



Elektroporáció

Papp Eszter

Készült: Gruiz Katalin
Géntechnikák c. előadásához



Transzformáció

A **transzformáció** az a folyamat, amikor a sejtek „tisztá” DNS-t vesznek fel és építenek be. A DNS transzportálódik a citoplazmába, ahol rekombináció történik.

- genetikai információátvitel (az első, amit felfedeztek)
- fontos a donor DNS megtartása a recipiensben
- géntérképezés transzformációval

Típusai:

1. Természetes transzformáció

- a mikrobáknak csak egy kis csoportjára jellemző
- általában lineáris DNS

2. Mesterségesen indukált transzformáció

- a legtöbb (de nem az összes) mikroorganizmus képes így DNS felvételre
- általában plazmid DNS

DNS felvételére képes sejt: **kompetens.**

Mesterséges kompetencia

A transzformáció a molekuláris biológia egyik legfontosabb, alapvető technikája. Lehetőséget ad arra, hogy idegen DNS-t vigyünk be egy baktériumba.

Gyakran csak úgy transzformálható a sejt, ha mesterségesen kompetenssé tesszük.

/ Alapelv: az *E. coli* felvesz és replikál gyűrűs DNS-t. */*

A mesterséges transzformáció két típusa:

Kémiai kompetencia

Elektroporáció/elektrotranszformáció

A transzformáció hatékonysága

Transzformációs gyakoriság

Sejtszámra:

transzformánsok száma/ μg DNS
plazmidok száma/ μg DNS
a sejtek hány %-a kapott plazmidot

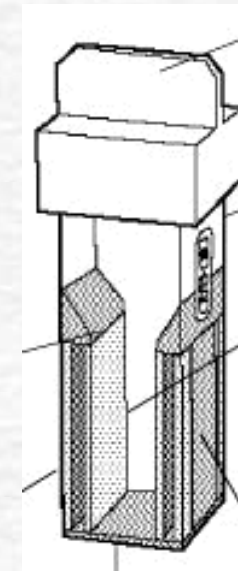
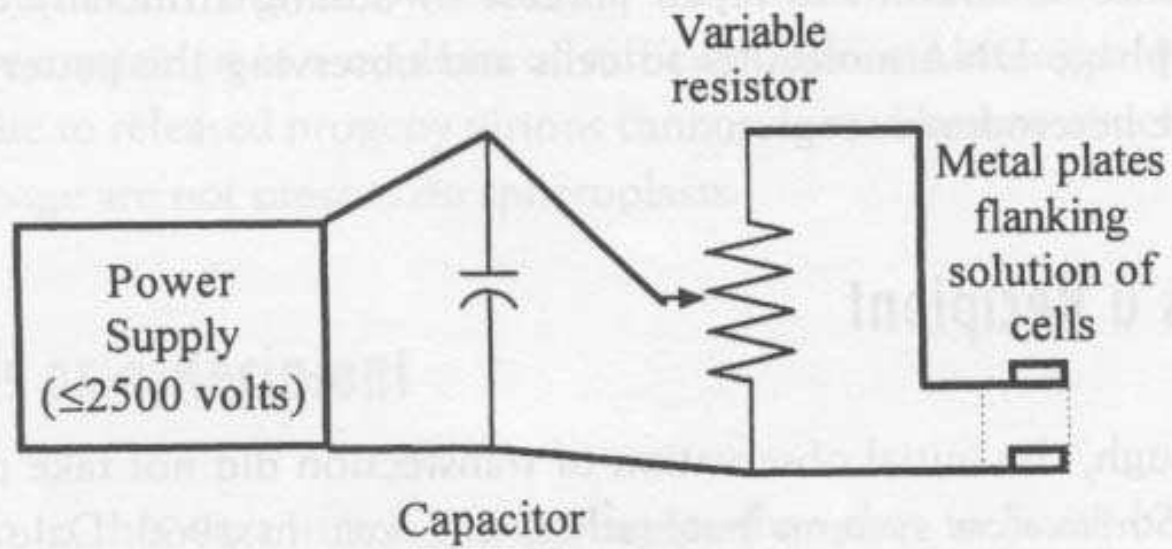
DNS-re: a DNS molekulák hány %-a transzformált sejtet

Módszer	sejtszámra	DNS-re
kémiai kompetencia	1%	12%
elektrotranszformáció	10%	90%

Elektroporáció

- ☛ = elektrotranszformáció
- ☛ nagyfeszültséget adunk a baktérium szuszpenzióra
- ☛ a hirtelen megnőtt térerősség átmeneti lyukakat eredményez a sejtfalban
- ☛ így a kisméretű plazmidok, vektor konstrukciók átjuthatnak
- ☛ a sejten kívüli nagy plazmidkoncentráció gyors beáramlást eredményez
- ☛ nagy a sejtpusztulás, de mivel sok baktériumsejtet lehet alkalmazni, a túlélők elegendőek a legtöbb kísérlethez
- ☛ *E. coli* esetén ez a leghatékonyabb módszer (nagyobb transzformációs gyakoriság, nagyobb méretű DNS)

Elektroporáció



Elektroporációs kűvetta