ПЦР

РУША

01-641

ЧТО ЭТО ТАКОЕ?

ЧТО БЫЛО ОТКРЫТО РАНЬШЕ?

ПЦР

- Увеличение количества фрагментов

Секвенирование

- Определение последовательности

ОТКРЫТИЕ

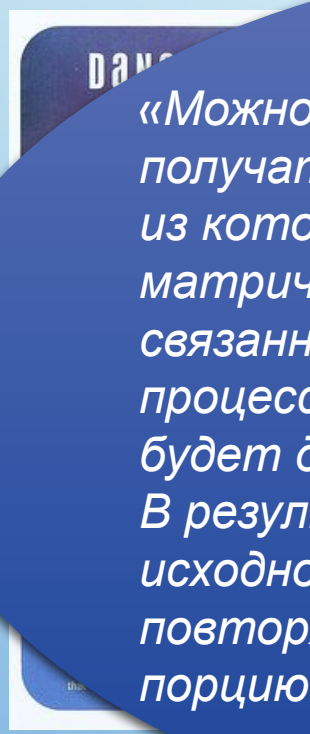
1971 г. Норвежский биохимик Хьелль Клеппе опубликовал статью, в которой описал метод, очень похожий на ПЦР

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



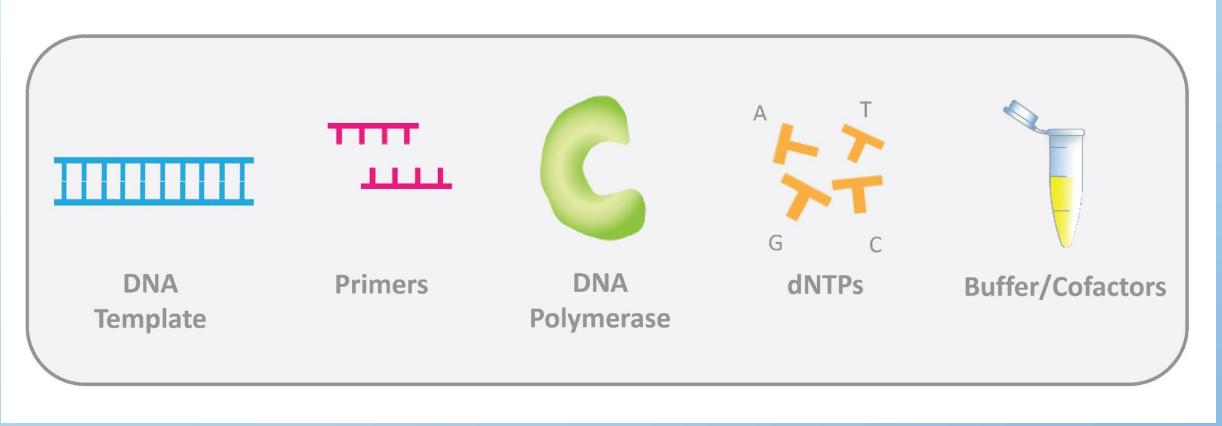
«Можно ожидать, что после охлаждения получатся две структуры, каждая из которых содержит полноразмерную матричную цепь, подобающим образом связанную с праймером. Для завершения процесса репаративной репликации нужно будет добавить ДНК-полимеразу. В результате получатся уже две молекулы исходного дуплекса.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

мает

ПЦР?

ПРИНЦИП МЕТОДА

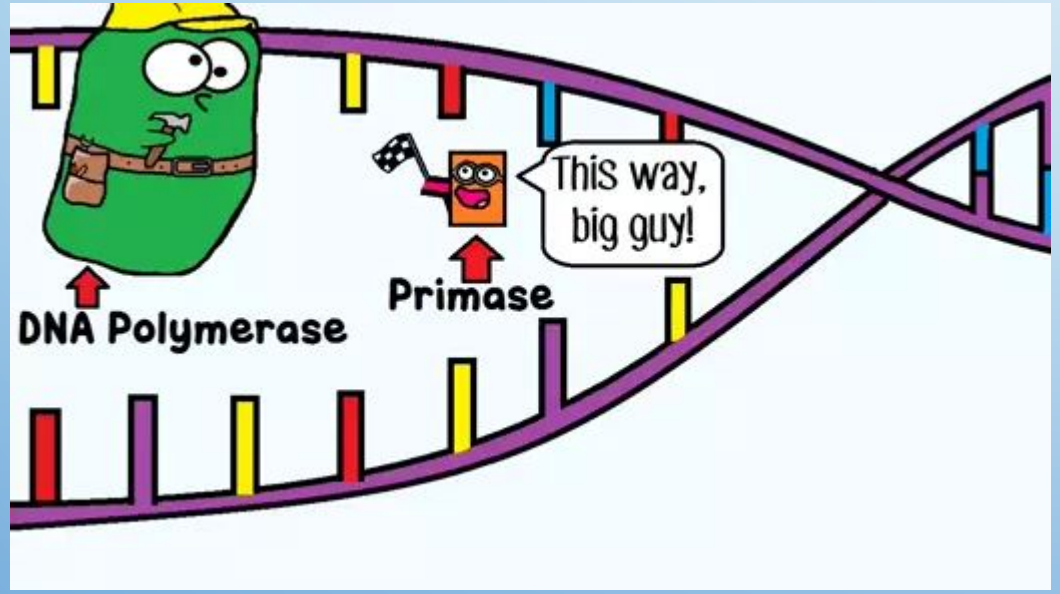
- Образец днк
- Праймеры
- Нуклеотиды
- Днк-полимераза
- Буфер

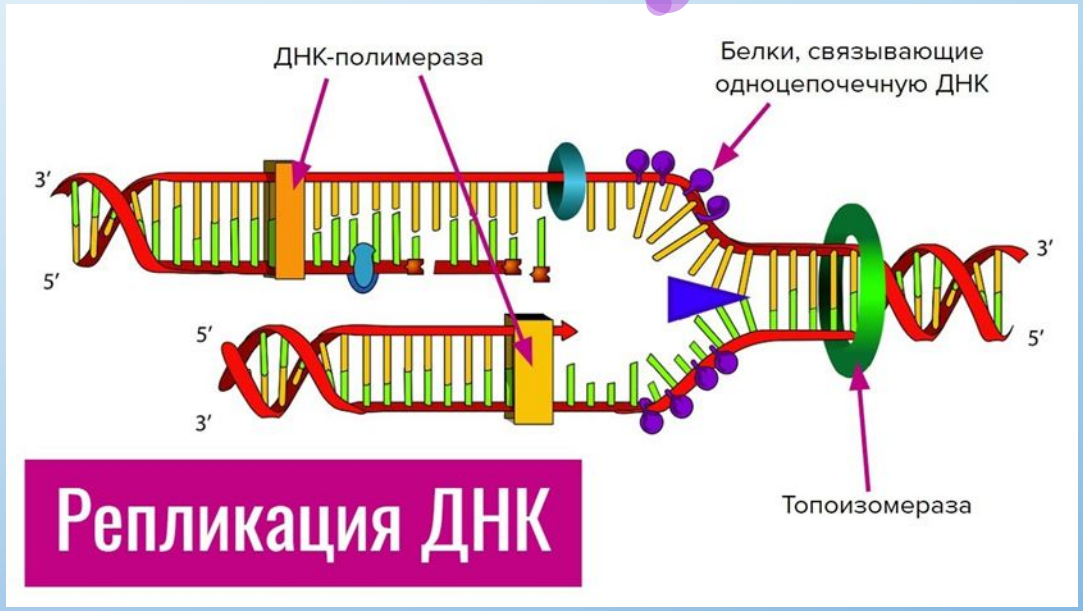


ДНК-ПОЛИМЕРАЗА

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

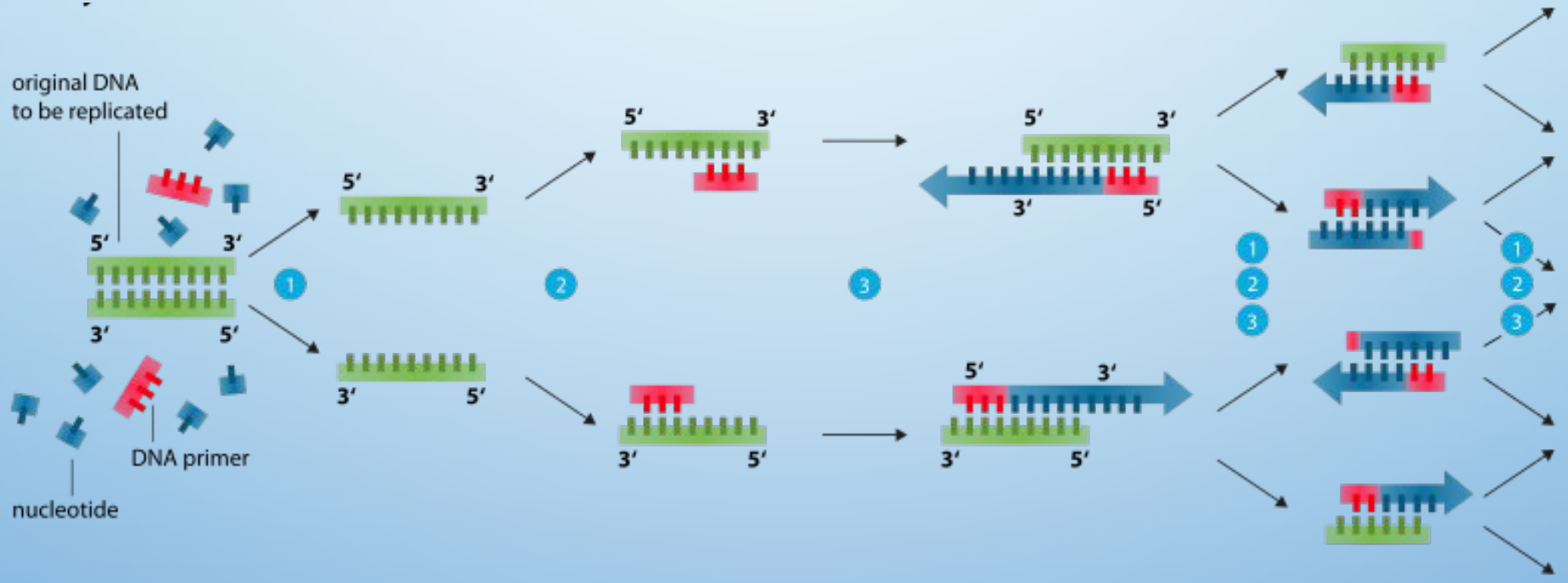
- ФЕРМЕНТ, КАТАЛИЗИРУЮЩИЙ ПРОЦЕСС ПОЛИМЕРИЗАЦИИ ДНК ИЗ НУКЛЕОТИДОВ





ЭТАПЫ

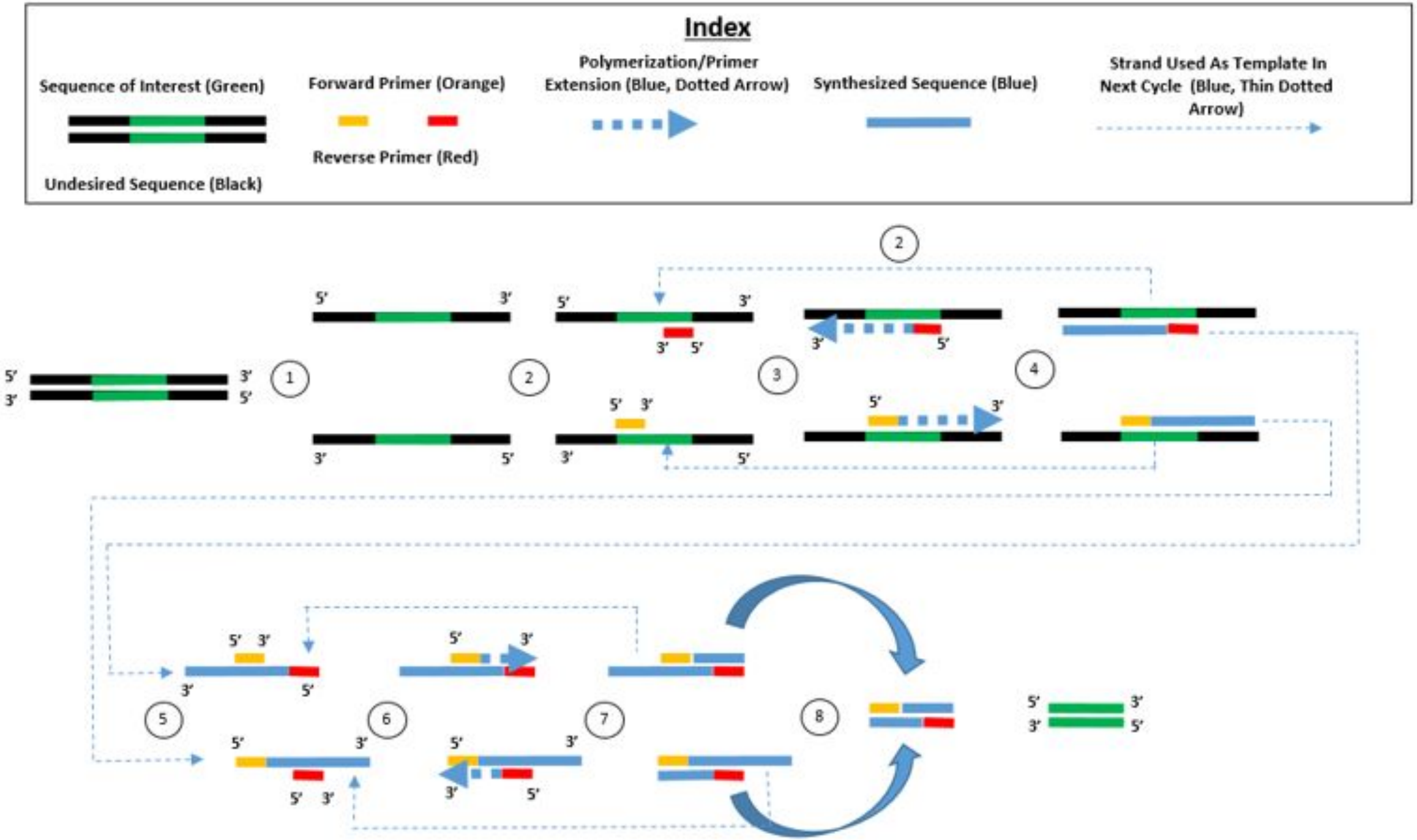
Денатурация → Отжиг праймеров → Элонгация



1 **Denaturation** at 94-96°C

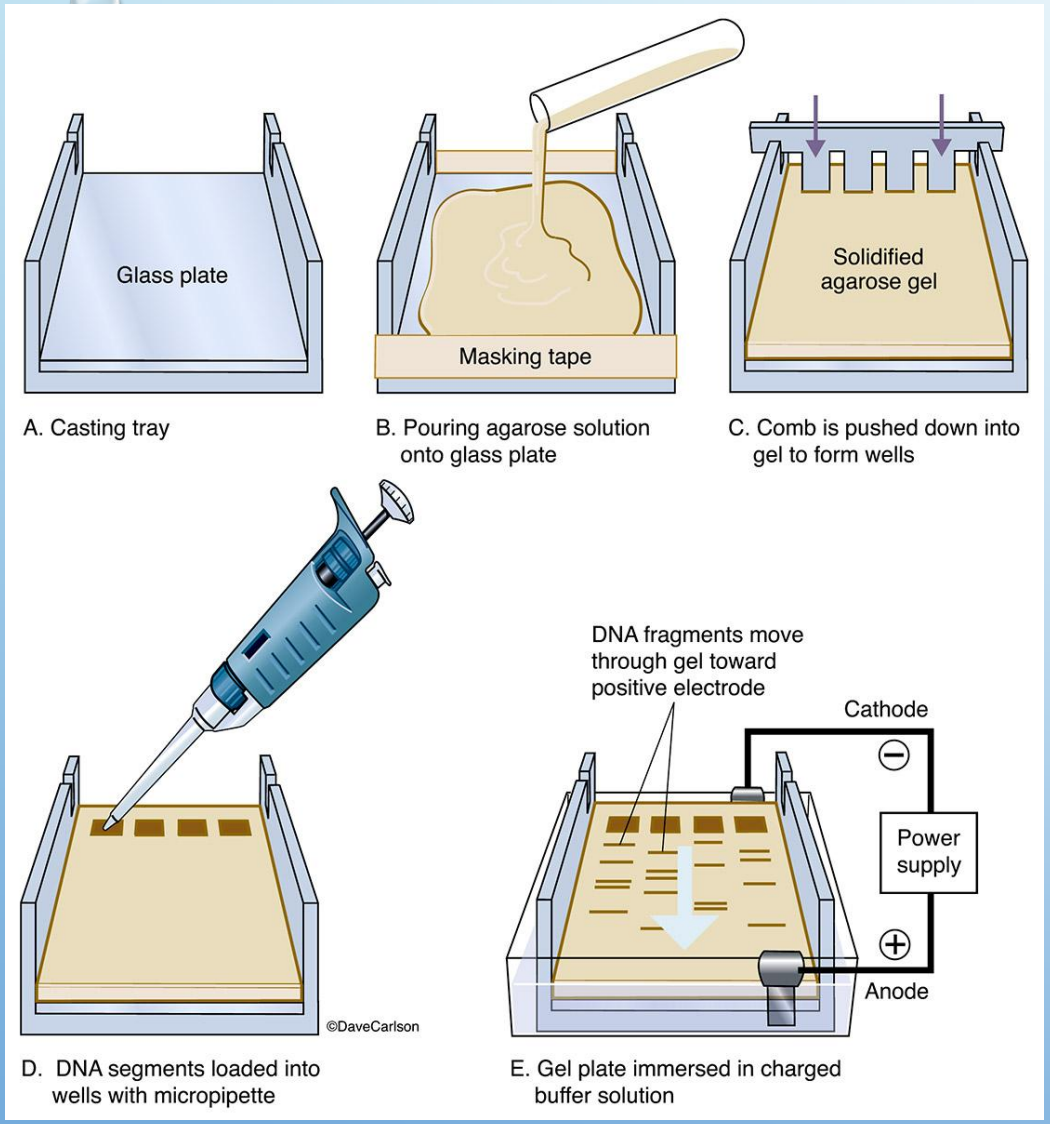
2 **Annealing** at ~68°C

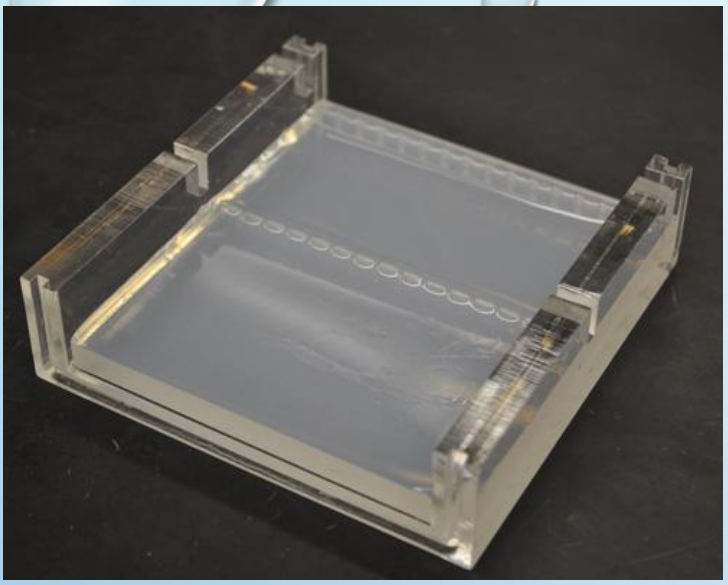
3 **Elongation** at ca. 72 °C

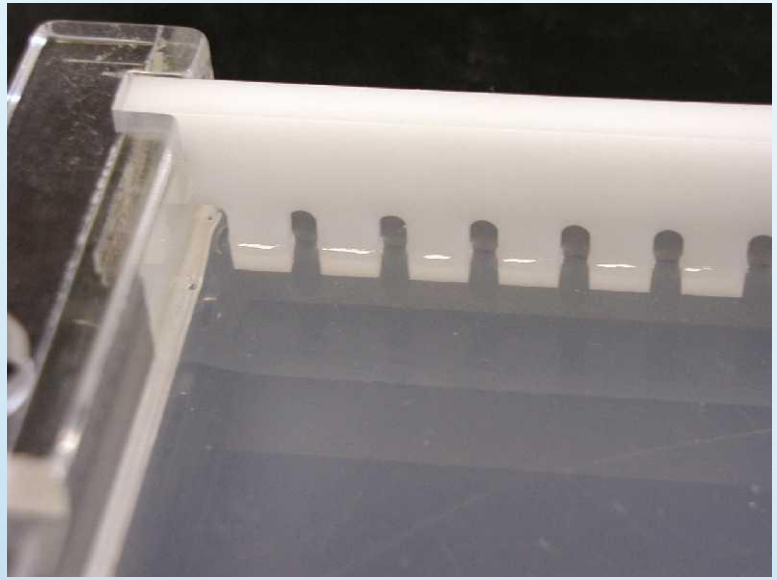

Index
Sequence of Interest (Green)
Undesired Sequence (Black)
Forward Primer (Orange)
Reverse Primer (Red)
Polymerization/Primer Extension (Blue, Dotted Arrow)
Synthesized Sequence (Blue)
Strand Used As Template In Next Cycle (Blue, Thin Dotted Arrow)
1
2
3
4
5
6
7
8
5'
3'

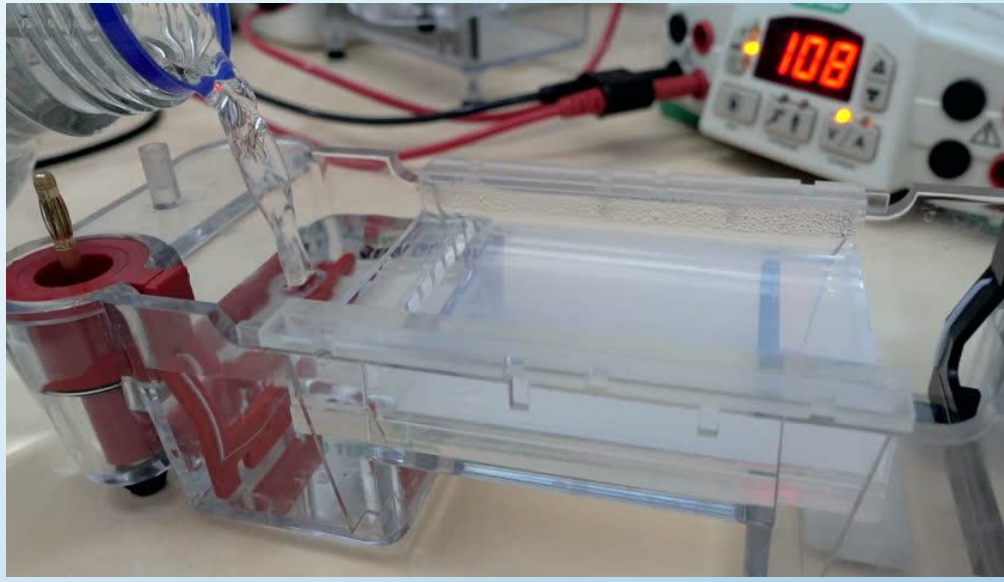
Polymerase chain reaction (PCR)

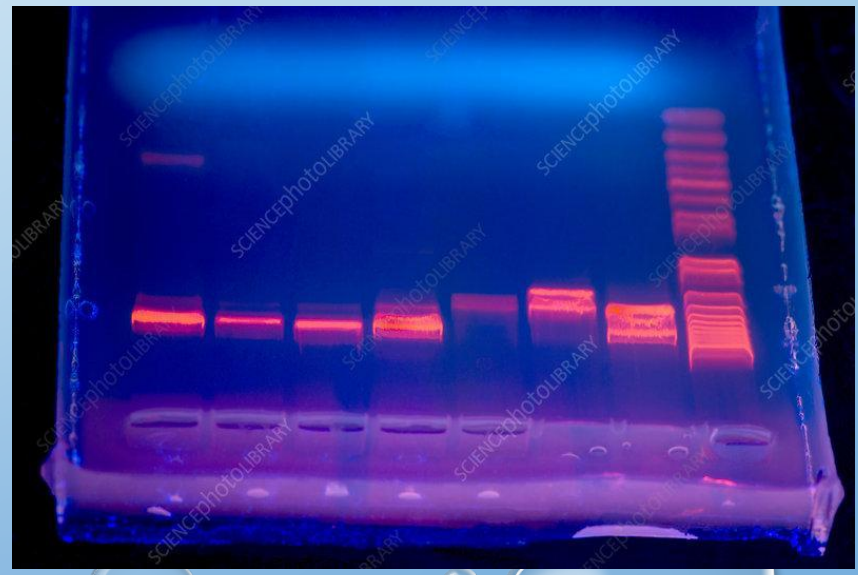
ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ГЕЛЬ-ЭЛЕКРОФОРЕЗ








108



qled