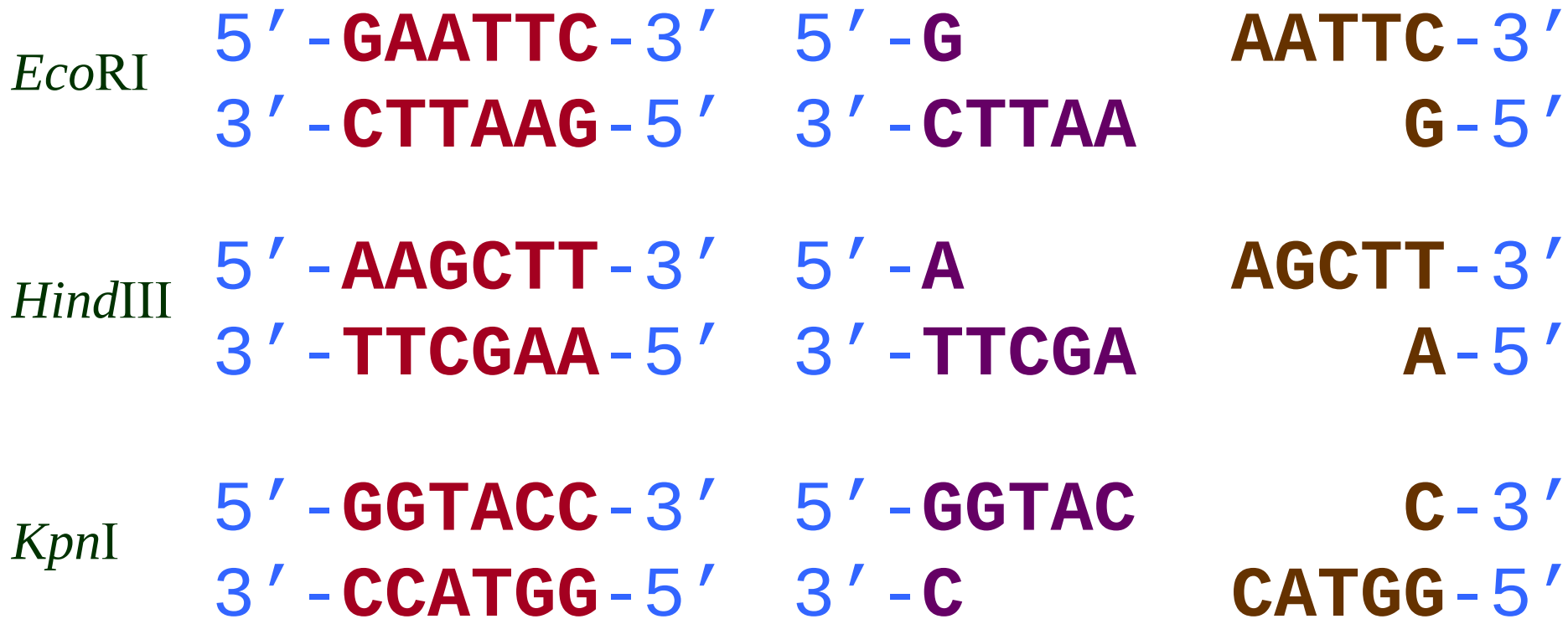
Izolacja plazmidowego DNA

- wykorzystanie zjawiska szybkiej renaturacji superhelikalnych cząsteczek DNA

Trawienie restrykcyjne

Enzymy restrykcyjne

- enzymy rozpoznające motyw sekwencyjny i przecinające DNA



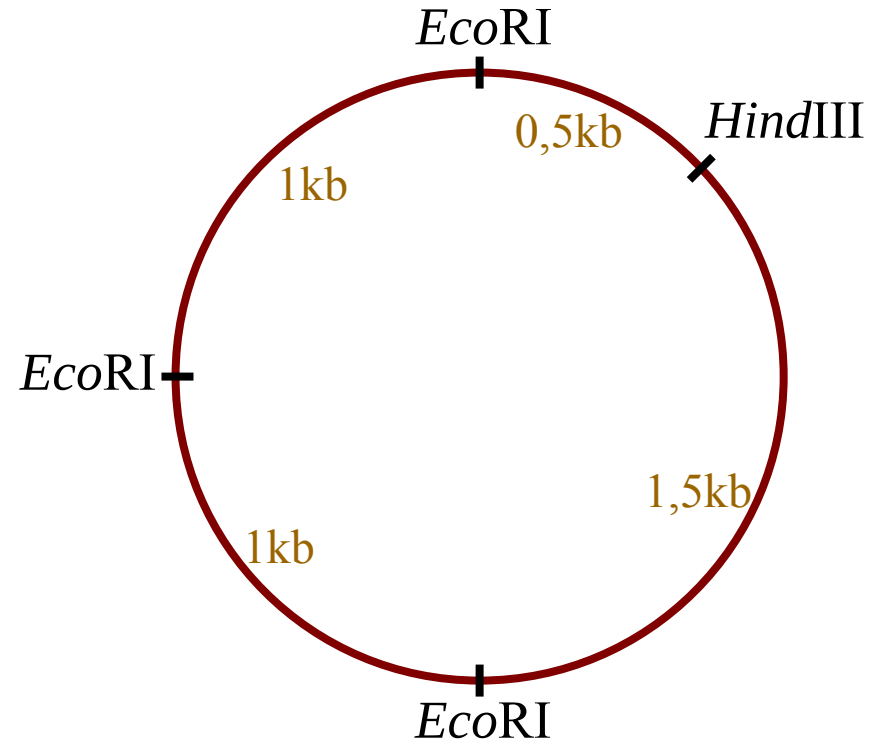
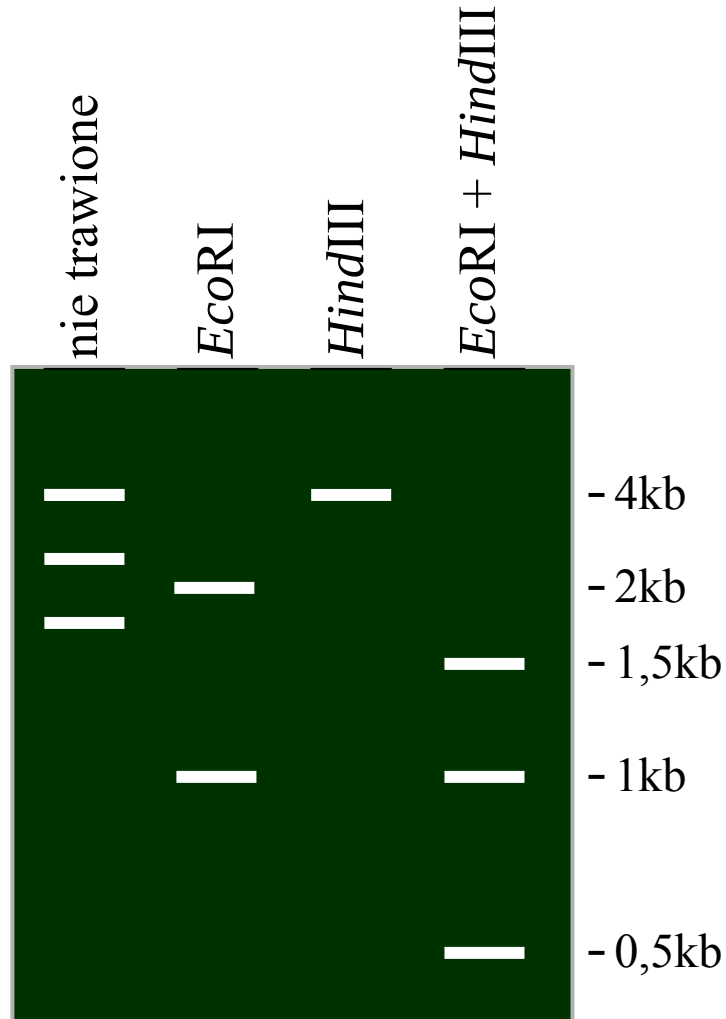
Trawienie restrykcyjne

Enzymy restrykcyjne

AatII	BcgI	BsmFI	DpnI	HpyCH4III	PflFI	SnaBI
AccI	BciVI	BsoBI	DpnII	HpyCH4IV	PflMI	SpeI
Acc65I	BclI	Bsp1286I	DraI	HpyCH4V	PhoI	SphI
AciI	BfaI	BspCNI	DraIII	KasI	PleI	SspI
AclI	BfrBI	BspDI	DrdI	KpnI	PmeI	StuI
AcuI	BfuAI	BspEI	EaeI	MboI	PmlI	StyI
AfeI	BfuCI	BspHI	EagI	MboII	PpuMI	StyD4I
AflII	BglI	BspMI	EarI	MfeI	PshAI	SwaI
AflIII	BglII	BsrI	EciI	MluI	PsiI	TaqαI
AgeI	BlpI	BsrBI	EcoNI	MlyI	PspGI	TfiI
AhdI	Bme1580I	BsrDI	EcoO109I	MmeI	PspOMI	TliI
AleI	BmgBI	BsrFI	EcoP15I	MnlI	PspXI	TseI
AluI	BmrI	BsrGI	EcoRI	MscI	PstI	Tsp45I
AlwI	BmtI	BssHII	EcoRV	MseI	PvuI	Tsp509I
AlwNI	BpmI	BssKI	FatI	MslI	PvuII	TspRI
ApaI	Bpu10I	BssSI	FauI	MspI	RsaI	Tth111I
ApaLI	BpuEI	BstAPI	Fnu4HI	MspAII	RsrII	XbaI
ApeKI	BsaI	BstBI	FokI	MwoI	SacI	XcmI
ApoI	BsaAI	BstEII	FseI	NaeI	SacII	XhoI
AscI	BsaBI	BstF5I	FspI	NarI	SalI	XmaI
AseI	BsaHI	BstNI	HaeII	NciI	SapI	XmnI
AsiSI	BsaJI	BstUI	HaeIII	NcoI	Sau3AI	ZraI
AvaI	BsaWI	BstXI	HgaI	NdeI	Sau96I	
AvaII	BsaXI	BstYI	HhaI	NgoMIV	SbfI	
AvrII	BseRI	BstZ17I	HincII	NheI	ScaI	
BaeI	BseYI	Bsu36I	HindIII	NlaIII	ScrFI	
BamHI	BsgI	BtgI	HinfI	NlaIV	SexAI	
BanI	BsiEI	BtgZI	HinPI	NotI	SfaNI	
BanII	BsiHKAI	BtsI	HpaI	NruI	SfcI	
BbsI	BsiWI	Cac8I	HpaII	NsiI	SfiI	
BbvI	BslI	ClaI	HphI	NspI	SfoI	
BbvCI	BsmI	CspCI	Hpy188I	PacI	SgrAI	
BccI	BsmAI	CviAII	Hpy188III	Paer7I	SmaI	
BceAI	BsmBI	DdeI	Hpy99I	PciI	SmlI	

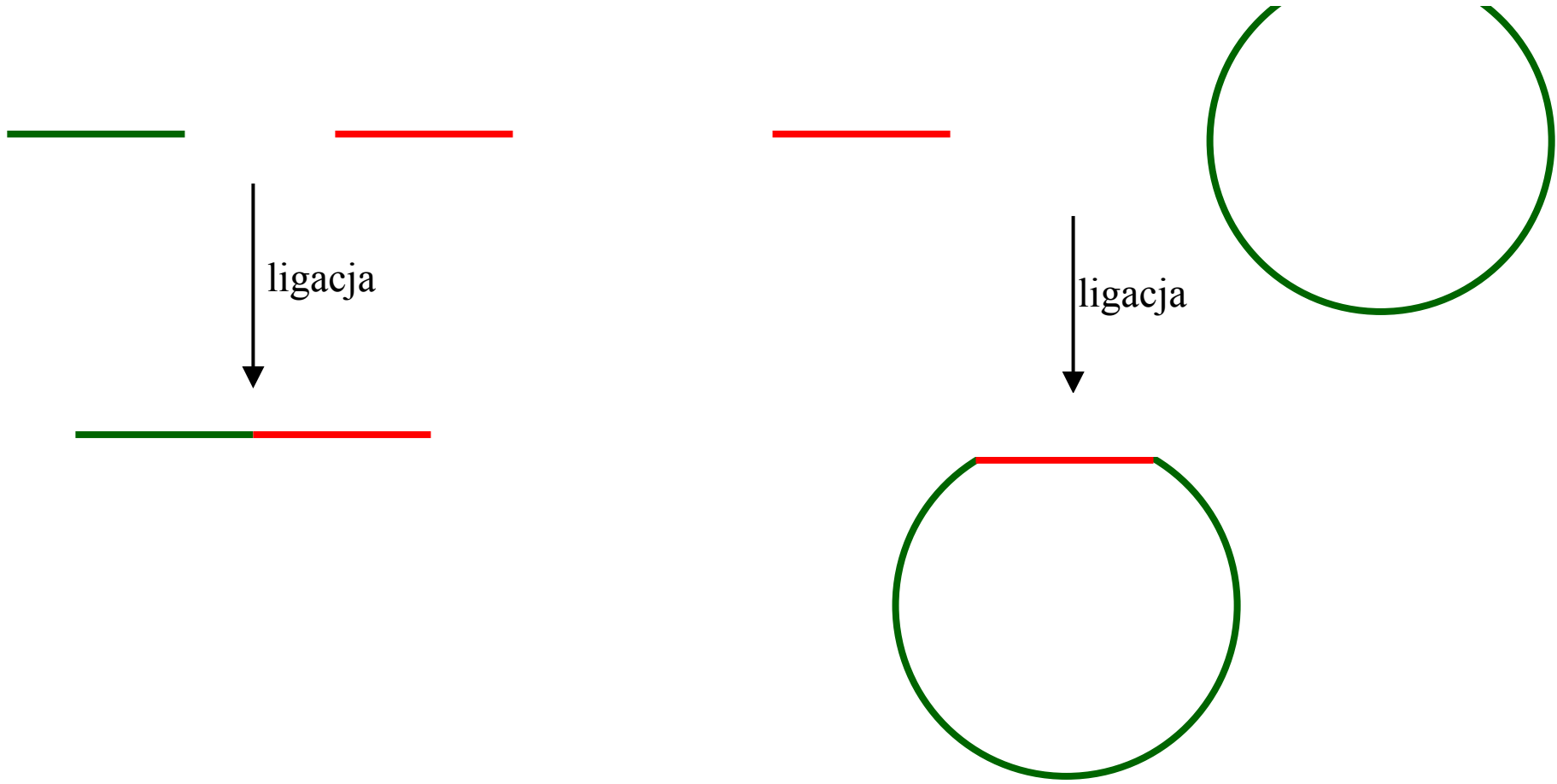
Trawienie restrykcyjne

Mapy restrykcyjne



Łączenie cząsteczek DNA

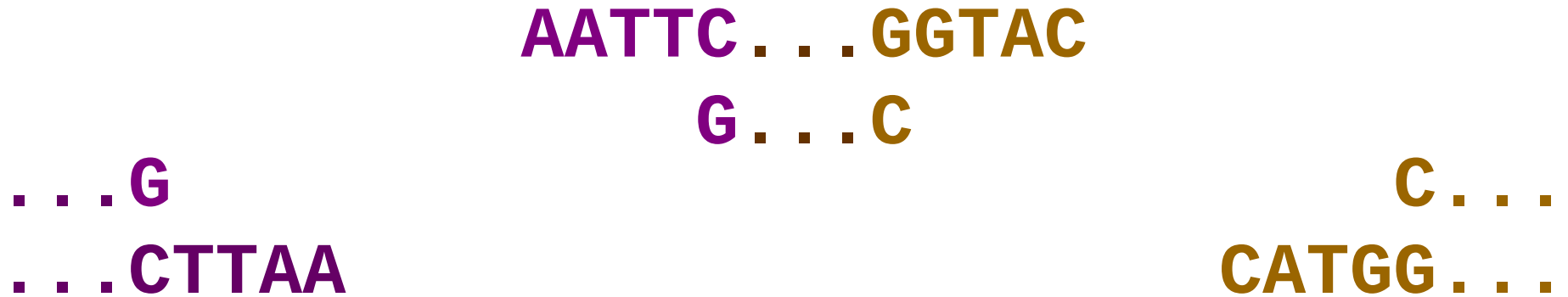
Umiejętność cięcia i łączenia umożliwia prawie dowolne manipulacje z DNA



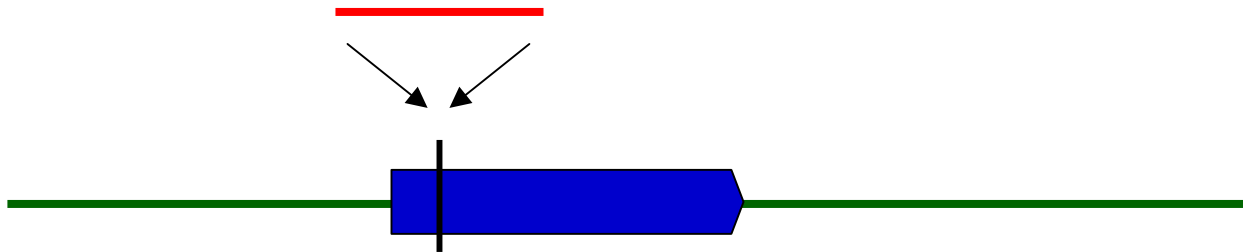
Łączenie cząsteczek DNA

Zapobieganie ligacji plazmidu bez wstawki

- dwa różne lepkie końce

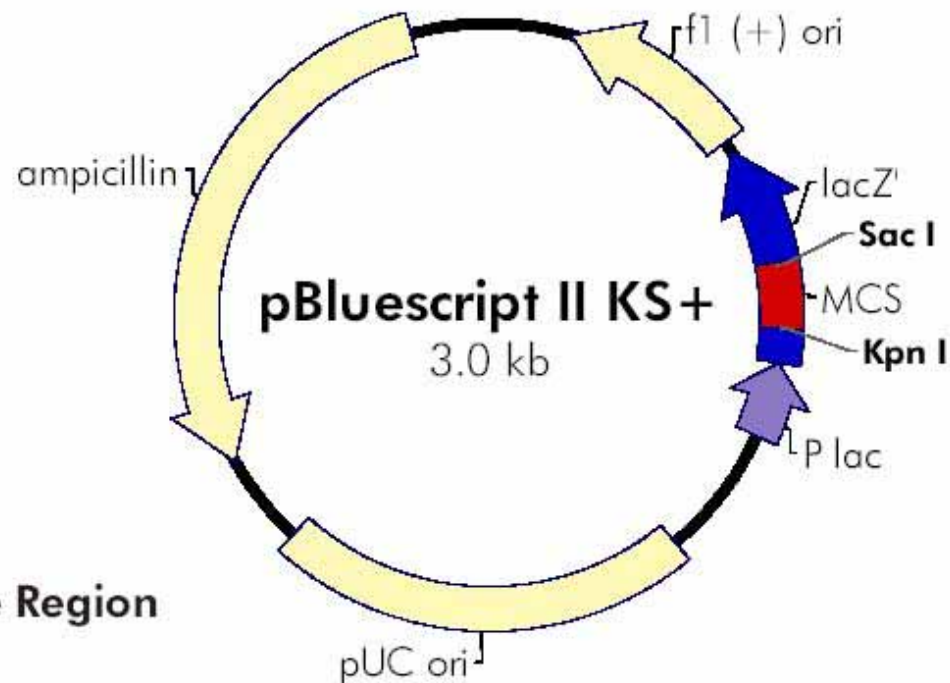


- selekcja na białe i niebieskie

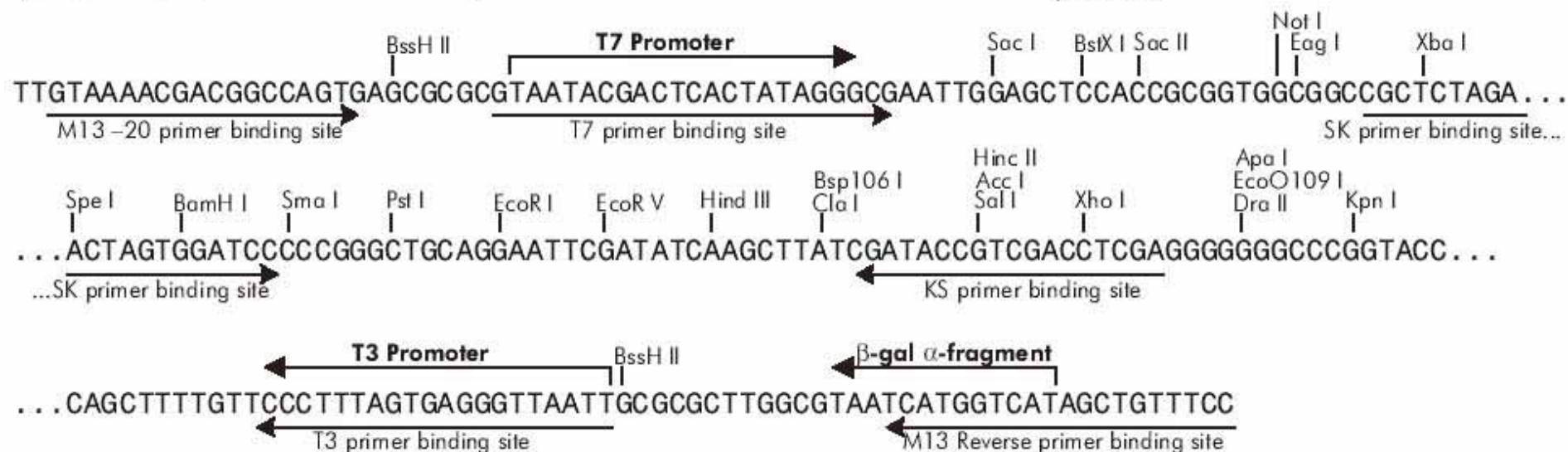


Łączenie cząsteczek DNA

f1 (+) origin 135–441
 β -galactosidase α -fragment 460–816
multiple cloning site 653–760
lac promoter 817–938
pUC origin 1158–1825
ampicillin resistance (*bla*) ORF 1976–2833

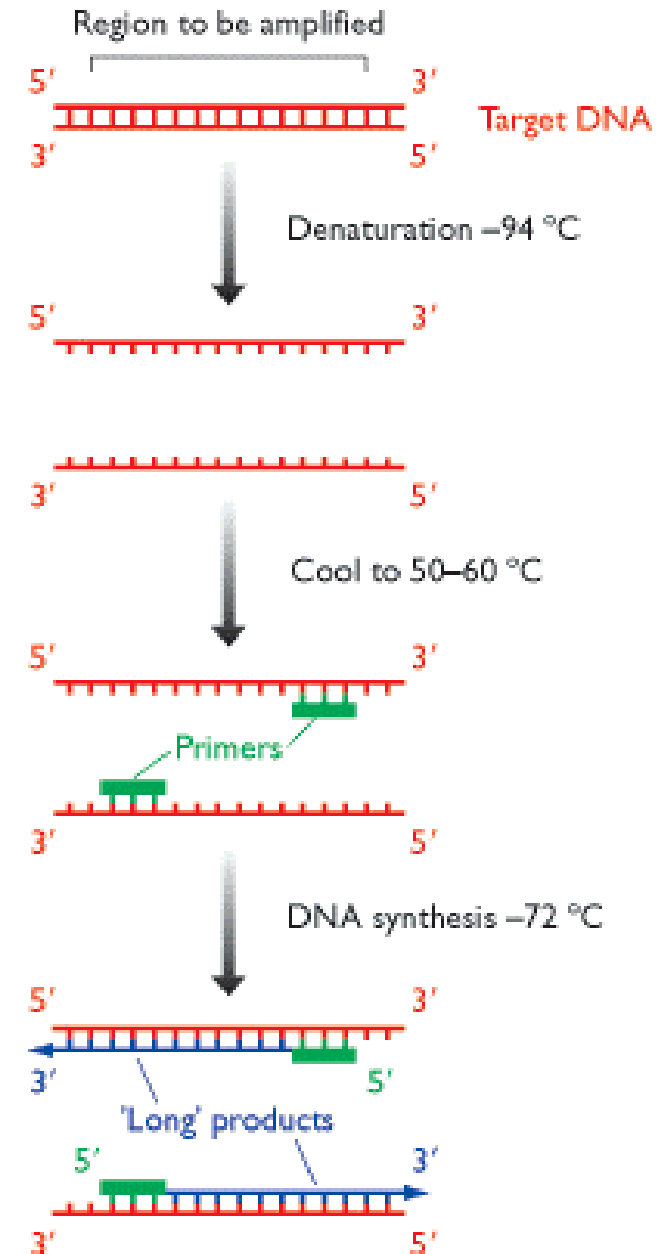


pBluescript II KS (+/-) Multiple Cloning Site Region
(sequence shown 598–826)



Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR)

- polimeraza DNA zaczyna syntezę od startera
- dwa startery + polimeraza - podwojenie DNA flankowanego przez startery
- powtarzanie przez denaturację i renaturację - uzyskanie DNA w dużej ilości
- polimeraza termostabilna *Taq*



PCR w praktyce

- wybór starterów (temperatura denaturacji i komplementarność)
- matryca (DNA, który będzie amplifikowany)
- nastawienie reakcji →
- prowadzenie reakcji →
 - 94° - denaturacja
 - 55°-70° - przyłączanie starterów
 - 72° - wydłużanie
- rozdział w żelu

- matryca
- startery
- dNTP
- bufor
- Taq