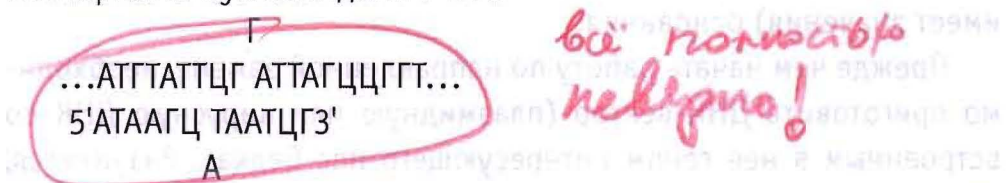


Готово. Смешиваем полученный фрагмент в растворе при определенных условиях с одноцепочечной (кольцевой) векторной ДНК, несущей наш ген.

Кольцо ДНК и наш короткий фрагмент образуют участок уотсон-криковской двойной спирали, состоящий из 12 пар нуклеотидов. Центральная пара нуклеотидов оказывается «выпихнутой» из двойной спирали, так как эта пара образована взаимно некомплементарными нуклеотидами Г и А:



Затем в раствор добавляют все четыре дНТФ и ДНК-полимеразу, которая, используя налипший на одиночное кольцо фрагмент в качестве праймера, достраивает его, начиная с 3'-конца, в строгом соответствии с принципом комплементарности до полного кольца.

В результате мы получаем почти нормальную кольцевую векторную ДНК, которая может быть введена в бактериальную (или дрожжевую) клетку для размножения ее — как это обычно делается в генной инженерии. Единственное, чем эта ДНК отличается от исходного вектора, — некомплементарная пара нуклеотидов Г·А, то есть спираль ДНК-вектора не вполне совершенна. При первом же акте удвоения полученного вектора вместе с несущей его бактерией каждая из дочерних молекул ДНК станет совершенной двойной спиралью на всем своем протяжении. Но одна из дочерних молекул несет в интересующей нас позиции пару Г·Ц, то есть идентична исходному, не мутантному вектору, а у другой в этом месте стоит пара Т·А. Вот вторая-то и будет представлять собой искомый мутантный вектор, на основе которого мы можем получить интересующий нас мутантный белок.

Таким образом, размножившиеся микроорганизмы будут представлять собой смесь клеток, несущих исходный вектор с мутантным геном, и клеток, несущих мутантный ген. Теперь осталось отобрать из этой смеси только те клетки, в которых присутствует мутантный ген.