

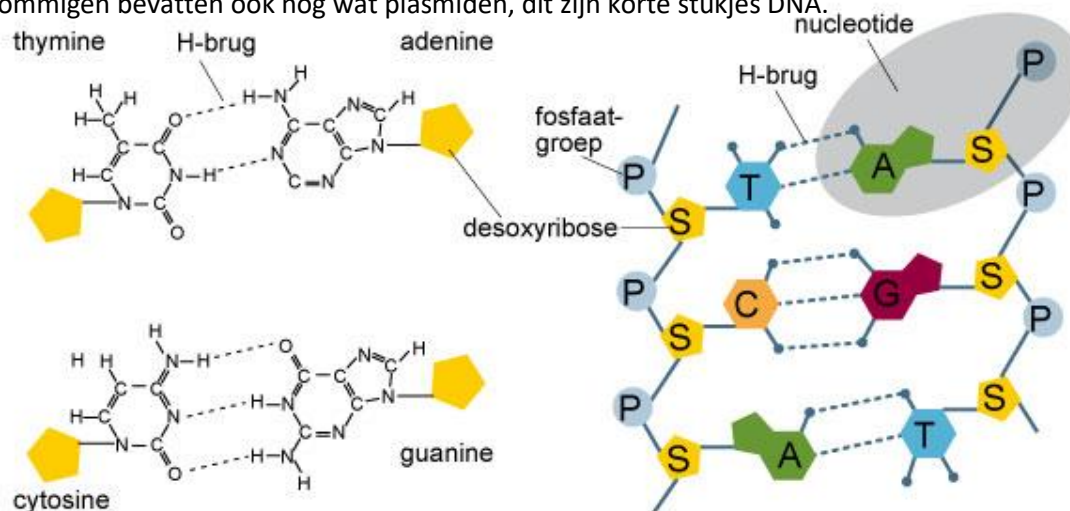
Biologie 5VWO DNA zie plaatsjes in het boek voor referentie

1. Wat kun je doen met DNA

DNA bevat de informatie voor de erfelijke eigenschappen van een organisme en zorgt voor de zelforganisatie van een organisme tijdens zijn levensloop. DNA bevat ook informatie voor het reproduceren van een organisme. **Genetische modificatie** is het veranderen van het DNA van een bepaald organisme, bijv. het overbrengen van DNA van het ene organisme naar het andere. Organismen bij wie het DNA is veranderd noem je **transgeen**, **ggo** (genetisch gemodificeerd organisme) of **gmo** (genetically modified organism). Transgene micro-organismen kunnen geneesmiddelen produceren. Bij **gentherapie** brengt men gezonde genen in het DNA van de patiënt. Landbouwgewassen worden genetisch gemodificeerd om ze resistent te maken tegen ziekten of bestand tegen bepaalde bestrijdingsmiddelen of tegen slechte omstandigheden. Zo kunnen ze de opbrengst verhogen jongel! Ze kunnen nou ook nog eens zelf DNA en sequenties en stuff maken en dat is echt fucking cool want zo krijgen we later superkrachten en coolheid.

2. De bouw en functie van DNA

Een tomaat is meestal rood en rond. GO ERFELIJKHEID. GO DNA. Het **genoom** is het geheel aan erfelijke informatie in een cel van een organisme. Mitochondriën en chloroplasten bezitten hun eigen DNA, ze werken dan ook onafhankelijk van de cel als een soort geëmancipeerde organellen. Het mitochondriale DNA wordt afgekort met **mtDNA**. Bij prokaryoten vormt het DNA dat los in het cytoplasma van de cel voorkomt het genoom. Prokaryoten hebben een circulair DNA-molecuul, sommigen bevatten ook nog wat plasmiden, dit zijn korte stukjes DNA.



Een DNA-molecuul is een nucleïnezuur dat bestaat uit twee ketens van met waterstofbruggen aan elkaar gekoppelde nucleotide. Een nucleotide is opgebouwd uit een monosacharide **desoxyribose**, een fosfaat groep en een stikstofbase (adenine, thymine, cytosine, guanine). De desoxyribose groep bevat 5 C-atomen, bij de 5^{de} zit een lekker N-atoompje vastgebonden. Bij het binden van nucleotidezuren bindt het 3^{de} C-atoom aan de fosfaatgroep van de andere. Het 5' uiteinde heeft altijd een fosfaat groep, het 3' een OH-groep. DNA wordt altijd van 3' naar 5' afgelezen en gekopieerd, deze streng is de matrijsstreng met veel te veel bijnamen. A houdt van T en gaan op een date, G leeft voor C en zegt nooit nee. Deze vaste basenparing is lekker **complementair** met zijn

stoere voorgeprogrammeerde gedrag. Een DNA-molecuul maakt helix ketens door waterstofbruggen te vormen en bindingen. De ene is 3''-5'' en de andere 5''-3'', deze laatste is de coderende streng. Het DNA in eukaryoten is verspreid over meerdere chromosomen, dit DNA is compact verpakt doordat de DNA-keten rond een aantal eiwitten is gewikkeld die we **histonen** noemen, een aantal histonen met gewikkeld DNA noemen we een **nucleosoom**. Tussen nucleosomen bevindt zich koppelings-DNA dat zorgt voor de structuur van een kralenkettinkje, deze kun je nog verder oprollen tot je zo'n cool compact chromosoom krijgt. **Niet-coderend DNA** is niet nutteloos, functioneel of wat dan ook, het heeft alleen een kut naam. Het is tevens 98,5 % van het genoom #samenzwering. De volgorde waarin de nucleotiden zijn gerangschikt noem je een sequentie, deze volgorde kan variëren.

3. DNA-replicatie

In het kernplasma bevinden zich vrije nucleotiden voor de DNA-replicatie, dit zijn dATP, dTTP, dGTP en dCTP. (d)esoxyribise + stikstofbase + (t)ri(p)hosfaat. Wanneer deze vrije nucleotiden binden komt er veel energie vrij doordat het molecuul 2 fosfaatgroepen afstaat. DNA-replicatie begint bij een **replicatiestartpunt**, vanaf dit punt worden er in beide richtingen waterstofbruggen tussen paren verbroken door **helicase**. Op de plaats waar de basenparing is verbroken binden **single strand binding proteïnen** aan de strengen, deze voorkomen dat de waterstofbruggen weer opnieuw worden gevormd. Vervolgens schuift het enzym **DNA-polymerase** langs de enkelvoudige ketens en bindt de vrije nucleotiden aan de vrijgekomen stikstofbasen. Nu heb je twee dubbelstrengs DNA-moleculen die ieder uit een oude en nieuwe keten bestaan. Doordat DNA-polymerase van 3'-5' werkt wordt de nieuwe streng 5'-3'. De coderende 5'-3' streng wordt in meerdere delen gekopieerd omdat DNA-polymerase alleen van 3'-5' werkt. DNA-ligase bindt de DNA-fragmenten aan elkaar. Het chromosoom bestaat uit twee chromatiden, doordat deze aan elkaar worden gehouden door waterstofbruggen. Tijdens de mitose gaan de chromatiden uit elkaar en worden ze elk een chromosoom in een dochtercel met elk een nieuwe en oude keten.

Door **PCR** kunnen een of meerdere specifieke gedeelten uit het DNA worden gekopieerd tot er genoeg is voor onderzoek. Voor dit gebeuren heb je **primers** nodig, dit zijn stukjes DNA gemaakt in een laboratorium complementair aan een deel van het PCR dat je wilt vermenigvuldigen. Deze stukjes maken opstapjes voor DNA-polymerase om de enkele strengen te gaan kopiëren.

Sequensen is het aflezen van de nucleotidenvolgorde door middel van PCR gevolgd door gelelelectroforese. Na de PCR zijn er heel veel gelabelde DNA-fragmenten ontstaan van verschillende lengten. **Gelelelectroforese** is het scheiden van DNA-fragmenten op grond van hun grootte/ lengte onder invloed van spanning.

In niet-coderend DNA bevinden zich bepaalde loci die bestaan uit herhalingen van korte DNA-sequenties achter elkaar. We noemen die **repetitief DNA**. Het aantal herhalingen in repetitief DNA verschilt per persoon. De allelen worden genummerd naar het aantal repeats. Allel 10 heeft 10 repeats. Doordat chromosomen in lichaamscellen in paren voorkomen, heeft een persoon per locus twee allelen. Deze allelen kunnen hetzelfde zijn, of verschillend, deze combinaties zorgen voor een uniek patroon van repetitief DNA. We noemen een DNA-profiel dan ook wel een **DNA-fingerprint**. Met behulp van een DNA-profiel kan men een persoon identificeren. Om het geïsoleerde DNA te kunnen analyseren wordt het eerst vermeerderd door PCR. Daarna knipt men de loci met repeats uit het DNA. Dat gebeurt met behulp van enzymen die afkomstig zijn uit bacteriën. Deze enzymen noem

je **restrictie-enzymen**. **Restrictie-enzymen** herkennen een specifieke nucleotidesequentie van 4 tot 8 nucleotiden in het DNA en knippen het DNA op die plaats door. De fragmenten hebben, afhankelijk van het aantal repeats een verschillende lengte. Ze kunnen van elkaar worden gescheiden door gelelektroforese. Dat lever een uniek bandenpatroon op.

4. Transcriptie

RNA bestaat uit één keten van nucleotiden. Deze nucleotiden bevatten **ribose** in plaats van desoxyribose en **uracil** in plaats van thymine. Er zijn verschillende typen RNA. Ribosomen bestaan uit **rRNA**. In het cytoplasma binden **tRNA**-moleculen aminozuren uit het cytoplasma waardoor een tRNA-aminozuurcomplex ontstaat. Het tRNA-aminozuurcomplex vervoert het aminozuur naar een ribosoom. Meestal bevindt de promotor zich aan het begin van een gen. Bij eukaryoten kan RNA-polymerase alleen aan de promotor binden als er bepaalde eiwitten aan zijn gebonden. Deze eiwitten heten **transcriptiefactoren**. De keten met de promotor wordt de **template-streng** of **matrijsstreng** genoemd. De andere streng noemen we de **coderende streng**. Transcriptie vindt plaats langs de template-streng. RNA-polymerase bindt vrije RNA-nucleotiden uit het kernplasma door complementaire basenparing aan de DNA-nucleotiden van de matrijsstreng in de richting van het 3'-5' uiteinde. De nieuwe RNA-streng wordt hierdoor in de 5'-3' richting gesynthetiseerd. Doordat het RNA-polymerase een specifieke volgorde van stikstofbasen in het DNA tegenkomt (het **eindsignaal**), stopt de transcriptie. Bij eukaryote organismen moet het compacte DNA eerst worden ontvouwen om transcriptie mogelijk te maken. Er zijn verschillen in de transcriptie en de vorming van mRNA bij eukaryoten en prokaryoten. Bij prokaryoten ontbreekt de celkern, waardoor het DNA los in het cytoplasma ligt. Hier vindt de transcriptie plaats. Ribosomen in het cytoplasma kunnen de nucleotidesequentie van het mRNA meteen vertalen in een eiwit. Bij eukaryoten bevinden de chromosomen zich in de celkern. Transcriptie vindt dus in de celkern plaats. Het RNA-molecuul dat daarbij wordt gesynthetiseerd noemen we **pre-mRNA**, omdat het nog wordt bewerkt voordat het de celkern kan verlaten. Het bewerken van het pre-mRNA wordt ook wel **RNA-processing** genoemd. Bij veel eukaryoten bestaan de meeste genen namelijk uit lange, niet-coderende stukken DNA, die worden afgewisseld door korte, coderende stukken DNA. Niet-coderende stukken DNA in een gen worden **introns** genoemd. De coderende stukken DNA in een gen heten **exons**. Alleen exons bezitten informatie voor de synthese van eiwitten. Hierdoor ontstaat een pre-mRNA-molecuul dat zowel introns als exons bevat. Een **spliceosoom** knipt de introns uit het pre-mRNA en plakt de exons vervolgens aan elkaar. Dit proces het **splicing**. Dit mRNA gaat vanuit het kernplasma, via een kernporie, naar het cytoplasma. Hier vertaalt een ribosoom de nucleotidesequentie van het mRNA in een eiwit.

5. Translatie en eiwitsynthese

De nucleotidevolgorde in het mRNA codeert voor de volgorde van de aminozuren in eiwitten. mRNA bevat vier verschillende nucleotiden. Om één aminozuur te coderen zijn drie opeenvolgende nucleotiden nodig. Dit noem je een **triplet** of **codon**. De genetische code is de vertaling van de nucleotidevolgorde naar aminozuren. De synthese van een aminozuurketen start altijd bij het codon AUG. Dit noemen we het **startcodon**. Dit codon codeert voor het aminozuur methionine. Bij de meeste eiwitten wordt dit leuke aminozuur later weer van de keten afgesplitst. **Stopcodons** coderen

niet voor een aminozuur, doordat geen aminozuur kan worden ingebouwd, stopt de eiwitsynthese. Het omzetten van DNA naar RNA wordt **translatie** genoemd.

tRNA-moleculen binden aminozuren uit het cytoplasma en vervoeren ze naar een ribosoom. Een tRNA-molecuul is een enkelstrengs RNA-molecuul met een enigszins opgevouwen ruimtelijke vorm. Alle tRNA-moleculen hebben aan één uiteinde dezelfde drie ongepaarde nucleotiden: CCA. Aan dit uiteinde kan een tRNA-molecuul één specifiek aminozuurmolecuul binden. Elk aminozuur wordt door een specifiek enzym aan een specifiek tRNA-molecuul gebonden. Zo ontstaan er verschillende tRNA-aminozuurcomplexen. Op een van de lussen die naar buiten uitsteken, bevinden zich drie nucleotiden die een **anticodon** vormen. Het UUU codon in mRNA dat codeert voor het aminozuur fenylalanine heeft AAA als anticodon.

Ribosomen bestaan uit een klein deel en een groot deel. Ze koppelen aminozuren aan elkaar tot eiwitten. Het kleine ribosoomdeel heeft daarvoor een mRNA-bindingsplaats en het grote ribosoomdeel heeft drie tRNA-bindingsplaatsen die E, P en A worden genoemd. Het anticodon van tRNA-methioninecomplex bindt zich aan het startcodon. Vervolgens bindt een groot ribosoomdeel en kan de translatie beginnen. Het ribosoom schuift langs het mRNA-molecuul, codon na codon. Elk codon passeert achtereenvolgens A, P, E in het ribosoom. Wanneer het anticodon van een tRNA-aminozuurcomplex complementair is aan het codon van het mRNA-molecuul op de A-plaats, komt er een binding tot stand door waterstofbruggen. Tegelijkertijd verlaat een tRNA-molecuul dat zijn aminozuur heeft afgeleverd de E-plaats van het ribosoom. Op de P-plaats komt het aminozuur van het RNA-aminozuurcomplex vrij. Het aminozuur gaat een peptidebinding aan met het aminozuur op de A-plaats, waardoor de aminozuurketen groeit. Er kunnen meerdere ribosomen tegelijkertijd gebonden zijn aan één mRNA-molecuul. De cel kan dan veel meer eiwitten maken in een bepaalde tijd. Met een elektronenmicroscop zijn vaak clusters van ribosomen, **polyribosomen**, in de cel zichtbaar. Doordat een mRNA-molecuul vaak in een cirkel ligt, kan een ribosoom dat klaar is met de translatie zich meteen opnieuw binden aan het startcodon. Er bestaat geen tRNA-aminozuurcomplex dat een stopcodon kan herkennen. In plaats daarvan bindt er een **release-factor** aan het stopcodon in mRNA, waardoor de polypeptideketen loslaat en het kleine en grote ribosoomdeel uit elkaar gaan.

6. Genexpressie

Het aan- of uitzetten van een gen noem je **genregulatie**. Wanneer een gen aan staat word de informatie v/h DNA door transcriptie omgezet in RNA en wordt mRNA door translatie omgezet in een eiwit, dit wordt **genexpressie** genoemd. Het reguleren v/d genexpressie maakt het mogelijk om verschillende eiwitten te produceren wanneer deze nodig zijn voor de cel. De genexpressie hangt af van zowel milieufactoren als de cel functie en ontwikkeling v/h organisme. In prokaryoten activeren de regulatorgenen een repressor gen dat hierdoor een repressor aanmaakt. In eukaryoten coderen regulatorgenen voor transcriptiefactoren die de genexpressie kunnen activeren of remmen.

Genregulatie bij prokaryoten:

Een **repressor** kan binden aan de **operator** en de transcriptie door RNA-polymerase, die is gebonden aan de **promotor**, blokkeren. Dit vindt plaats wanneer er geen **inductor** aan de repressor is gebonden. De **structuur genen** die de informatie voor de eiwitsynthese in de ribosomen bevatten worden dan niet afgelezen. Repressor = actief

Wanneer er wel een inductor aan de repressor bindt, zal de repressor zich niet aan de operator kunnen hechten. Hierdoor wordt de promotor niet geblokkeerd en zal de transcriptie door RNA-polymerase kunnen plaatsvinden. De structuur genen zullen nu worden afgelezen. Repressor = inactief

Vb.: Door de aanwezigheid van lactose (inductor) kunnen de structuur genen tot expressie komen die synthetiseren voor de vertering en opname v/d lactose.

Een **corepressor** zorgt ervoor dat de repressor die aan de inductor bindt actief wordt.

Genregulatie bij eukaryoten:

Omnipotente stamcellen zijn stamcellen die differentiëren tot elk celtype. **Pluripotente** stamcellen kunnen zich differentiëren tot bijna elk celtype. **Multipotente** stamcellen kunnen zich alleen differentiëren tot een beperkt aantal celtypen. Na de eerste klievingsdelingen in een organisme ontstaat er een klompje embryonale stamcellen. Deze beïnvloeden elkaar doordat in hun DNA-regulatorgenen tot expressie worden gebracht. In eukaryoten coderen deze genen voor transcriptiefactoren. De plaats van een stamcel in het embryo bepaalt welk regulatorgen er wordt aangezet en daardoor welke transcriptiefactor er wordt gemaakt. Wanneer deze bindt aan een specifieke sequentie in het DNA v/d stamcel, komt er een bepaalde set genen tot expressie. Sommige genen zorgen nu voor de celdifferentiatie en anderen coderen voor transcriptiefactoren die genen in de eigen cel of in nabijgelegen stamcellen beïnvloeden. Deze kunnen door de afgifte van transcriptiefactoren weer een volgend regulatorgen beïnvloeden (zie afb. 53 p. 109).

Bij eukaryoten heeft RNA-polymerase de assistentie van transcriptiefactoren nodig om de transcriptie te kunnen beginnen. **Activators** binden aan een specifieke sequentie in het DNA, de **enhancers**, zodra de activators aan de enhancers zijn gebonden buigt het DNA en kunnen ook andere transcriptiefactoren en RNA-polymerase binden aan de **promotor**. Nu kan het RNA-polymerase beginnen met de transcriptie. Wanneer **repressors** binden in plaats van activators wordt het proces juist geblokkeerd. Wanneer DNA te compact wordt gemaakt door de histonen kunnen er geen transcriptiefactoren en RNA-polymerase aan binden, hierdoor wordt de genexpressie geblokkeerd.

DNA-methylering is het niet meer kunnen aflezen van DNA doordat er een methylgroep aan de stikstofbasen in het DNA is gebonden, de methylering wordt overgegeven bij celdeling.

Apoptose is geprogrammeerde celdood, in de cel zitten namelijk enzymen die de cel zelf afbreken bij het activeren. Het cytoskelet v/d cel wordt afgebroken waardoor de cel ineens valt en wordt opgeruimd door bijvoorbeeld macrofagen. De wetenschap v/d **epigenetica** houdt zich bezig met het bestuderen van omkeerbare veranderingen in de activiteit van genen, die niet het gevolg zijn van veranderingen in de nucleotidevolgorde v/h DNA.

MIRNA IN BOEK!!

7. Genetische variatie

Veranderingen in het DNA van een cel noemt men **mutaties**. Veel mutaties hebben afwijkingen tot gevolg, maar door mutaties neemt ook de variatie in de nakomelingen toe. Een mutatie in een gen heeft tot gevolg dat ook het mRNA een verandering bevat. Dit kan leiden tot een verandering van het eiwit waarvoor het gen codeert. Sommige mutaties hebben tot gevolg dat het eiwit waarvoor het gen codeert een ander aminozuur bevat dan het oorspronkelijke eiwit. Dit hoeft nog geen merkbare gevolgen te hebben. De chromosomen van een chromosomenpaar noemt men homologe

chromosomen. Op een van de twee homologe chromosomen vindt de mutatie plaats. Hierdoor zijn de meeste allelen met een mutatie recessief. Een puntmutatie is een verandering in één nucleotidepaar. Bij sommige mutatie is er sprake van vervanging van een nucleotide paar door een ander nucleotide paar. Dit wordt [substitutie](#) genoemd. Bij een andere mutatie wordt een nucleotide paar uit het DNA verwijderd ([deletie](#)), of wordt een nucleotidepaar aan het DNA toegevoegd ([insertie](#)).

Er zijn ook mutatie waarbij het aantal chromosomen in een cel is veranderd. Deze mutaties worden [genoommutaties](#) genoemd. Genoommutaties kunnen optreden doordat tijdens de meiose een paar homologe chromosomen bij elkaar blijven. Beide chromosomen gaan naar dezelfde pool en komen samen in een van de dochtercellen. Dit noemen we non-disjunctie. Ook tijdens meiose 2 kan non-disjunctie optreden. In dat geval gaan de beide chromatiden van een chromosoom niet uit elkaar. In beide gevallen kunnen er geslachtscellen ontstaan met een dubbel chromosoom of een missend chromosoom.

Mutaties kunnen spontaan plaatsvinden, maar door blootstelling aan kortgolvlige straling, bepaalde chemische stoffen of virussen komen ze vaker voor. Deze invloeden worden mutageen genoemd. Mutagene invloeden verhogen de [frequentie](#) waarmee mutaties plaatsvinden. Ultraviolette straling is mutageen doordat de energie in deze straling door DNA-moleculen kan worden geabsorbeerd en benut bij de vorming van covalente bindingen tussen twee naast elkaar gelegen thyminebasen.

In een celkern zijn continu enzymen werkzaam die beschadigingen opsporen die ontstaan tijdens de replicatie van DNA. Deze enzymen zijn onderdeel van het [DNA-repairsysteem](#). Ze verwijderen verkeerd ingebouwde stikstofbasen of nucleotiden uit het DNA. Vervolgens zorgen andere enzymen van dit systeem ervoor dat de juiste stikstofbasen of nucleotiden worden ingebouwd. In de cellen zijn eiwitten actief die voorkomen dat een cel zich deelt voordat de DNA-reparatie is afgerond. De eiwitten zorgen er ook voor dat een cel met te veel of onherstelbare DNA-schade overgaat tot apoptose. De eiwitten worden gemaakt door expressie van het [supressorgen](#). Afhankelijk van het effect dat mutaties hebben, kunnen ze neutraal, negatief of positief zijn. Neutrale mutaties veranderen het genotypen maar hebben geen invloed op het fenotypen. Negatieve mutaties hebben wel invloed op het fenotype. Mutaties in lichaamscellen kunnen echter ook leiden tot kanker. Zoals wanneer een mutatie plaatsvindt in een supressorgen en in een proto-oncogen. [Proto-oncogenen](#) coderen voor eiwitten die de celgroei en de Celdifferentiatie stimuleren. Door een toename van de genexpressie kan een proto-oncogen veranderen in een oncogen. De extra genactiviteit van het oncogen leidt tot het abnormaal snel groeien en delen van de cel, waardoor kanker ontstaat.

Mutaties kunnen ook een positief effect hebben. Ze kunnen een rol spelen bij de evolutie. Een mutatie kan zorgen voor een grotere overlevingskans van de mutant ten opzichte van soortgenoten zonder deze mutatie. Tijdens de meiose ontstaat genetische variatie door [recombinatie](#) van allelen. Elk chromosomenpaar bestaat uit een chromosoom afkomstig van de vader en een chromosoom van de moeder. Tijdens de meiose kunnen de chromosomen zich op verschillende manieren rangschikken.

Tijdens de meiose kunnen delen van een chromosoom afbreken en zich aan een ander chromosoom hechten. Dit wordt ook wel een chromosoom mutatie genoemd. Het is ook mogelijk dat twee homologe chromosomen delen uitwisselen. Dit noemen we [crossing-over](#). Aan het begin van meiose 1 komen de homologe chromosomen bij elkaar te liggen. De homologe chromosomen hebben ieder

een unieke combinatie van allelen. Deze unieke combinatie van allelen op een chromosoom wordt een **haplotype** genoemd. Wanneer de chromosomen zich spiraliseren, kunnen de chromatiden van twee homologe chromosomen in elkaar verstrengeld raken. Er kunnen dan breuken optreden in de DNA-moleculen van de chromatiden. Meestal wordt de breuk hersteld, maar soms treedt crossing-over op. Daarbij hecht een afgebroken chromosoomdeel zich aan het andere chromosoom van het chromosomenpaar. **Crossing-over** kan in een chromosoom op elke willekeurige plaats optreden. Hoe groter de afstand tussen twee allelen in hetzelfde chromosoom is, hoe groter de kans is dat deze genen door crossing over worden gescheiden.

8. Gentechnologie

Biotechnologie is een verzamelnaam voor technieken waarbij organismen worden gebruikt om producten te vervaardigen voor de mens. Men heeft bij veel cultuurgewassen de opbrengst sterk kunnen vergroten door polyploidie. Polyploïde cellen hebben een veelvoud aan chromosomen. Ze kunnen ontstaan onder invloed van de stof **colchicine**. Deze stof zorgt ervoor dat bij de mitose de microtubuli van de spoelfiguur worden afgebroken. Daardoor splitsen de chromatiden van een chromosoom wel maar deelt de cel zich niet. Door toepassing van deze technieken in de veeteelt is het fokken goedkoper geworden en is de productiviteit van de dieren verhoogd. Een gunstig genotype wil men graag behouden, dit kan door klonen. Bij klonen ontstaan er uit een organisme genetisch identieke nakomelingen door ongeslachtelijke voortplanting. Dieren kunnen we kunstmatig klonen door **embryosplitsing**. Dit wordt toegepast wanneer er uit een bevruchte eicel een klompje cellen is ontstaan. Elk klompje cellen wordt in de baarmoeder van een koe geplaatst. Daar groeit het als een kloon uit tot een kalf. Een andere manier van klonen is **celkerntransplantatie**. Hierbij wordt een koe met gunstige eigenschappen bevrucht door een stier met gunstige eigenschappen. Hierna verloopt het proces hetzelfde als bij embryosplitsing. Een voorbeeld van genetische modificatie is de recombinant-DNA-techniek. Bij deze techniek wordt de nucleotidevolgorde van het DNA in een organisme gewijzigd door DNA in te brengen dat afkomstig is van een ander individu. De betrokken organismen hoeven niet tot hetzelfde soort te behoren. Het inbrengen van DNA dat afkomstig is van een organisme van dezelfde soort heet **cisgenese**. Wanneer het van een anders soort afkomstig is heet het **transgenese**. Een los DNA-fragment dat je hebt verkregen met behulp van restrictie-enzymen kan in een lab worden aangepast, maar ook meteen in het organisme worden gebracht. Uit bacteriën geïsoleerde plasmiden knipt met open met een **restrictie-enzym**. DNA-fragmenten die afkomstig zijn van andere organismen en die geknipt zijn door hetzelfde restrictie-enzym kunnen met behulp van DNA-ligase in een plasmide worden gebracht. Vervolgens kunnen de plasmiden door bacteriën worden opgenomen. Wanneer deze bacteriën zich gaan delen, ontstaat een kloon van bacteriën met het recombinant-DNA-plasmide. Genetisch gemodificeerde organismen kunnen ook worden gemaakt met behulp van virussen. Ook kan men met behulp van een enzym uit bepaalde virussen een gen uit het genoom van een organisme isoleren. Vaak wordt mRNA gebruikt voor het isoleren want dit bevat lekker alleen maar exons en geen overbodige introns. Met behulp van het enzym **reverse-transcriptase** kan langs een mRNA-keten een enkelstrengs DNA-keten worden gevormd. Hiervan wordt een complementaire DNA-keten gemaakt met behulp van het enzym DNA-polymerase. Het DNA dat is ontstaan, wordt complementaire DNA of copy DNA, cDNA, genoemd en bevat alleen het gen dat men wil isoleren. cDNA kan een plasmide van een bacterie of virus worden ingebracht. Het uitschakelen van de expressie van een gen wordt **geninactivering** genoemd. Dat kan door het toevoegen van **antisense-**

DNA. Hiervoor wordt een kopie gemaakt van het DNA met het gen dat de code bevat voor het ziekteverwekkende eiwit. De kopie is identiek aan het origineel, alleen liggen de stikstofbasen in beide strengen precies omgekeerd. 3'-5' wordt 5'-3'. Dit gekopieerde DNA wordt ingebracht in het orgaan dat de ziekteverwekkende eiwitten produceert. Wanneer het RNA dat van deze strengen is gevormd elkaar ontmoeten ontstaat er dubbelstrengs RNA. Langs dit RNA kan geen translatie meer plaatsvinden, het gen is uitgeschakeld. Om te onderzoeken wat de functie is van een gen, kunnen we het uitschakelen, **knock-outgen**. Een gen kan tijdelijk worden uitgeschakeld met antisense-DNA. Uit een volgroeid organisme van dezelfde soort wordt een gen gehaald waarvan men de functie wil weten. Dit gen wordt uitgeschakeld door er een stukje tussenuit te knippen. Op de vrijgekomen plaats wordt een nieuw gen ingebouwd dat resistentie biedt tegen een bepaald antibioticum. De knock-outgenen probeert men in te brengen in een embryonale stamcel. Door de cellen over te brengen naar een Petri schaal met het antibioticum overleven alleen de cellen met het knock-outgen. Deze worden ingebracht in een embryo, een deel van de cellen bevatten dan het knock-outgen. Door onderlinge kruising krijg je individuen met alleen maar, geen of deels knock-outgenen. Dit merk je aan de eigenschappen van het organisme.