

ПЦР

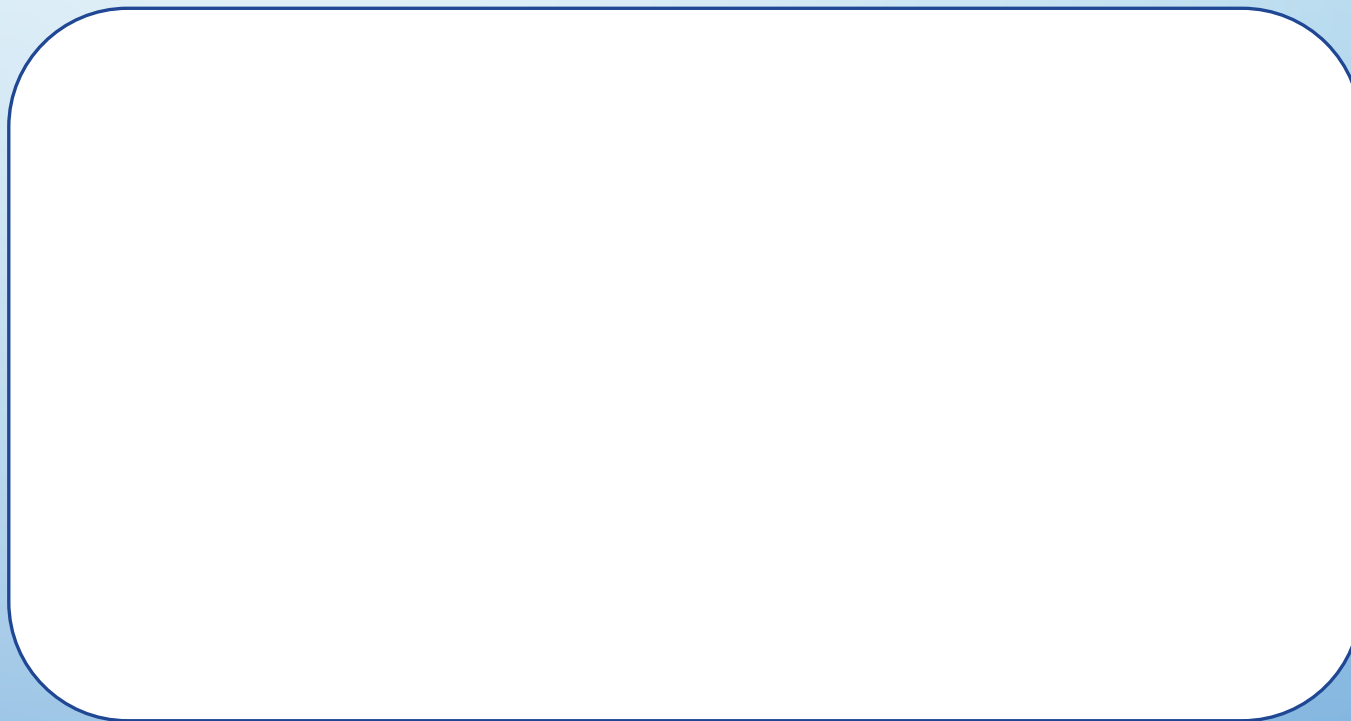
РУША

01-641





ЧТО ЭТО ТАКОЕ?



# ЧТО БЫЛО ОТКРЫТО РАНЬШЕ?

ПЦР

- Увеличение количества фрагментов

Секвенирование

- Определение последовательности

# ОТКРЫТИЕ



1971 г. Норвежский биохимик Хьелль Клеппе опубликовал статью, в которой описал метод, очень похожий на ПЦР



1976 г. Ученые из США выделили термостабильную ДНК-полимеразу и назвали ее Taq-полимеразой.



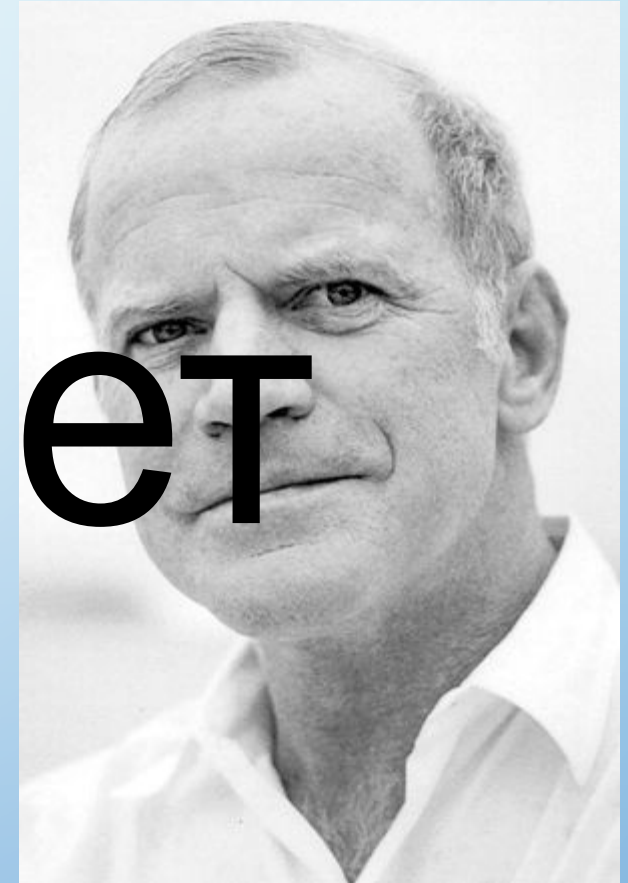
1977 г. Фредерик Сенгер предложил метод секвенирования ДНК



1983 г. Руководитель лаборатории синтеза ДНК в Cetus Corporation Кэри Мюллис "изобрел" процесс амплификации (преумножения) генов, который позже получит название полимеразной цепной реакции



## КЭРИ МЮЛЛИС



*«Можно ожидать, что после охлаждения получатся две структуры, каждая из которых содержит полноразмерную матричную цепь, подобающим образом связанную с праймером. Для завершения процесса репаративной репликации нужно будет добавить ДНК-полимеразу. В результате получатся уже две молекулы исходного дуплекса. Цикл можно повторять, каждый раз добавляя свежую порцию фермента». - Х.Клеппе*

маает

д?

# ПРИНЦИП МЕТОДА

Образец днк

Праймеры

Нуклеотиды

Днк-полимераза

Буфер



DNA  
Template



Primers



DNA  
Polymerase



dNTPs

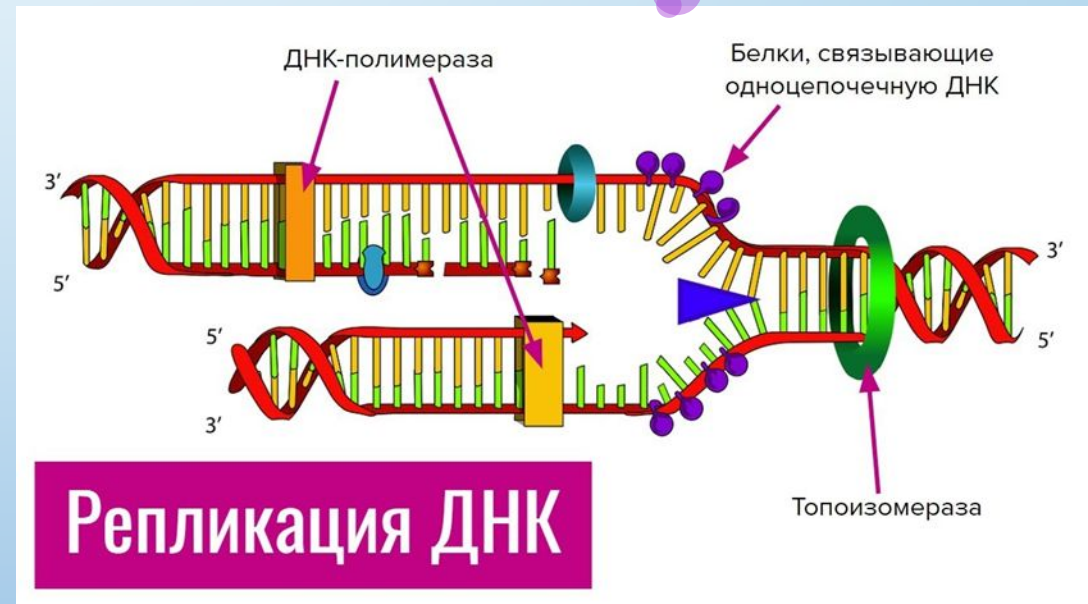
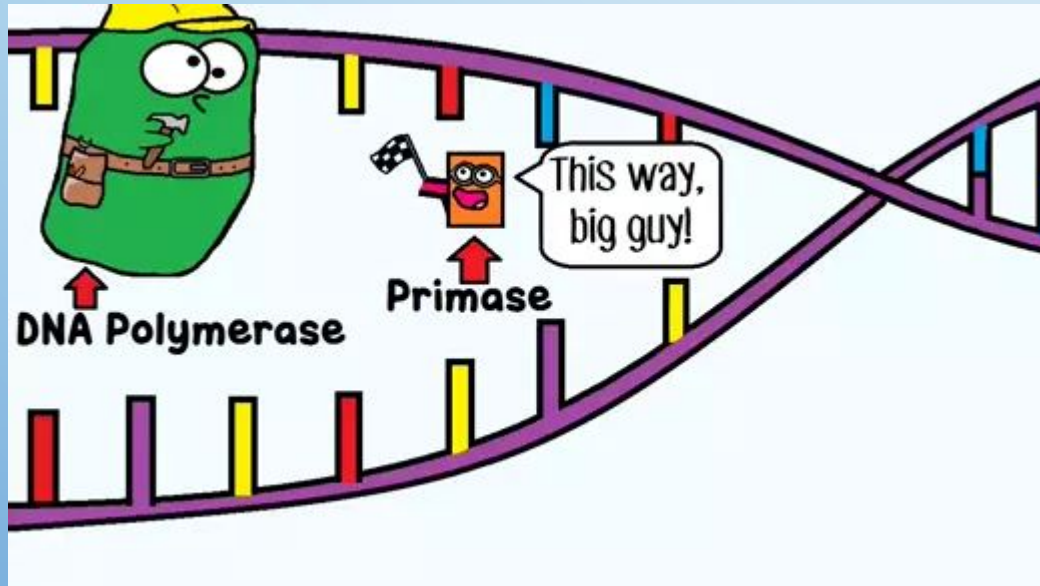


Buffer/Cofactors

# ДНК-ПОЛИМЕРАЗА

Репликация — процесс создания двух дочерних молекул ДНК на основе родительской молекулы ДНК

- ФЕРМЕНТ, КАТАЛИЗИРУЮЩИЙ ПРОЦЕСС ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ДНК ИЗ НУКЛЕОТИДОВ

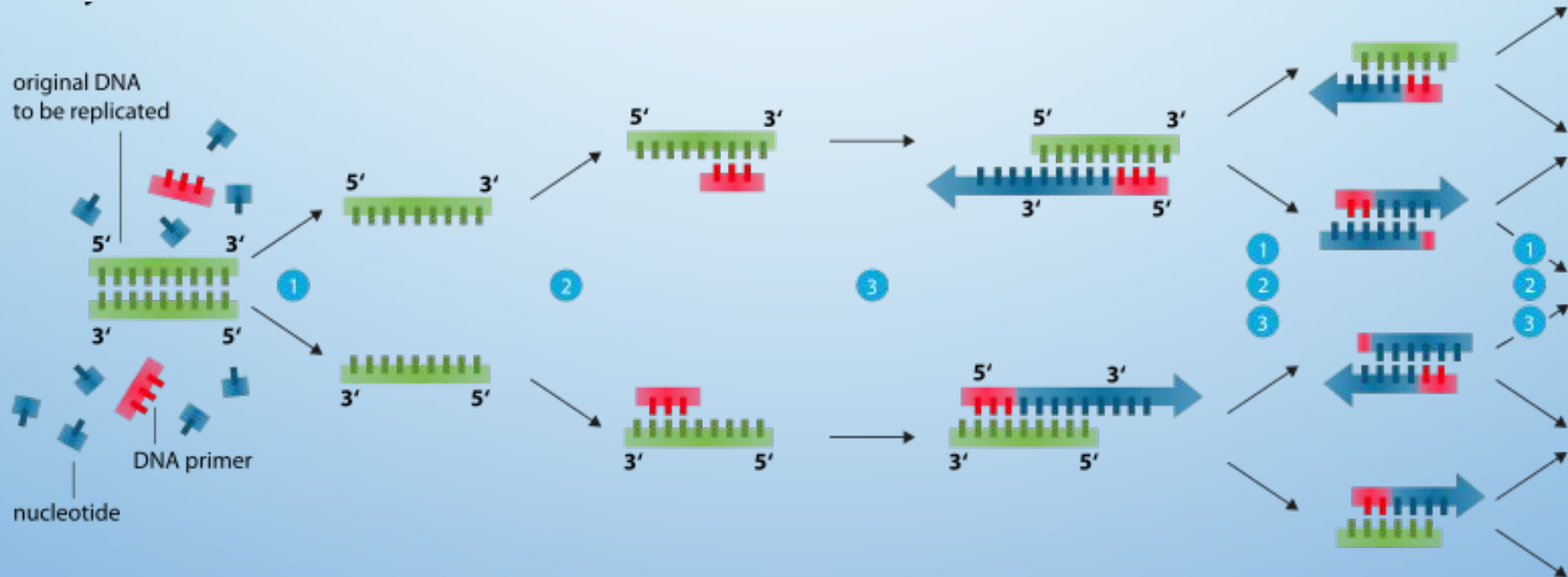


# ЭТАПЫ

Денатурация

Отжиг  
праймеров

Элонгация



- 1 **Denaturation** at 94-96°C
- 2 **Annealing** at ~68°C
- 3 **Elongation** at ca. 72 °C



## Index

Sequence of Interest (Green)



Undesired Sequence (Black)

Forward Primer (Orange)



Reverse Primer (Red)



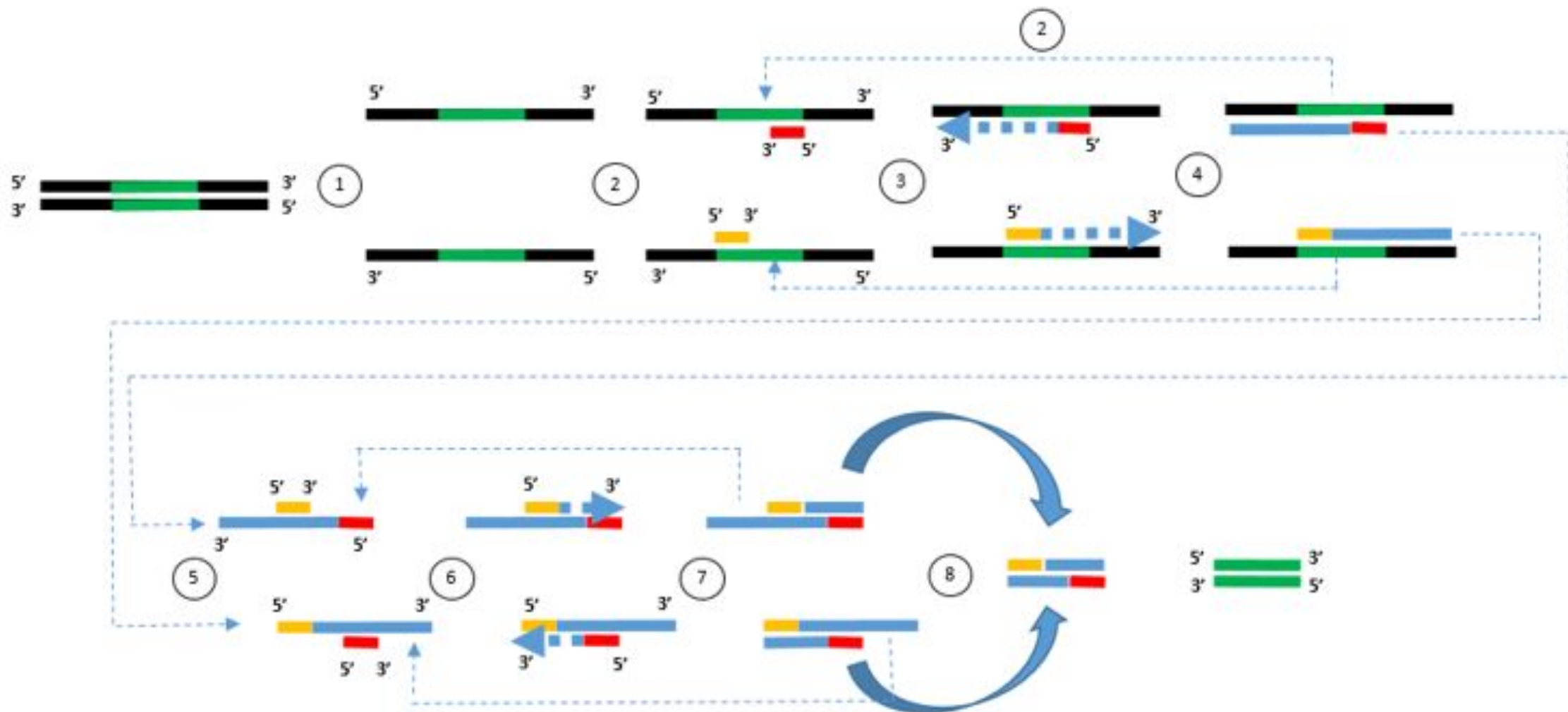
Polymerization/Primer  
Extension (Blue, Dotted Arrow)



Synthesized Sequence (Blue)



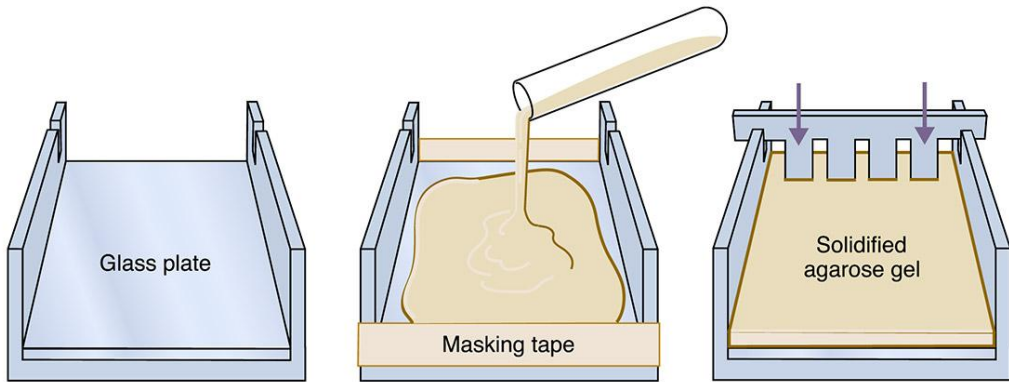
Strand Used As Template In  
Next Cycle (Blue, Thin Dotted Arrow)



# Polymerase chain reaction (PCR)



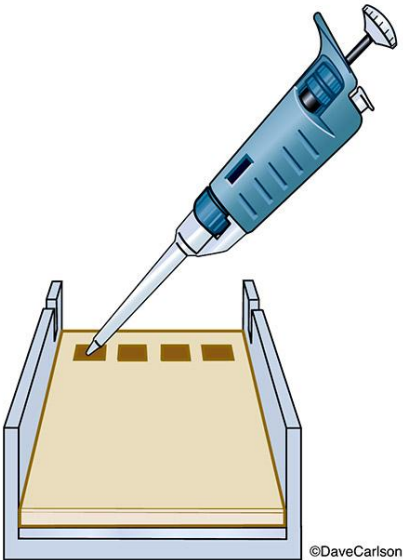
# ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗ



A. Casting tray

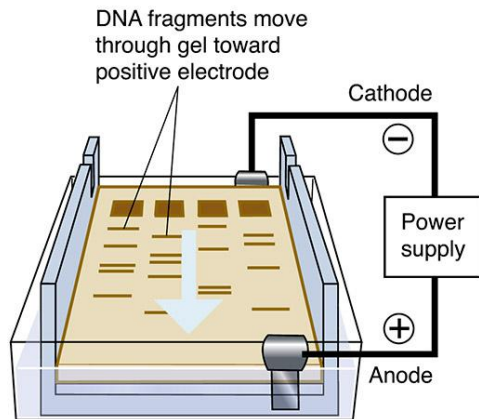
B. Pouring agarose solution onto glass plate

C. Comb is pushed down into gel to form wells



©DaveCarlson

D. DNA segments loaded into wells with micropipette



E. Gel plate immersed in charged buffer solution

