

Оглавление

От редактора перевода.....	5	Другие плазмидные векторы	60
Предисловие	7	Создание и скрининг библиотек.....	62
Предисловие к первому изданию.....	9	Создание геномной библиотеки.....	62
ЧАСТЬ I		Скрининг с помощью гибридизации	64
ОСНОВЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОТЕХ-		Иммунологический скрининг	67
НОЛОГИИ	13	Скрининг по активности белка	69
Глава 1. Молекулярно-биотехнологическая		Клонирование структурных генов эукариот	70
революция	15	Векторы для клонирования крупных фраг-	
Технология рекомбинантных ДНК	15	ментов ДНК	71
Возникновение молекулярной биотехно-		Векторы на основе бактериофага λ	71
логии	16	Космиды.....	74
Коммерциализация молекулярной био-		Векторные системы для клонирования	74
технологии	19	очень крупных фрагментов ДНК	76
Надежды и опасения	20	Генетическая трансформация прокариот	76
Заключение	22	Перенос ДНК в <i>E. coli</i>	76
Литература	23	Электропорация	76
Контрольные вопросы.....	23	Коньюгация	77
Глава 2. Биологические системы, использу-		Заключение	77
ющиеся в молекулярной биотехнологии	24	Литература	78
Прокариоты и эукариоты	24	Контрольные вопросы.....	79
<i>Escherichia coli</i>	24	Глава 5. Химический синтез, определение	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	27	нуклеотидной последовательности и ампли-	
Культуры эукариотических клеток	27	фикация ДНК.....	80
Заключение	28	Химический синтез ДНК	80
Литература	28	Фосфорамидный метод	80
Контрольные вопросы.....	28	Применение синтезированных олиго-	
Глава 3. ДНК, РНК и синтез белка	29	нуклеотидов	85
Структура ДНК.....	29	Синтез генов	86
Репликация	32	Методы секвенирования ДНК	88
Расшифровка генетической информации:		Дидезоксинуклеотидный метод секве-	
РНК и белок	33	нирования ДНК	89
Трансляция	38	Секвенирование ДНК с помощью вектора	
Регуляция транскрипции у бактерий	41	на основе фага M13.....	91
Регуляция транскрипции у эукариот	45	Праймер-опосредованная прогулка	93
Заключение	47	Полимеразная цепная реакция	94
Литература	49	Получение с помощью ПЦР кДНК, от-	
Контрольные вопросы.....	49	вечающих концам молекул мРНК.....	98
Глава 4. Технология рекомбинантных ДНК	50	Синтез генов с помощью ПЦР	102
Рестрирующие эндонуклеазы	50	Заключение	102
Плазмидные векторы.....	56	Литература	103
Плазмидный вектор pBR322.....	58	Контрольные вопросы	104
Трансформация и отбор	58	Глава 6. Оптимизация экспрессии генов,	
		клонированных в прокариотических	
		системах.....	105
		Экспрессия генов при участии сильных	
		регулируемых промоторов	105

Регулируемые промоторы	107
Получение больших количеств белковых продуктов	108
Крупномасштабные системы.....	109
Использование для экспрессии других микроорганизмов.....	111
Химерные белки	112
Расщепление химерных белков	112
Применение химерных белков	113
Включение белков в поверхностные струк- туры	115
Однонаправленное tandemное расположение генов.....	117
Трансляционные экспрессирующие век- торы.....	118
Стабилизация белков.....	121
Рост в условиях недостатка кислорода.....	122
Применение хозяйственных штаммов с дефи- цитом протеиназ	122
Бактериальный «гемоглобин».....	122
Интеграция чужеродной ДНК в хромосо- му хозяина	123
Повышение эффективности секреции.....	126
Метаболическая перегрузка	127
Заключение	130
Литература.....	131
Контрольные вопросы.....	133
Глава 7. Получение рекомбинантных белков с помощью эукариотических систем	135
Системы экспрессии <i>Saccharomyces cere- visiae</i>	136
Векторы для <i>S. cerevisiae</i>	137
Прямая экспрессия в <i>S. cerevisiae</i>	137
Секреция гетерологичных белков, синте- зируемых <i>S. cerevisiae</i>	139
Другие дрожжевые системы экспрессии.....	140
Синтез поверхностного антигена вируса гепатита В	141
Синтез бычьего лизоцима С2	142
Системы экспрессии с использованием культур клеток насекомых	143
Система экспрессирующих векторов на основе бакуловирусов	144
Получение рекомбинантных бакулови- русов	145
Создание челночного вектора на основе бакуловирусов для <i>E. coli</i> и клеток на- секомых	146
Выделение рекомбинантного белка из кле- ток насекомых с помощью аффинного связывания	149
Экспрессирующие векторы для работы с клетками млекопитающих.....	149
Селективные маркерные гены	150
Экспрессия двух клонированных генов в одной клетке млекопитающих	151
Заключение	154
Литература	155
Контрольные вопросы	156
Глава 8. Направленный мутагенез и генная инженерия белков	158
Направленный мутагенез: методика	158
Олигонуклеотид-направленный мутагенез с использованием ДНК фага M13	159
Олигонуклеотид-направленный мутагенез с использованием плазмидной ДНК	161
Олигонуклеотид-направленный мутагенез с использованием ПЦР-амплификации	163
Случайный мутагенез с использованием «вырожденных» олигонуклеотидных прай- меров	163
Случайный мутагенез с использованием аналогов нуклеотидов	166
Генная инженерия белков	168
Образование дополнительных дисульфид- ных связей	168
Замена аспарагина на другие аминокис- лоты	170
Уменьшение числа свободных сульфид- ильных групп	170
Повышение ферментативной активности	171
Изменение потребности ферментов в ме- таллических кофакторах	172
Изменение специфичности фермента.....	173
Повышение стабильности и специфич- ности фермента	174
Заключение	175
Литература	175
Контрольные вопросы	176
ЧАСТЬ II	
МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ	
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ	179
Глава 9. Молекулярная диагностика	181
Методы иммунодиагностики.....	182
Ферментный иммunoсорбентный анализ	182
Моноклональные антитела	184
Образование и отбор гибридных клеток	185
Идентификация гибридных клеточных ли- ний, секретирующих специфические ан- титела	185

Системы ДНК-диагностики	187	Пептидные вакцины	231
Гибридизационные зонды	188	Генная иммунизация	233
Диагностика малярии	188	Аттенуированные вакцины	234
Выявление <i>Trypanosoma cruzi</i>	189	Противохолерные вакцины	235
Нерадиоактивные методы детекции.....	190	Противосальмонеллезные вакцины	236
Геномная дактилоскопия.....	192	Противолейшманиозные вакцины	237
Использование полиморфных ДНК-маркеров	194	«Векторные» вакцины	238
Молекулярная диагностика генетических заболеваний	195	Противовирусные вакцины	238
Серповидноклеточная анемия	195	Противобактериальные вакцины	242
Метод ПЦР/ЛОЗ	196	Бактерии как системы доставки анти- генов	242
Генотипирование с использованием флуоресцентно меченных ПЦР-праймеров	198	Заключение	243
Мутации в разных сайтах одного гена.....	199	Литература	244
Перспективы	201	Контрольные вопросы.....	246
Заключение	201		
Литература	202		
Контрольные вопросы.....	203		
Глава 10. Микробиологическое производство лекарственных средств	204	Глава 12. Использование рекомбинантных микроорганизмов для получения коммерческих продуктов	247
Лекарственные препараты.....	204	Эндонуклеазы рестрикции	247
Выделение кДНК интерферонов.....	204	Малые биологические молекулы.....	250
Интерфероны человека, полученные методом генной инженерии.....	207	Синтез L-аскорбиновой кислоты	250
Гормон роста человека, полученный методом генной инженерии.....	208	Синтез индиго	252
Оптимизация генной экспрессии.....	208	Синтез аминокислот	255
Ферменты.....	209	Антибиотики	257
ДНКаза I.....	209	Клонирование генов биосинтеза антибио- тиков	259
Альгинат-лиаза.....	209	Синтез новых антибиотиков	259
Моноклональные антитела как лекарствен- ные средства	210	Разработка новых методов получения по- ликетидных антибиотиков	260
Структура и функции антител	211	Усовершенствование производства анти- биотиков	263
Профилактика отторжения транспланти- рованных органов	212	Биополимеры	266
Лекарственные вещества, связанные с мо- ноклональными антителами	212	Создание рекомбинантной бактерии <i>Xanthomonas campestris</i> с целью получения ксантановой слизи	266
Моноклональные антитела человека.....	214	Выделение генов биосинтеза меланина	267
Гибридные моноклональные антитела че- ловека и мыши	215	Микробиологический синтез животного биополимера с адгезивными свойствами	268
Производство антител с помощью <i>E. coli</i>	218	Микробиологический синтез каучука	270
Лекарственные средства против ВИЧ	222	Микробиологический синтез полигидрок- сиалканоатов	270
Заключение	224	Заключение	272
Литература	224	Литература	272
Контрольные вопросы.....	226	Контрольные вопросы	274
Глава 11. Вакцины	227	Глава 13. Биодеградация токсичных соеди- нений и утилизация биомассы.....	275
Субъединичные вакцины	228	Деградация ксенобиотиков с помощью микроорганизмов	275
Противогерпетические вакцины	230	Метаболические пути биодеградации ксе- нобиотиков, созданные методами генной инженерии	276
Противоящурные вакцины	230		
Противотуберкулезные вакцины	231		

Перенос плазмид.....	276	Генная инженерия генов токсинов	336
Изменение генов	281	<i>B. thuringiensis</i>	336
Утилизация крахмала и сахаров	286	Бакуловирусы как инструмент биоконтроля	342
Промышленное производство фруктозы и этанола	287	Механизм действия	342
Повышение эффективности производства фруктозы и этанола.....	289	Усиление биоконтроля с помощью генной инженерии	343
<i>Zymomonas mobilis</i>	292	Заключение	344
Получение силоса	294	Литература	345
Утилизация целлюлозы	294	Контрольные вопросы.....	347
Компоненты лигноцеллюлозы	294		
Выделение прокариотических целлюлазных генов.....	296		
Выделение зукариотических целлюлазных генов	298		
Манипуляции с целлюлазными генами	300		
Белок одноклеточных организмов	301		
Заключение	302		
Литература	303		
Контрольные вопросы	305		
Глава 14. Бактерии, стимулирующие рост растений	306		
Фиксация азота	306		
Нитрогеназа	308		
Компоненты	308	Двухступенчатая ферментация в tandemных эрлифтных биореакторах	360
Генная инженерия кластера генов нитрогеназы	310	Двухступенчатая ферментация в одном реакторе с механическим перемешиванием	362
Гидрогеназа	313	Периодическая ферментация и периодическая ферментация с добавлением субстрата	363
Метаболизм водорода	313	Сбор клеток	363
Модификация генов гидрогеназ	314	Разрушение клеток	365
Образование клубеньков	316	Дальнейшая обработка	366
Конкуренция среди организмов, образующих клубеньки	316	Солюбилизация белков	367
Манипуляции с генами образования клубеньков	316	Заключение	367
Биоконтроль патогенных микроорганизмов	320	Литература	368
Сидерофоры	321	Контрольные вопросы	369
Антибиотики	322		
Ферменты	323		
Образование кристаллов льда и антифризные белки	325		
Стимуляция роста растений свободноживущими бактериями.....	326		
Заключение	327		
Литература	328		
Контрольные вопросы	330		
Глава 15. Микробные инсектициды	331		
Токсин, синтезируемый <i>Bacillus thuringiensis</i>	332		
Механизм действия и использование	332		
Идентификация генов токсинов	335		
		ЧАСТЬ III	
		ЭУКАРИОТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ	371
Глава 17. Генная инженерия растений: методология	373		
Трансформация растений Ti-плазмидой из <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	373		
Векторные системы на основе Ti-плазмид	377		
Физические методы переноса генов в растительные клетки	379		
Бомбардировка микрочастицами	380		
Применение репортерных генов при трансформации клеток растений	381		

Эксперименты по экспрессии чужеродных генов в растениях	382	Перенос генов с помощью искусственных дрожжевых хромосом.....	428
Выделение различных промоторов и их использование	383	Трансгенные мыши: применение.....	430
Введение чужеродных генов в хлоропластную ДНК	384	Трансгенный крупный рогатый скот	433
Получение трансгенных растений, не содержащих маркерных генов.....	386	Трансгенные овцы, козы и свиньи.....	435
Заключение	386	Трансгенные птицы	436
Литература	387	Трансгенные рыбы.....	438
Контрольные вопросы.....	388	Заключение	439
Глава 18. Генная инженерия растений: применение	389	Литература	439
Выведение растений, устойчивых к насекомым-вредителям, вирусам и гербицидам	389	Контрольные вопросы	441
Растения, устойчивые к насекомым-вредителям	389	Глава 20. Молекулярная генетика человека	442
Растения, устойчивые к вирусам	395	Генетическое сцепление и картирование генов	444
Растения, устойчивые к гербицидам	400	Обнаружение и оценка генетического сцепления у человека	446
Растения, устойчивые к грибам и бактериям	401	Анализ сцепления методом максимального правдоподобия: логарифм соотношения шансов (лод-балл).....	447
Получение растений, противостоящих неблагоприятным воздействиям и старению	403	Построение генетических карт хромосом человека	450
Окислительный стресс	403	Генетический полиморфизм.....	450
Солевой стресс	404	Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов	451
Созревание плодов.....	405	Полиморфизм коротких tandemных повторов.....	454
Изменение окраски цветков.....	406	Картирование локуса генетического заболевания в определенном районе хромосомы	456
Изменение пищевой ценности растений.....	407	Построение мультилокусных хромосомных карт человека	459
Аминокислоты	408	Локализация гена заболевания на карте сцепления	460
Липиды	408	Картирование с использованием радиационных гибридов	460
Изменение вкуса и внешнего вида плодов.....	410	Физическое картирование генома человека	462
Изменение внешнего вида.....	410	Построение контигов из YAC-, BAC- и PAC-библиотек	462
Изменение вкуса	411	Построение контигов из космидных, P1- и λ-библиотек	463
Растения как биореакторы	412	Транскрипционное картирование	465
Антитела	412	Клонирование генов заболеваний человека	467
Полимеры	412	Выявление мутаций в генах человека	467
Чужеродные белки, аккумулирующиеся в семенах	413	Функциональное картирование	468
Заключение	413	Кандидатное картирование	469
Литература	413	Позиционное картирование	469
Контрольные вопросы.....	416	Позиционно-кандидатное картирование	476
Глава 19. Трансгенные животные	418	Программа «Геном человека».....	477
Трансгенные мыши: методология	419	Заключение	479
Использование ретровирусных векторов	419	Литература	481
Метод микроИнъекций ДНК	420	Контрольные вопросы	482
Использование модифицированных эмбриональных стволовых клеток.....	422		
Клонирование с помощью переноса ядра	426		

Глава 21. Генная терапия.....	483
Генная терапия <i>ex vivo</i>	487
Генная терапия <i>in vivo</i>	493
Вирусные системы доставки генов.....	493
Ретровирусные векторы	493
Аденовирусные векторы	494
Векторы на основе аденоассоциированных вирусов	496
Векторы на основе вируса простого герпеса	496
Невирусные системы доставки генов.....	498
Активация предшественника лекарственного вещества («пролекарства»)	502
Лекарственные средства на основе олигонуклеотидов	503
Синтез «антисмысловых» мРНК <i>in vivo</i>	504
«Антисмыловые» олигонуклеотиды как лекарственные средства	506
Олигонуклеотиды, связывающиеся с белками: антиретромивный аптамер	508
Рибозимы как лекарственные средства	508
Коррекция генетических дефектов с помощью олигонуклеотидов.....	509
Заключение	510
Литература.....	511
Контрольные вопросы	513
 ЧАСТЬ IV	
КОНТРОЛЬ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ И ПАТЕНТОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ИЗОБРЕТЕНИЙ	515
Глава 22. Контроль применения биотехнологических методов	517
Контроль экспериментов с рекомбинантными ДНК	518
Контроль за производством и потреблением пищевых продуктов и пищевых добавок	519
Химозин	520
Триптофан.....	520
Бычий соматотропин	521
Контролируемое высвобождение генетически модифицированных организмов в окружающую среду	523
<i>Pseudomonas syringae</i> , не образующие кристаллов льда	523
Открытые полевые испытания других генетически модифицированных организмов	525
Генная терапия человека	526
Политика в области генной терапии соматических клеток	527
Накопление дефектных генов в будущих поколениях.....	528
Генная терапия клеток зародышевой линии.....	529
Клонирование человека.....	529
Заключение	530
Литература	531
Контрольные вопросы	532
Глава 23. Патентование биотехнологических изобретений	533
Общие вопросы патентования изобретений.....	534
Патентование изобретений в разных странах	536
Патентование ДНК-последовательностей.....	537
Патентование многоклеточных организмов.....	539
Патентование и фундаментальные исследования	539
Заключение	541
Литература	541
Контрольные вопросы.....	542
Словарь терминов	543
Предметный указатель.....	564
Указатель латинских названий	577