

Plazmidi s višestrukom antibiotskom rezistencijom, koji se mogu upotrijebiti za kloniranje bez pojave lažnih transformanata i genetičku modifikaciju pomoću fragmenata DNA umnoženih metodom PCR

Sažetak

Konstruirali smo dva plazmida koji se mogu upotrijebiti za kloniranje, kao kalupi za inaktivaciju gena pomoću fragmenata DNA umnoženih metodom PCR, mutagenezu i konstrukciju kasete za indukciju kromosomskih translokacija. Prema našim spoznajama ovo su prvi plazmidi koji istodobno omogućavaju selekciju bakterija na ampicilinu, kanamicinu i higromicinu, te selekciju kvasca *Saccharomyces cerevisiae* na geneticinu (G418) i higromicinu B. Istodobno korištenje do tri antibiotske rezistencije omogućuje precizni odabir rekombinanata i gotovo potpunu eliminaciju lažno pozitivnih transformanata, dok jedinstvena restriksijska mjesta olakšavaju kloniranje fragmenata DNA. Osim toga, ove smo plazmide uspješno upotrijebili kao kalupe za sintezu fragmenata DNA umnoženih metodom PCR, pomoću kojih je inducirana kromosomska translokacija u kvascu sustavom BIT (engl. bridge-induced translocation). Stanice u kojima smo potaknuli translokaciju imale su očekivane kromosomske rearanžmane i bile su rezistentne na G418 i higromicin B. Plazmidi konstruirani u ovom radu mogu se jednostavno primijeniti u mnogim molekularno-biološkim istraživanjima.

Ključne riječi: manipulacija DNA, višestruka otpornost na antibiotike, vektori s više markera, izbacivanje gena, funkcionalna analiza, kvasac