

*Eliöiden geenejä siirretään,
muokataan ja poistetaan*

(s. 86-95)

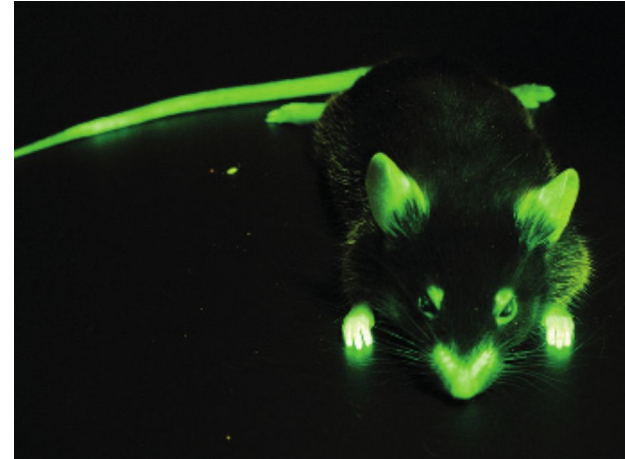
Muuntogeeninen eliö

1. siirtogeeninen eliö

- eliöön lisätty vieras geeni

2. poistogeeninen eliö

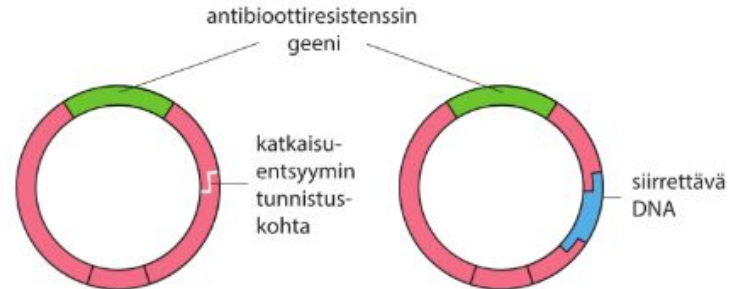
- jokin geeni on tehty *toimintakyvyttömäksi*



Vektori

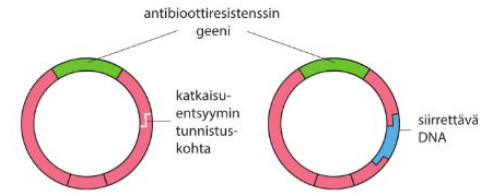
- DNA:n tai geenin siirtotyökalu
- esim. plasmidi, virus

Siirtogeeninen plasmidi



[7] Eliöiden geenejä siirretään, muokataan ja poistetaan

Siirtogeeninen plasmidi



Geenin siirto plasmidilla - yhdistelmä-DNA-tekniikka

- geeni liitetään plasmidiin katkaisu- ja liittäjäentsyymien avulla
- geenin siirron onnistuminen tarkistetaan antibioottivalinnalla
- geeni monistuu bakteerin jakautuessa
- tumallisen solujen geneeistä tulee poistaa intronit (cDNA) mikäli geenin halutaan toimivan bakteerissa
- käyttö: geenikirjastot ja proteiinien tuottaminen

Yhdistelmä-DNA-tekniikka ja

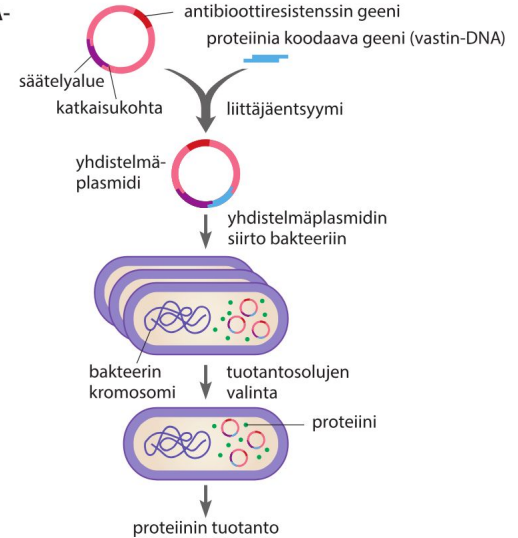
geenin siirto bakteeriin

1. plasmidin eristäminen
2. geenin **säätelyalue ja cDNA**

plasmidiin katkaisu- ja

liittäjäentsyymien avulla

Yhdistelmä-DNA-
tekniikka



3. plasmidi bakteeriin *transformaatiolla* (siirtogeeninen eliö)

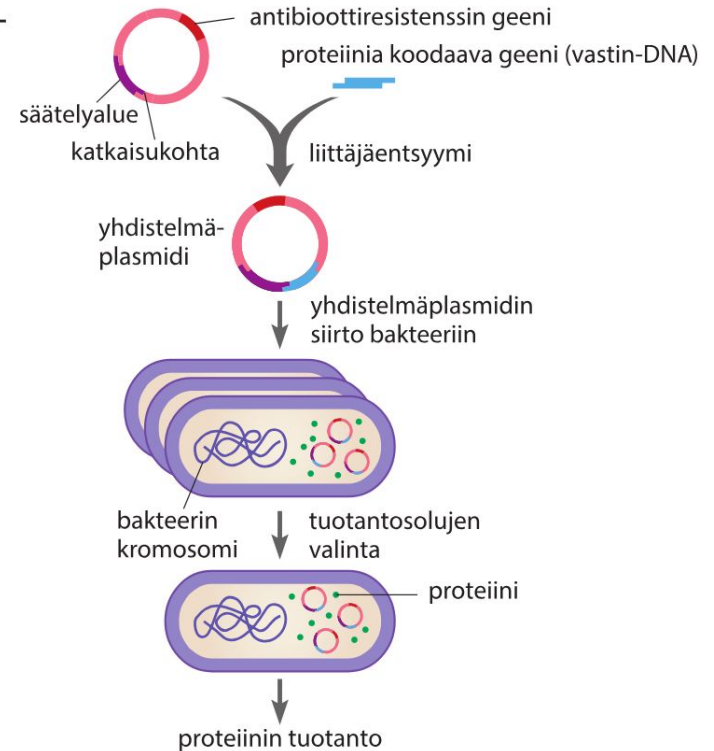
4. antibioottivalinta

5. bakteeri tuottaa proteiinia

(bioreaktori)

- esim. insuliinia

Yhdistelmä-DNA-
tekniikka

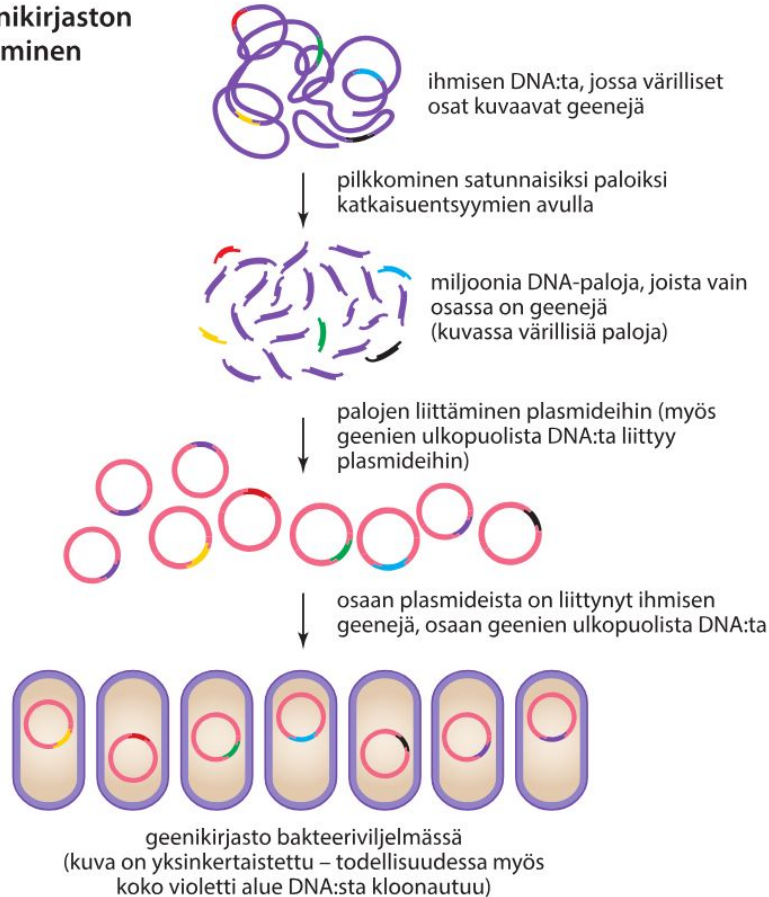


Geenikirjasto

- bakteereihin tumallisen
geenit -
geenien säilytyspaikka



Geenikirjaston tekeminen



[7] Eliöiden geenejä siirretään, muokataan ja poistetaan

Geenikirjastossa koko perimä

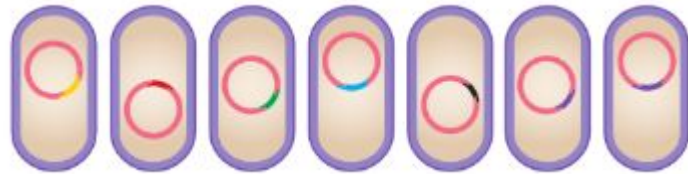
- DNA eristetään, pilkotaan ja liitetään plasmideihin
- sisältää koko perimän
- transformaatiolla bakteereihin
- antibioottivalinta
- säilytys nestemäisessä työssä

Vastin-DNA-kirjasto

- plasmideihin siirretään *cDNA:ta*
- eristetään l-RNA, muutetaan käänteiskopioijaentsyymillä cDNA:ksi ja liitetään plasmideihin
- transformaatiolla bakteereihin
- antibioottivalinta
- *vastin-DNA-kirjasto sisältää vain geenejä*

Onko maksa- ja ihosolusta tehdyt

- geenikirjastot samanlaiset?
- vastin-DNA-kirjastot samanlaiset?



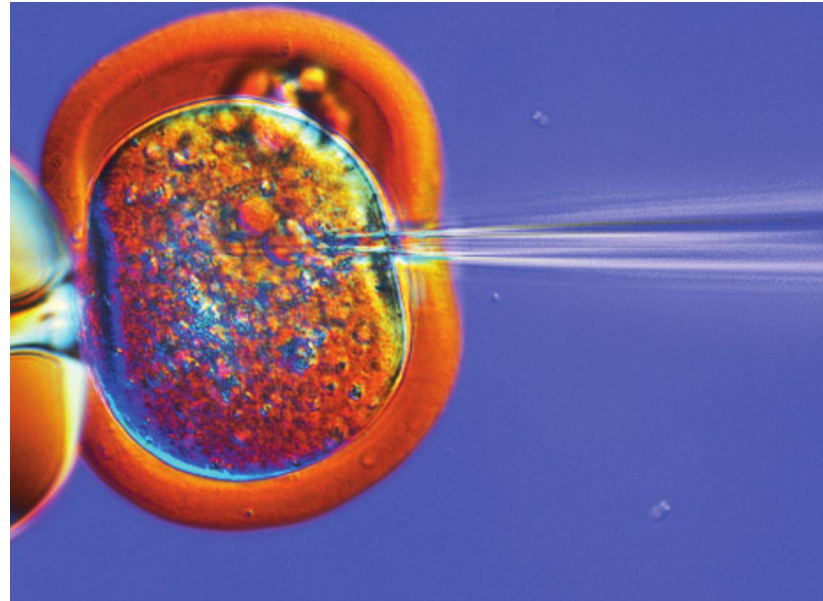
Siirtogeeniset eläimet

Geenin siirto eläinsoluun mikroinjeksiolla

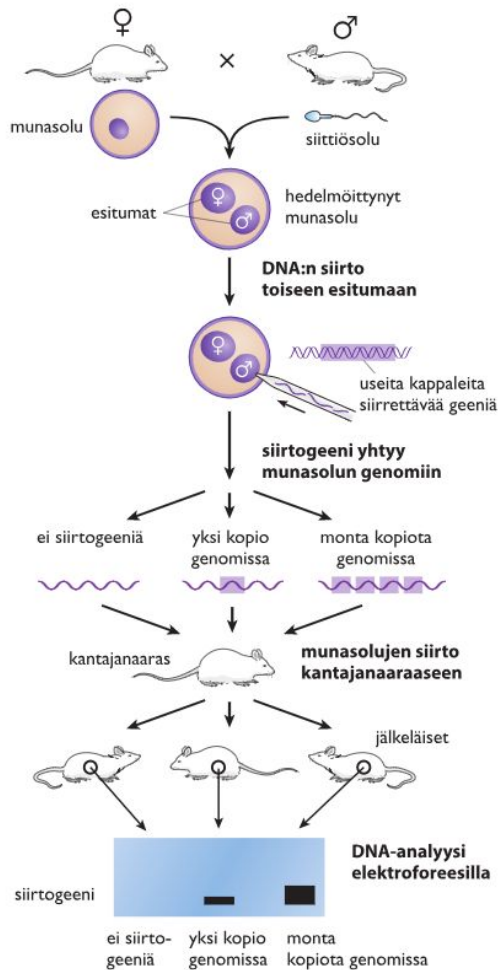
- geeninsiirto lasikapillaarilla

hedelmöittyneen munasolun

toiseen esitumaan



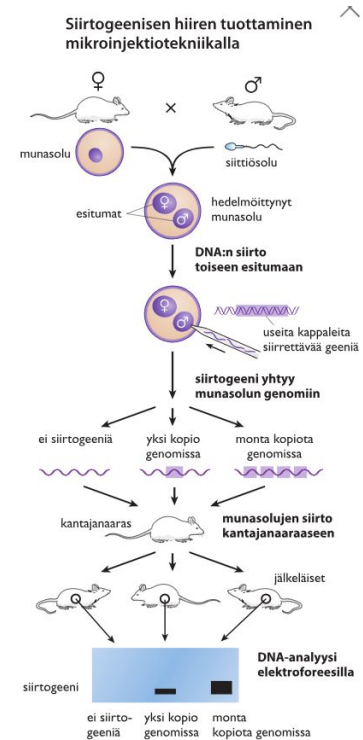
Siirtogeenisen hiiren tuottaminen mikroinjektio-tekniikalla



[7] Eliöiden genejä siirretään, muokataan ja poistetaan

[7] Eliöiden geenejä siirretään, muokataan ja poistetaan

- alkiot siirretään kantajahiireen
- onko jälkeläisessä haluttu geeni vai ei?
- jälkeläisanalyysi DNA:sta elektroforeesilla



[7] Eliöiden geenejä siirretään, muokataan ja poistetaan

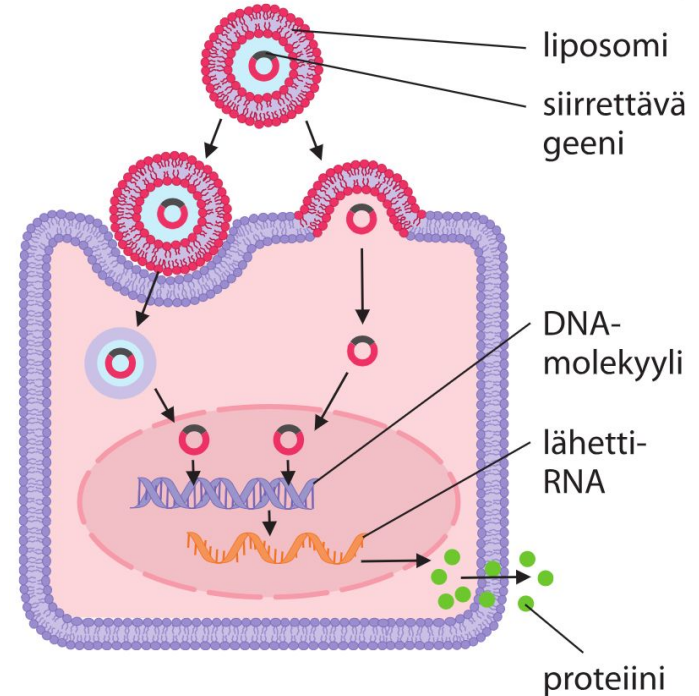
Geenin siirto soluviljelmään

- *sähköimpulssin avulla DNA*

soluihin → osaksi perimää

- *liposomiin siirretty geeni sulautuu*

solukalvoon → osaksi perimää



Virusvektorit

- luonnollinen vektori
- virusvektorista poistettu lisääntymisgeenit
- geenit korvataan siirrettävillä geeneillä

Geenin siirto eläinsoluun

Mikroinjektio

- munasolu

Virus

- soluviljelmä
- elävä eläin

Liposomi

- soluviljelmä

Sähköpulsssi

- soluviljelmä
- munasolu

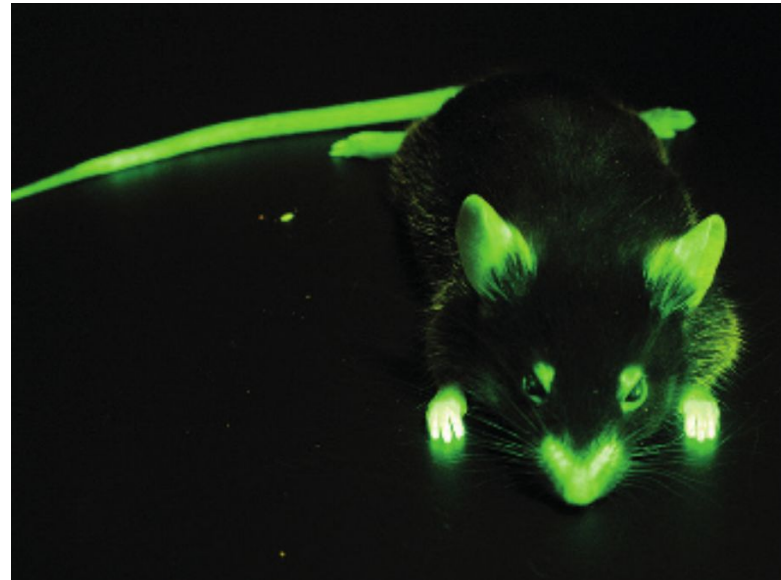
Geenin siirron onnistuminen tarkistetaan:

- merkkigeenillä
- koettimella

Geenin siirron onnistumisen selvittäminen

Merkkigeenillä

- siirtogeenissä merkkigeeni, joka on löydettävissä
- esim. UV-valossa hohtava hiiri



Koettimen avulla

- värjätty koetin pariutuu siirtogeenin lähetti-RNA:n kanssa



Poistogeenitekniikat

- geenistä tehdään toimintakyvytön

Kantasolujen avulla

- kantasolussa korvataan haluttu geeni toimintakyvyttömäksi
- näitä kantasoluja ruiskutetaan alkioihin

→ yksilössä normaaleja ja poistogeenisiä soluja



- poistogeenisiä yksilöitä risteyttämällä seuraavaan sukupolveen syntyy jälkeläisiä, joilla kaikki solut ovat poistogeenisiä
- merkkigeeni



[7] Eliöiden geenejä siirretään, muokataan ja poistetaan

Crispr- tekniikka

- geeni voidaan poistaa toiminnasta opas-RNA:n ja cas-entsyymin avulla

Poistogeenisen hiiren tuottaminen crispr-tekniikalla

