

## In vitro csomagolás

Ezt a technikát Becker és Gold dolgozták ki 1975-ben. Az azóta megjavított technikával 107-108 pfu/ug intakt lambda DNS hatékonyság érhető el. A reakcióelegyben jelenlévő DNS mintegy 0,5 %-a becsomagolható.

A manipulált fág-DNS-t vagy kozmidot a ligálással, vagyis a célgén bekötését végző enzimes reakciót közvetlenül követően szokták végezni. Ha lambda-fág fehérjeburkába akarjuk csomagolni a rekombináns vektort, akkor a lambda-fág burok alkatrészeivel hozzuk össze a rekombináns vektort. Egyszerre 0,5 ug DNS becsomagolását lehet elvégezni. Kontrollként mindig készítsünk vektort nem tartalmazó elegyből csomagolást és nem manipulált lambda-fág DNS-sel is.

Az in vitro csomagolás menete lambda fág esetén: Maniatis 260-265 old.

Lizogén fágmutánsokkal fertőzött E. coliból állítják elő a csomagoló keveréket. A mutációk azon fehérjék termelését érintik, melyek a fág komplett becsomagolásához szükségesek. Így elő lehet állítani olyan csomagoló extraktumokat, melyek üres fágfejeket és farki részeket, valamint a csomagoláshoz szükséges enzimeket egyaránt tartalmazza.

Hőmérsékletemeléssel indukálják a E. coli fágokat, melyek 30 °C-ról 45 °C-ra való emeléskor lítikus életmenetre váltanak a cI represszor fehérje inaktíválása miatt. Az indukált sejtekből a csomagoló keveréket az alábbiak szerint állítják elő: Maniatis 264 old.

Az in vitro csomagolást lambda-fággal a csomagoló kivonat segítségével az alábbiak szerint végezzük: Maniatis 262 old.

Kozmidok in vitro csomagolás lambda fehérjekapszulába ugyanígy történik.

„Maniatis”:

Sambrook, Fritsch, Maniatis: Molecular Cloning – A laboratory manual (Second edition)  
1989 Cold Spring Harbor Laboratory Press