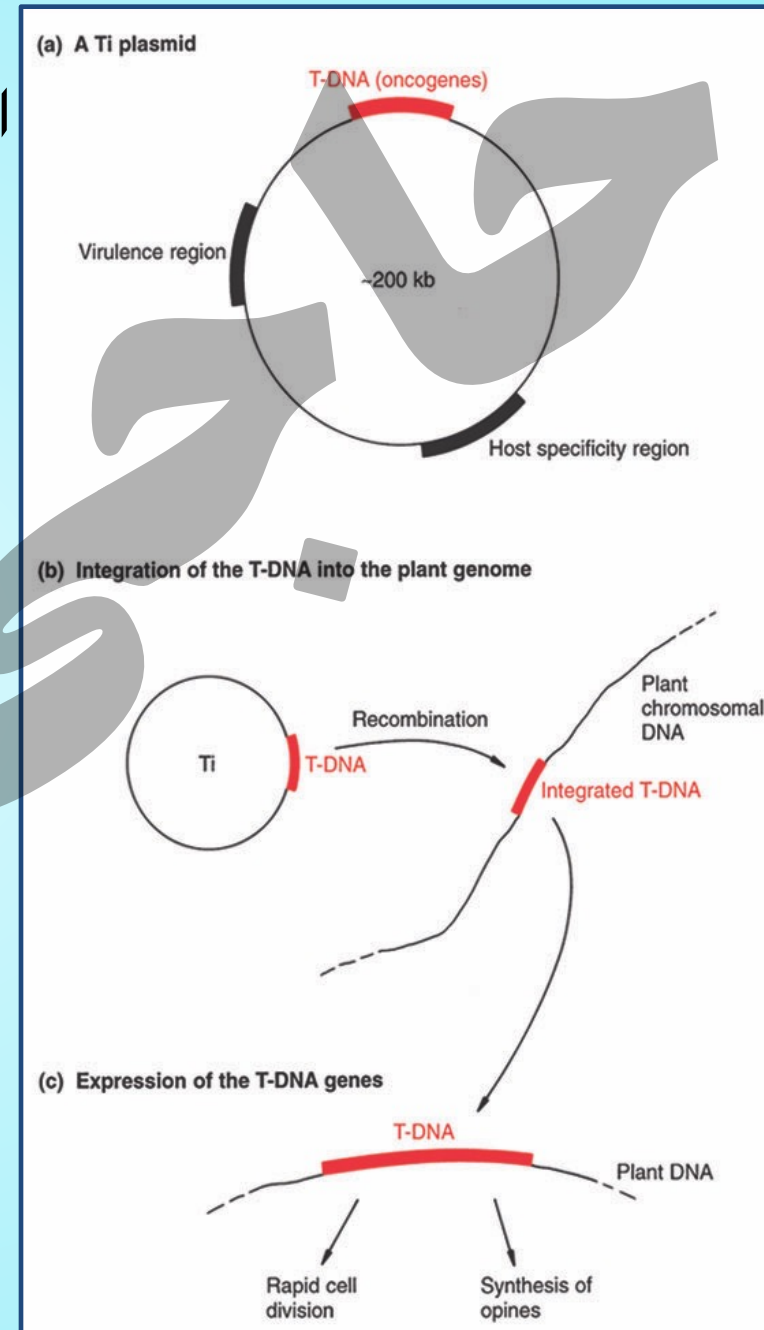
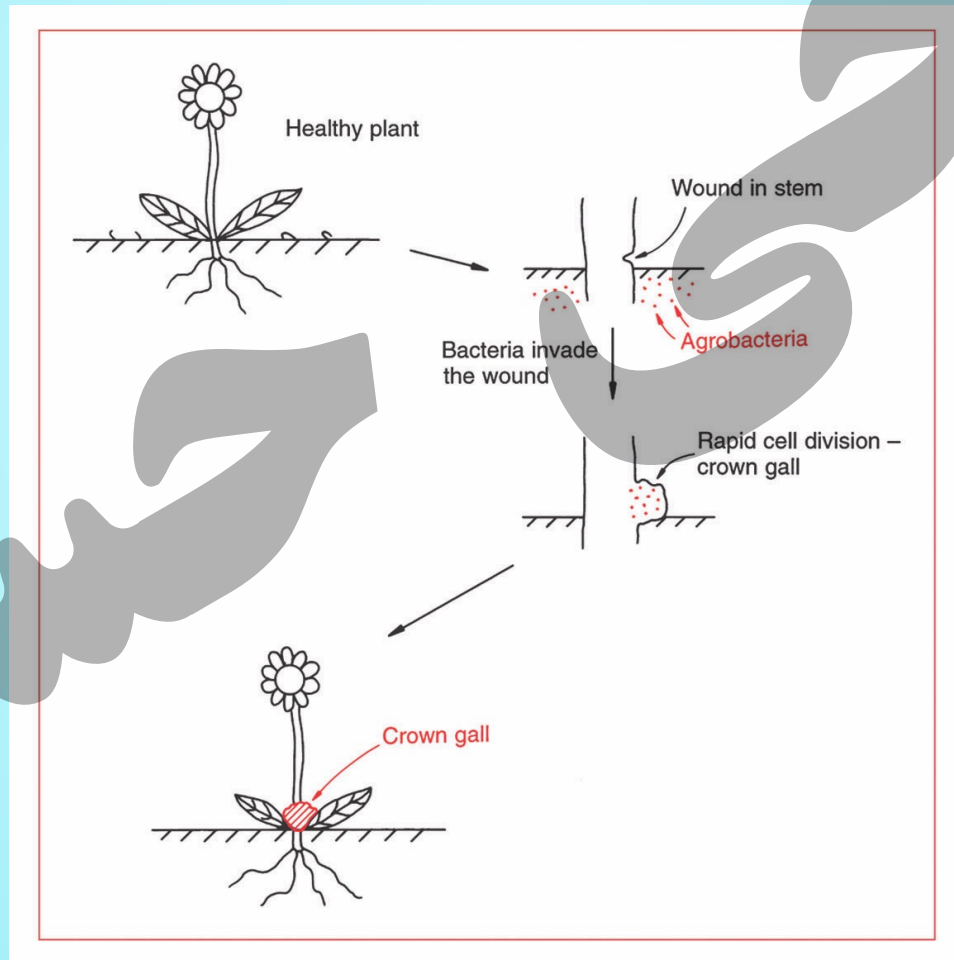


استفاده از گیاهان به عنوان میزبان

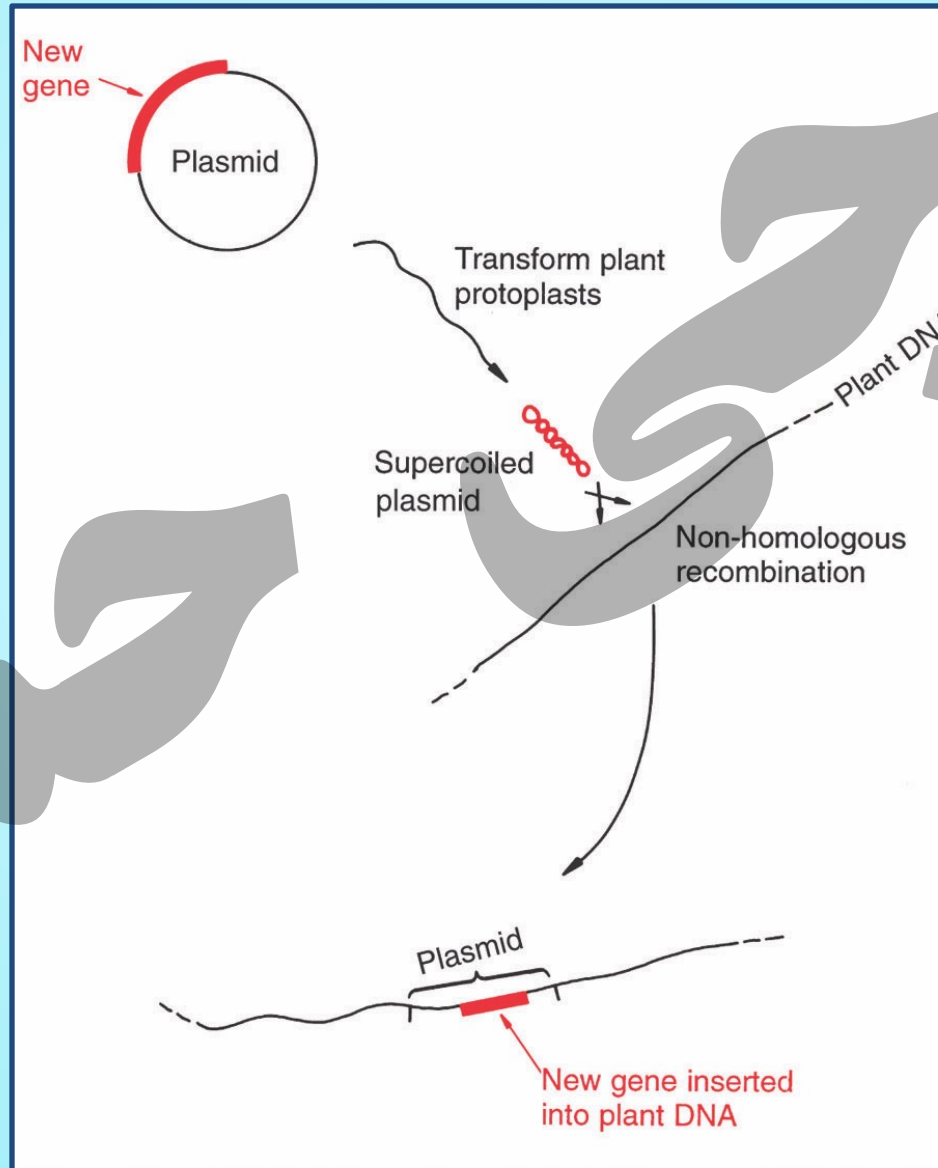
- (1) Vectors based on naturally occurring plasmids of *Agrobacterium*)Ti (tumour inducing) plasmid(.
- (2) Direct gene transfer using various types of plasmid DNA.
- (3) Vectors based on plant viruses.
caulimoviruses , geminiviruses



Ti (tumour inducing) plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*



کلون کردن ژن ها بصورت مستقیم



Biolistics

ژن

استفاده از حشره به عنوان میزبان

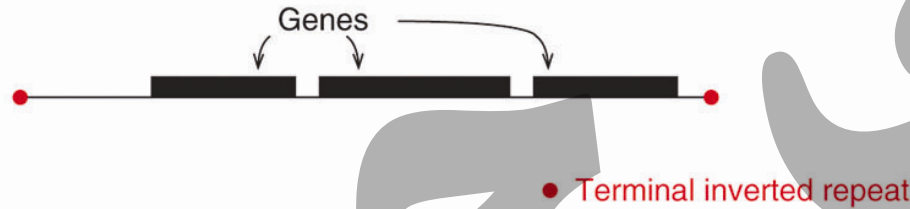
(fruit fly) *Drosophila melanogaster*

وکتورهای کلونینگ :

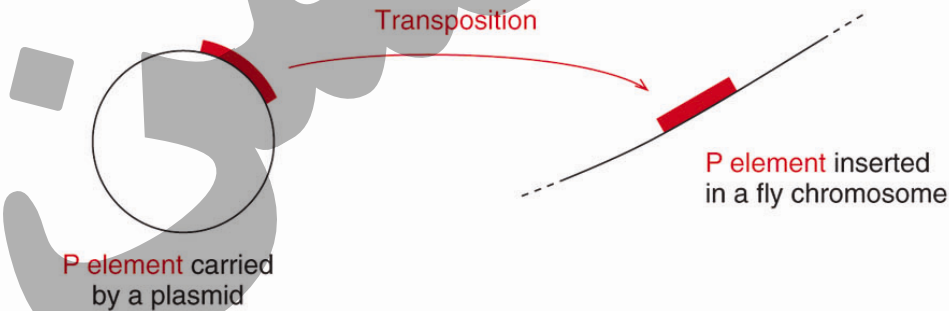
P elements as cloning vectors

baculovirus vectors

The structure of a P element



P element transposition



استفاده از حشره به عنوان میزبان

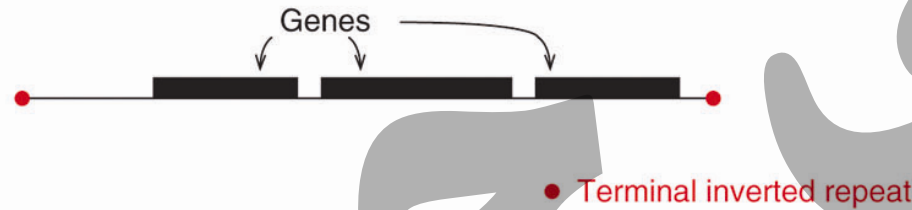
(fruit fly) *Drosophila melanogaster*

وکتورهای کلونینگ :

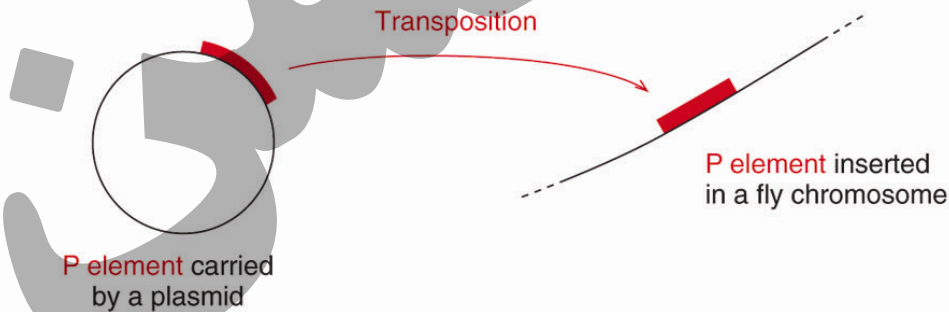
P elements as cloning vectors

baculovirus vectors

The structure of a P element



P element transposition

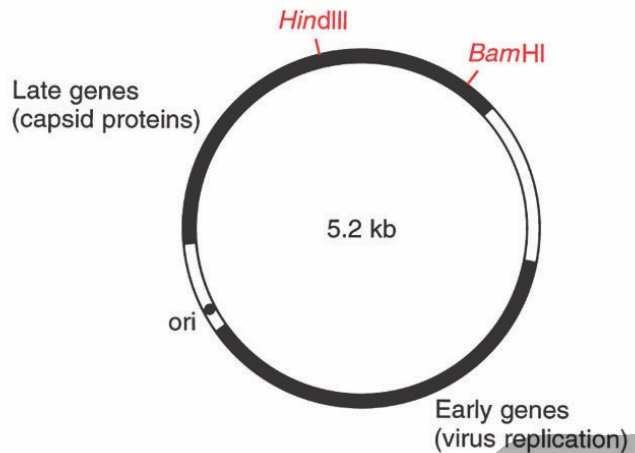


A P element is a transposon.

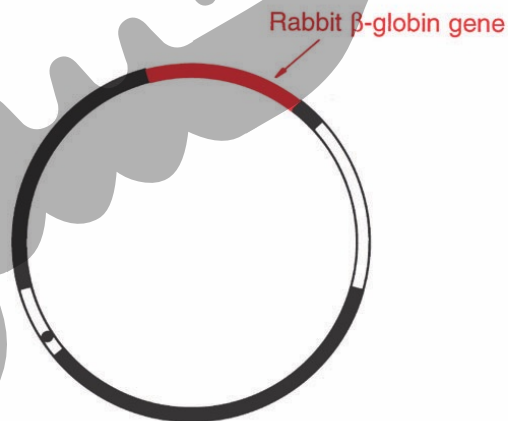
The P element encodes for the protein P transposase and is flanked by terminal inverted repeats which are important for its mobility.

استفاده از سلول های حیوانی (پستاندار)

(a) The SV40 genome



(b) SVGT-5 with the inserted rabbit β -globin gene



• وکتورهای حیوانی:

1- papova viral vectors

SV40, Polyoma virus, BK, JC

میمون، فیبروبلاست

چوندگان و موش

سلول های انسان

2- Adeno viral vectors

3- Retroviral vectors

4- vaccinia virus vectors

5- Papilloma viruses

6- Adeno-associated viruses (AAV)

روش های وارد کردن DNA خارجی به درون سلول:

Calcium phosphate coprecipitation method

به منظور وارد کردن DNA به درون سلول های چسبنده

1- مخلوط کردن کلسیم کلراید- با فوسفات با پلاسمید در pH خنثی

2- شکل گیری رسوبات کلسیم فسفات DNA

3- جذب رسوبات حاصله توسط سلول ها

Polybrene-DMSO mediate gene transfer

-
-

پلی کاتیون سنتتیک Polybrene

افزایش نفوذپذیری غشاء DMSO

اختصاصی برای سلول های CHO

Electroporation

اختصاصی برای کشت های سوسپانسیون

Laser poring

ایجاد سوراخ در غشاء در اثر نورلیزر

Erythrocyte ghost fusion

Microinjection

وارد کردن مستقیم DNA به درون هسته

Particle bombardment(biolistics)

حسین

مارک‌های انتخاب

Recessive biosynthetic selection marker

- حذف یکی از آنزیم‌های کلیدی مسیرهای بیوشیمیایی از سلول میزبان و تامین آن از طریق وکتور
 - کشت سلول‌ها روی محیط انتخابی
- مثل تایمیدین کینازیا هیپوگزانتین گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز
- محیط: HAT (حاوی تایمیدین-هیپوگزانتین-aminopterin)

Dominant biosynthetic selection marker

- وارد کردن ژن تریپتوفان سنتتاز باکتریایی در وکتور
- محیط: فاقد تریپتوفان و حاوی indole

Dominant antibiotic selection marker

- وارد کردن ژن مقاومت آنتی بیوتیکی
- وارد کردن ژن p-glycoprotein غشایی که مقاومت علیه داروهای (multiple cytotoxic drugs)(mdr)
- مثل اکتینومايسين D – آدریامایسین- کلشی سین ایجاد می کند