

FIG. 3. — Procedimiento de la transferasa terminal para unir el ADN plasmídico al ADN extraño. El ADN circular queda hidrolizado. El ADN resultante se trata con exonucleasa (hidrólisis de las cadenas terminales 5'). Se liga adenosina monofosfato en 3' mediante transferasa-ATP. Operaciones similares se llevan a cabo con el ADN extraño. Este se une por la posición 3' a restos de timidina monofosfato, mediante la transferasa terminal y TTP. La transferasa terminal añade As y Ts al ADN tratado con exonucleasa, como se ve en la figura. Cuando los dos tipos de ADN se mezclan, se obtiene el correspondiente par complementario. Nucleótidos y ADN polimerasa son los agentes de la reacción que llenan los huecos y la ADN-ligasa se añade para dar fin a las uniones del ADN.

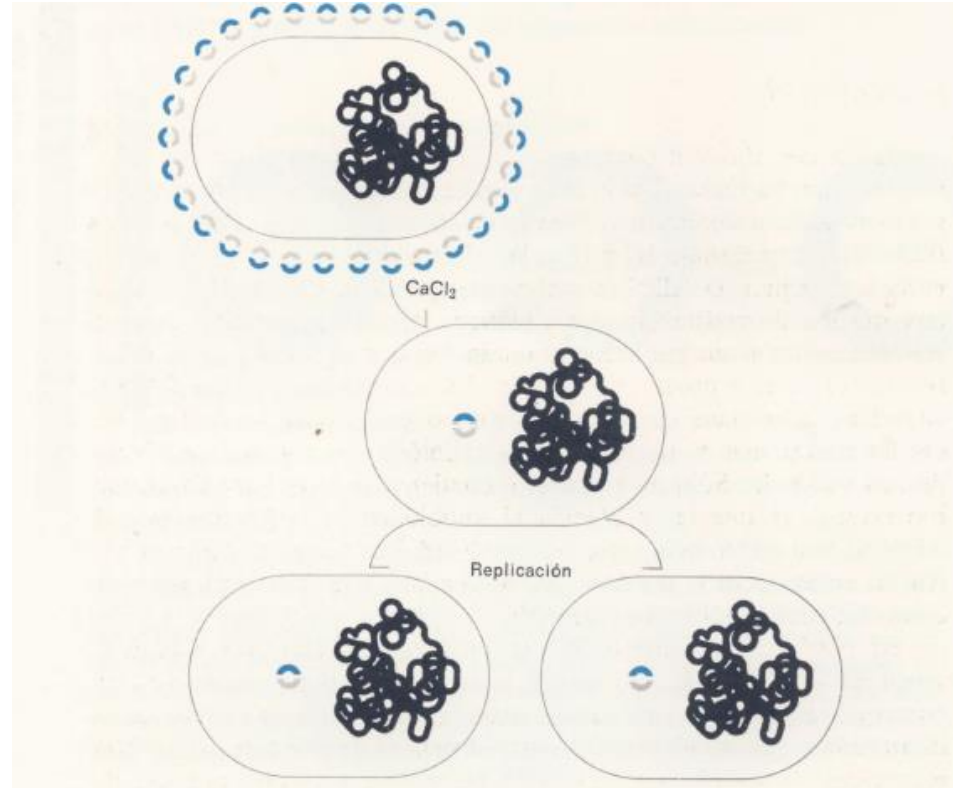


FIG. 6. — Introducción del ADN recombinante en una célula bacteriana. Las membranas bacterianas se permeabilizan a las moléculas de ADN después de tratamiento con  $\text{CaCl}_2$ . Sometidas las células a una solución con ADN recombinante una parte del mismo penetra en la célula. Este ADN puede replicarse en las siguientes generaciones bacterianas, resultando una célula clónica.

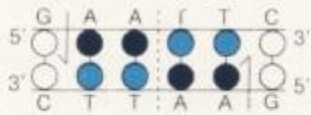


FIG. 4. — Sustrato específico de la enzima, endonucleasa de restricción EcoRI. El eje de rotación simétrico va indicado en la línea punteada. La secuencia es un "palíndrome", la misma secuencia puede ser leída igual en ambos lados partiendo de posiciones 3' y 5'. En la figura se indica cómo la enzima rompe la cadena.

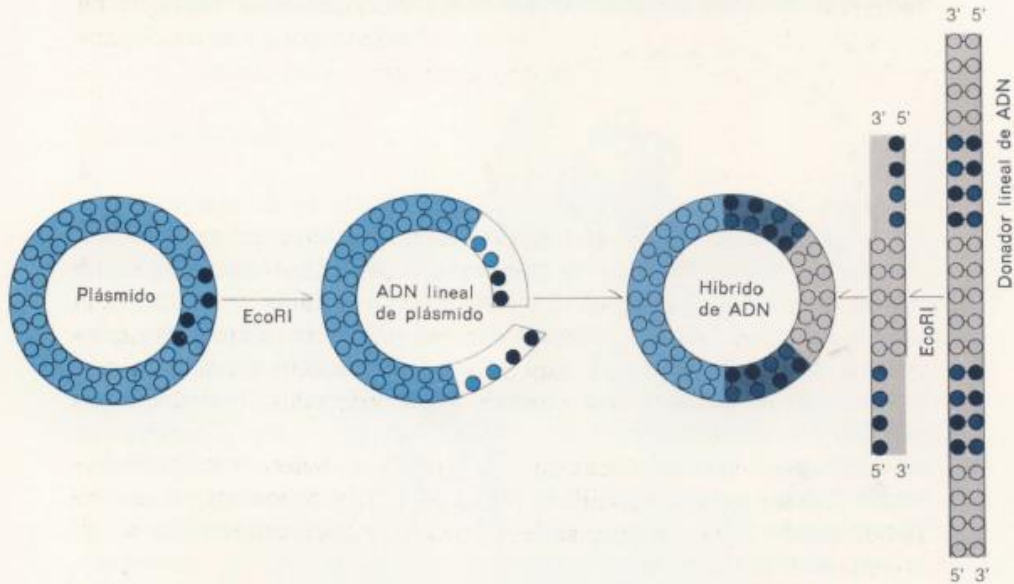


FIG. 5. — Método de la restricción por endonucleasa para unir ADN plasmídico a un ADN donado por otro organismo. El plásmido es atacado por la EcoRI en una única posición, dando origen a una cadena lineal con zonas terminables. El tratamiento por EcoRI del ADN extraño genera varios fragmentos de restricción con terminales idénticos. Se mezclan los dos tipos de ADN y las bases complementarias sirven para alinear ambas moléculas. Finalmente una ADN-ligasa sella la nueva cadena, siendo el resultado una molécula de ADN híbrido circular.