

## Restriktionsenzymer

endonukleaser klipper upp främmande (virus) DNA.

känner igen en specifik sekvens i DNA

- korta, 4-8 BP

- Palindrom

kan klippa på olika sätt, - symmetriskt el asymmetriskt kring klipp-axeln (jagged end).

**Elektrofores** kan användas för att separera de olika fragmenten som restriktionsenzymet klippt upp.

DNA är elektriskt laddat → **små fragment rör sig snabbare** än stora fragment.

Agarosgелелектроfores för fragment > 1000 BP

PAGE för små fragment.

DNA-ligase kan användas för att klistra ihop olika fragment av DNA.

Fragmenten är antingen:

Blunt-ended 

Sticky-ended: 

Parar lättare ihop!

- särskilt om komplementära

## Lägga till RE-säte

DNA-ligas kan klistra in en sekvens som känns igen av RE.

Vektorer för att införa DNA i värdceller

- Plasmid:

kompetent = kan motta plasmid → kan transformeras.

De flesta implantationer av en plasmid misslyckas.

Därför används metoder för att begränsa tillväxten av de celler som saknar plasmiden. Gör genom att plasmiden som sätts in i cellen också kodar för antibiotikaresistens. Man tillsätter antibiotika för att döda bakterierna utan plasmiden.

Hur tar genen som man vill klonas fram?

ex: **Insulin**

- generna innehåller en massa introner som vi inte vill ha.
- man tar istället ut mRNA som redan har intronerna bortklippta.

**pancreas.**

- mRNA tas från den vävnad som tillverkar proteinet vi vill ha. Reverse-transkriptas kan användas för cDNA (complementary DNA).

mRNA → cDNA: behöver en primer för att påbörja reverse-transkr.

- en universell primer är önskad = poly(A)-primer fungerar.

## PCR

Specifika primers används för att "para" med DNA:t som du är intresserad av.

Värmen för att denaturera. Temp sänks och primerna binder till DNA. DNA-polymeras (värmestålig?)