

Исследовательская работа «Клонирование гена флуоресцентного белка кораллового полипа в экспрессионный вектор»

Кузнецов Павел, 11X класс

СУНЦ МГУ, 2024

Цель исследования:

Клонировать ген флуоресцентного белка кораллового полипа для дальнейшего его внедрения в геном прокариотической клетки.

Задачи исследования:

- Изучить информацию по данному разделу;
- Применить базовые методы молекулярной биологии и генной инженерии для выделения из генома кораллового полипа гена флуоресцентного белка;
- Провести обратную транскрипцию из ДНК в РНК для дальнейшего внедрения гена в геном прокариотической клетки

Идея исследования:

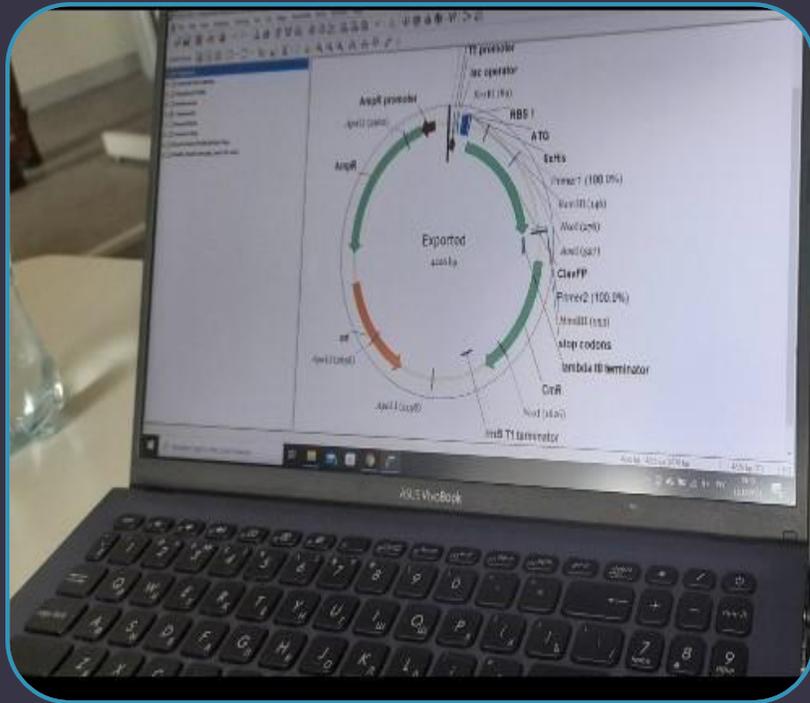
Ген из плазмиды кораллового полипа, кодирующий флуоресцентный белок, после обратной транскрипции и клонирования в дальнейшем может быть внедрен в геном другой клетки и может обеспечить ее флуоресценцию.

Гипотеза исследования:

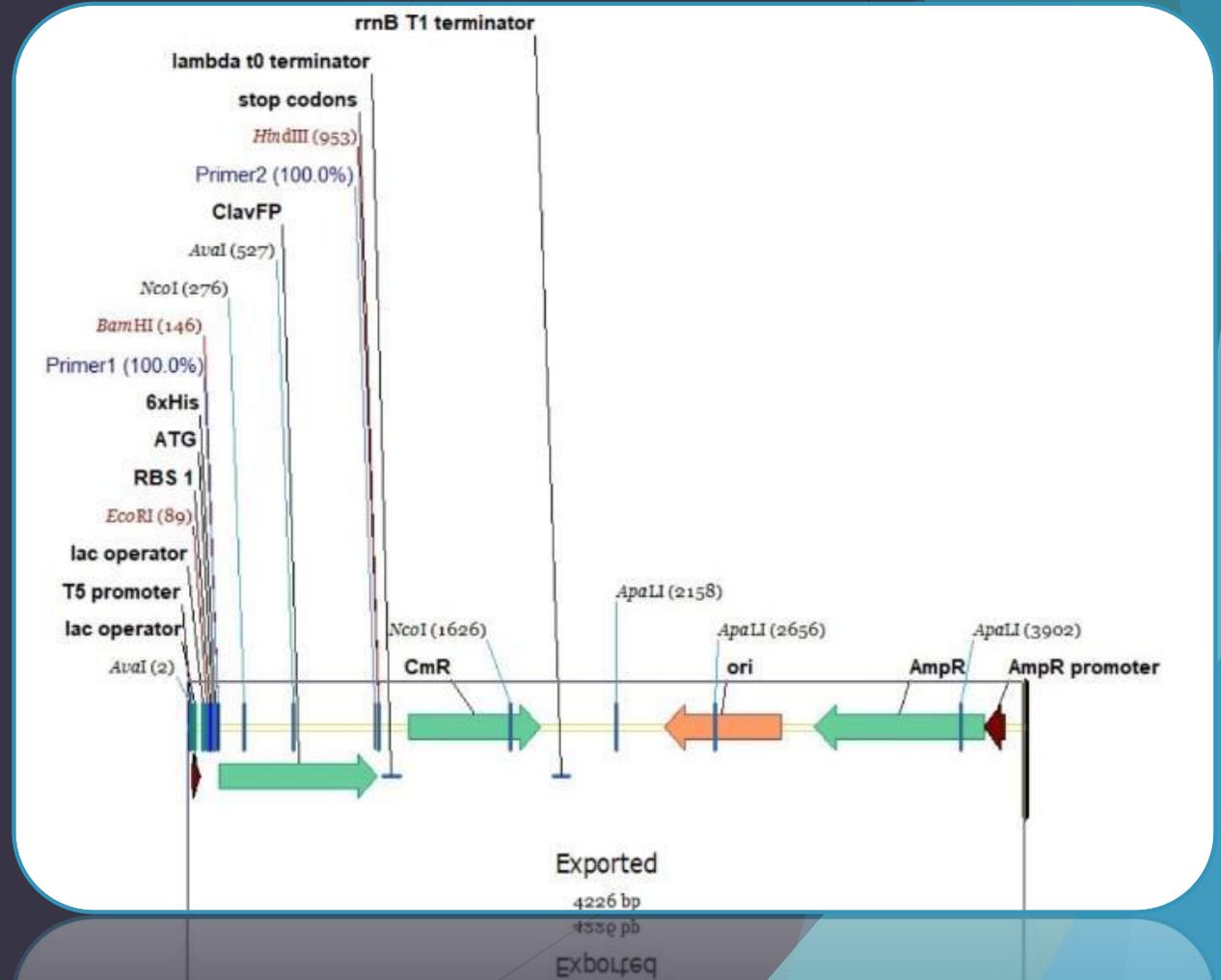
Возможно клонировать и выделить ген кораллового полипа, кодирующий флуоресцентный белок, для попыток дальнейшего внедрения его в прокариотические клетки.

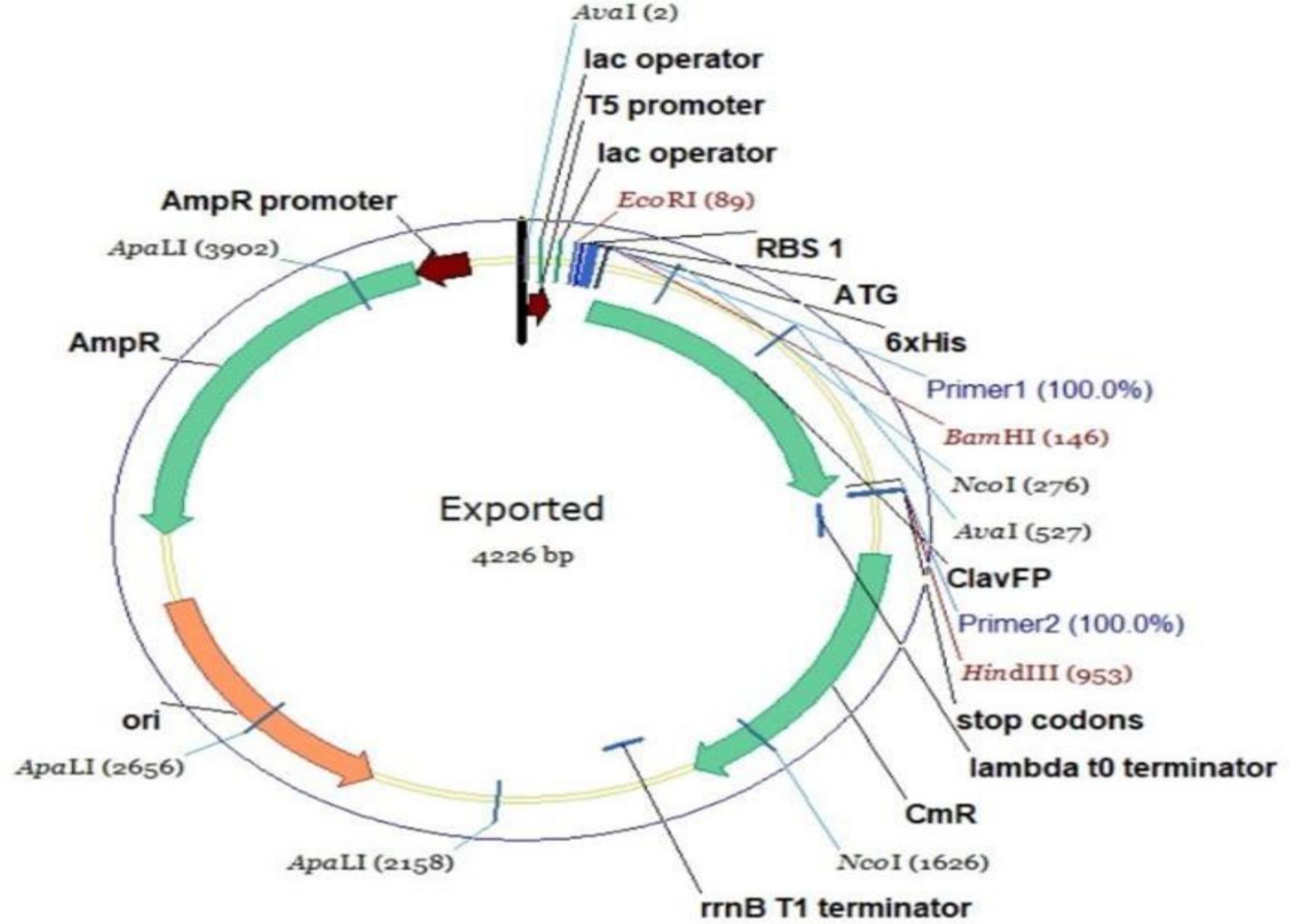
Ход исследования

День 1. Моделирование плазмиды «in silico»



Справа изображена модель линейризованной плазмиды pQE-30 со вставкой.

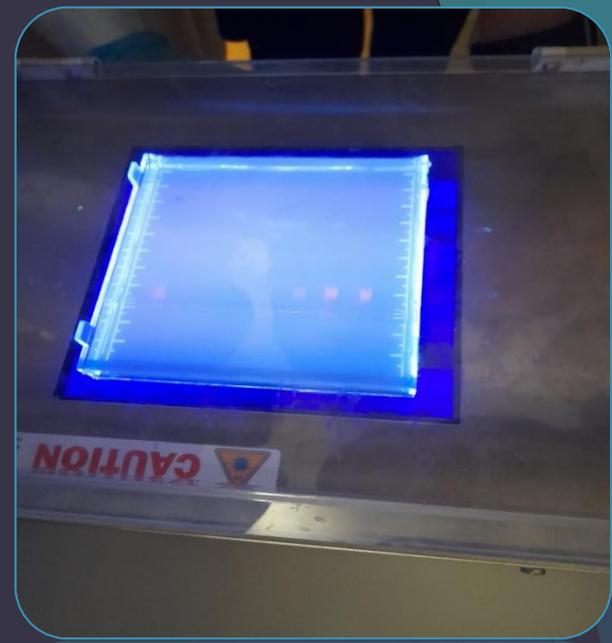




Плазмиды в кольцевой форме со вставленным геном

2 день. Выделение мРНК.

1. Гомогенизировать смесь в р-ре Extract RNA;
2. Отобрать супернатант и смешать с хлороформом;
3. Отобрать верхнюю фазу;
4. Провести высаливание нуклеиновых кислот;
5. Проверить результат электрофорезом;



3 день. Обратная транскрипция.

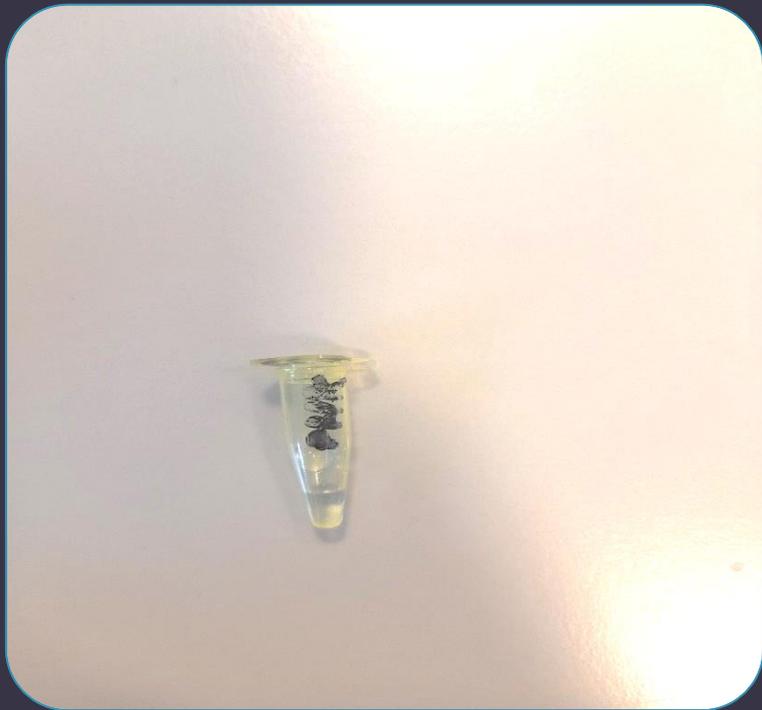
Приготовление смесей для обратной транскрипции:

Смесь 1	Смесь 2
РНК 2 мкл	2 мкл буфера 5x
Oligo-dT 1 мкл	DTT 1 мкл
Oligo-dG 1 мкл	dNTP 1 мкл
Воду 1 мкл	Обратная транскриптаза Mint 1 мкл

3 день. Обратная транскрипция.

Далее необходимо было произвести следующие действия:

- 1) Прогреть смесь 1;
- 2) Добавить одну смесь к другой;
- 3) Добавить IP-Solution;
- 4) Прогреть итоговую смесь.



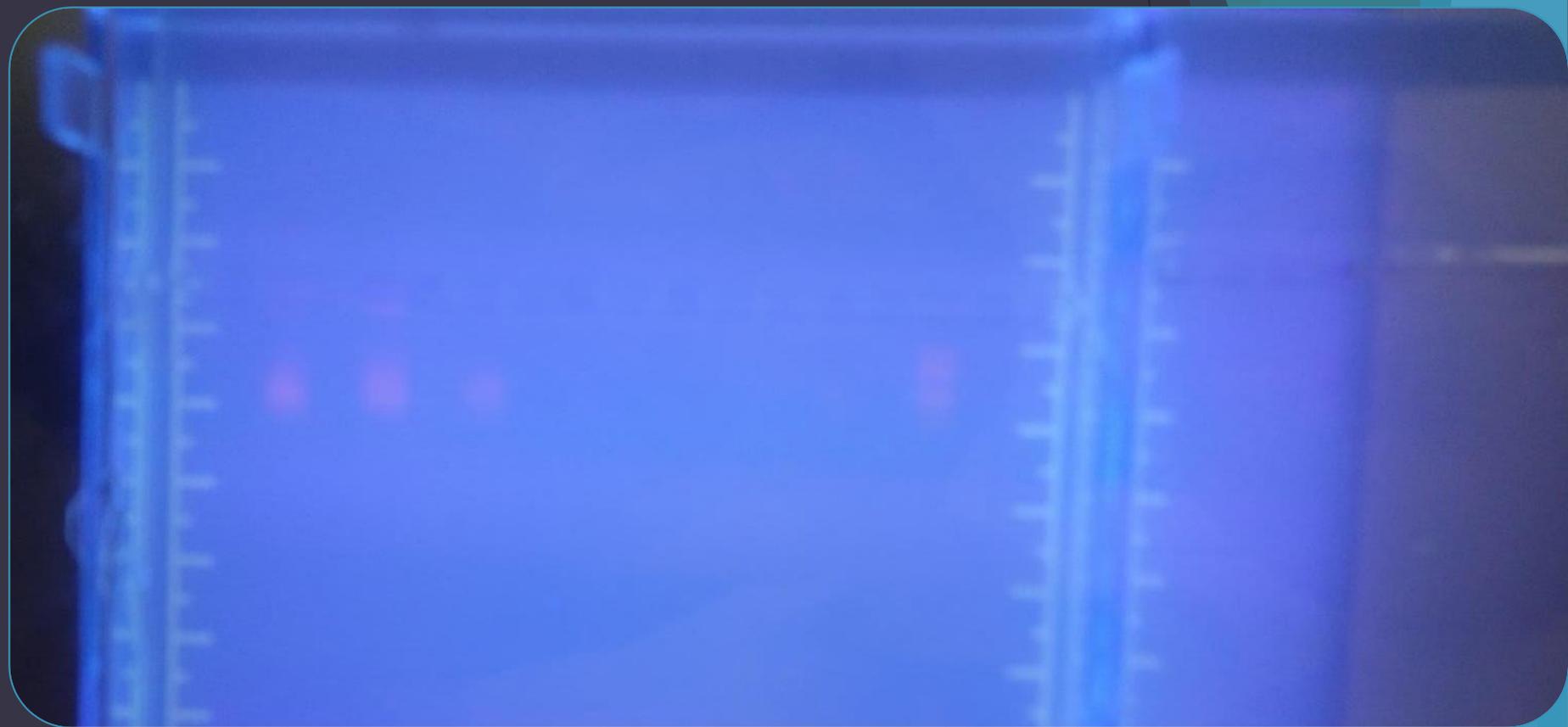
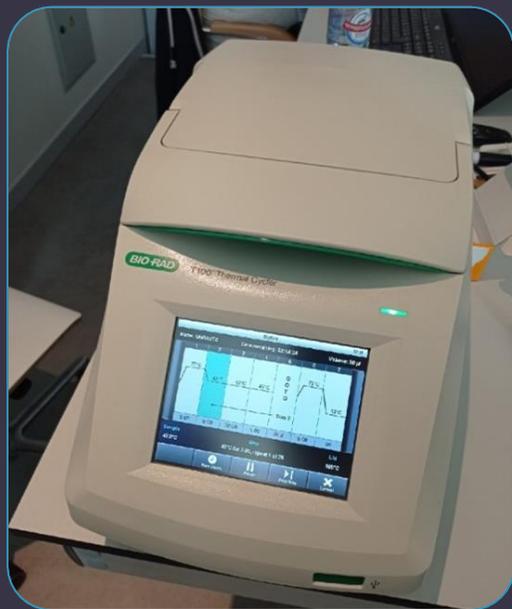
3 день. Обратная транскрипция.



4 день. Проведение ПЦР. Электрофорез

Смесь для проведения ПЦР состояла из следующих компонентов:

- 1) кДНК, разбавленная в 10 раз (2 мкл)
- 2) ДНК-полимераза Encyclo 50x (1 мкл)
- 3) Прямой и обратный праймеры (2 мкл)
- 4) Буфер 10x (5 мкл)
- 5) dNTP 50x (1 мкл)
- 6) Вода (39 мкл)



Выводы:

Гипотеза подтвердилась - в исследовательской работе удалось клонировать и выделить ген кораллового полипа, кодирующий флуоресцентный белок для попыток дальнейшего внедрения его в прокариотические клетки.

Спасибо за внимание!