

«АО» Южно-Казахстанская медицинская академия
Кафедра биологии и биохимии

БУКЛЕТ

на тему: **Полимеразная
цепная реакция (ПЦР). Блот
гибридизация по Саузерну.**

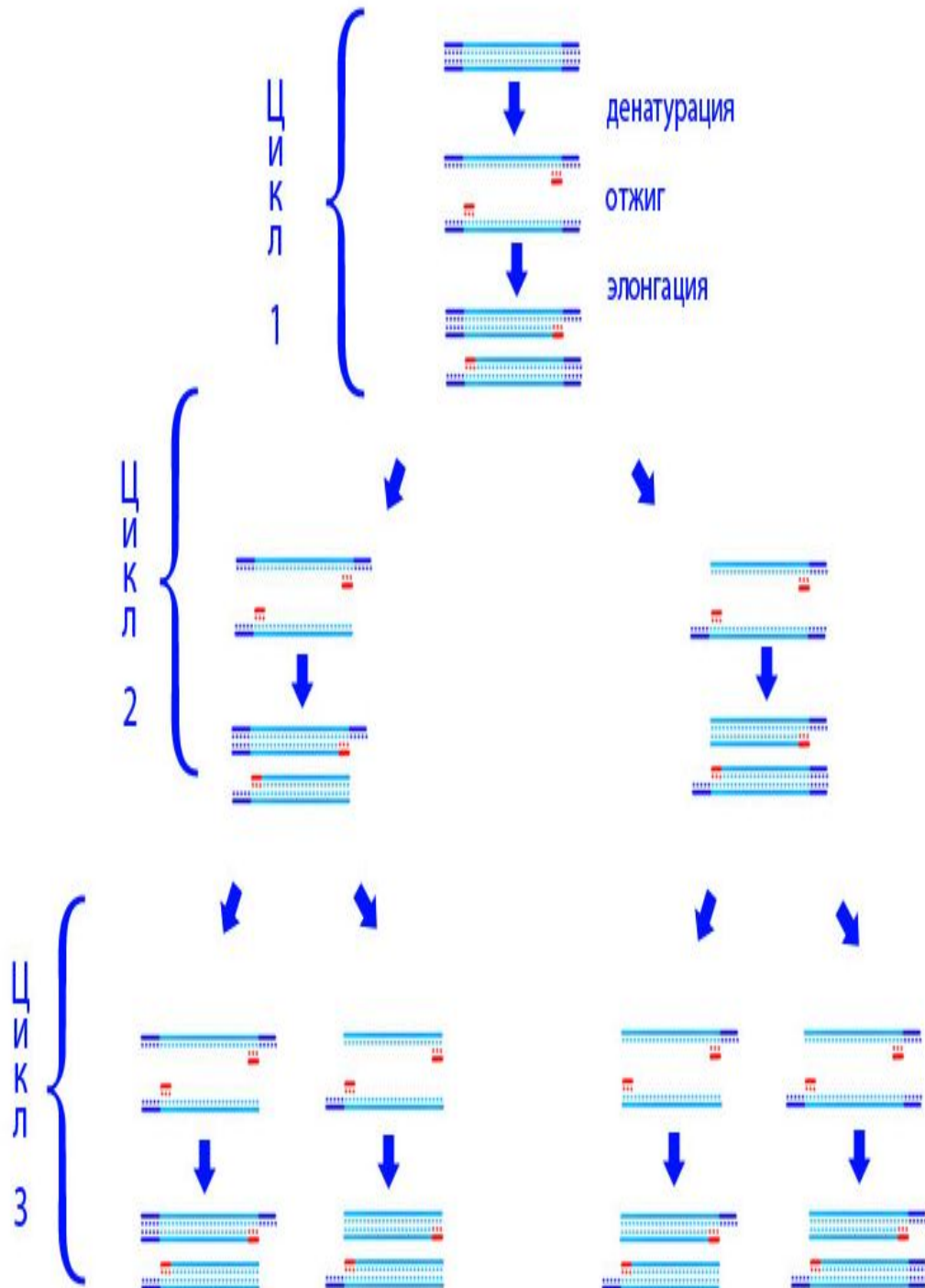
Выполнил: Мадениетов Ж.К.

Группа: В-СТОА-03-19

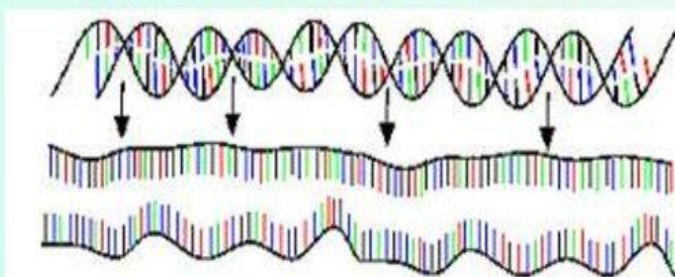
Принял: Дарипбек А.Ж.

ШЫМКЕНТ 2019

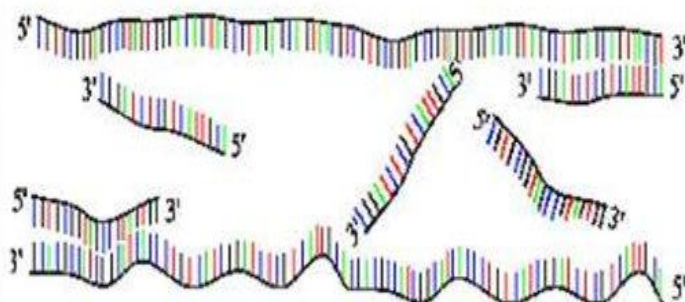
Полимеразная цепная реакция



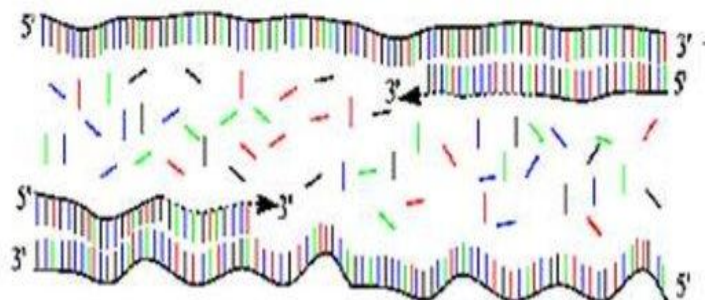
Полимеразная цепная реакция



Этап 1: Денатурация



Этап 2: Отжиг праймеров



Этап 3: Синтез цепи ДНК

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

Принцип осуществления



добавление ДНК-полимеразы и нуклеотидов



нуклеотиды присоединяются к 3'-концам праймеров



повторение циклов (30-80) – накопление (амплификация)
искомого гена



резкое нарастание (двукратное после каждого цикла) количества
искомого гена



определение количества ДНК с помощью электрофореза

+ количество ДНК увеличивается

– количество ДНК не увеличивается



ДНК



ПРАЙМЕРЫ



НУКЛЕОТИДЫ



ДНК-ПОЛИМЕРАЗА



РАСТВОР

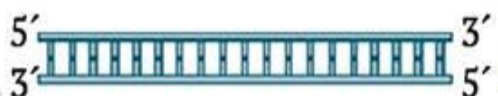


б



Подготовка реакции

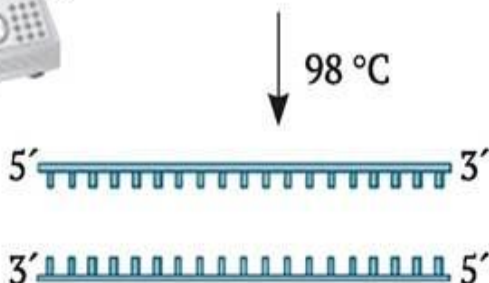
Готовая реакционная смесь помещается в термоциклер



Фрагмент ДНК, представляющий интерес

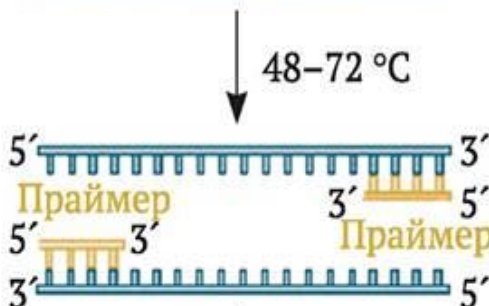
Денатурация ДНК

Повышение температуры до точки денатурации двухцепочечной ДНК



Отжиг праймеров

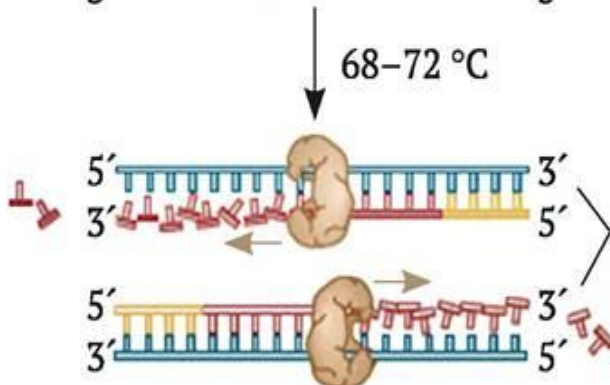
Снижение температуры до точки, обеспечивающей комплементарную связь праймера с ДНК-матрицей



Одноцепочечные фрагменты препарата ДНК

Элонгация

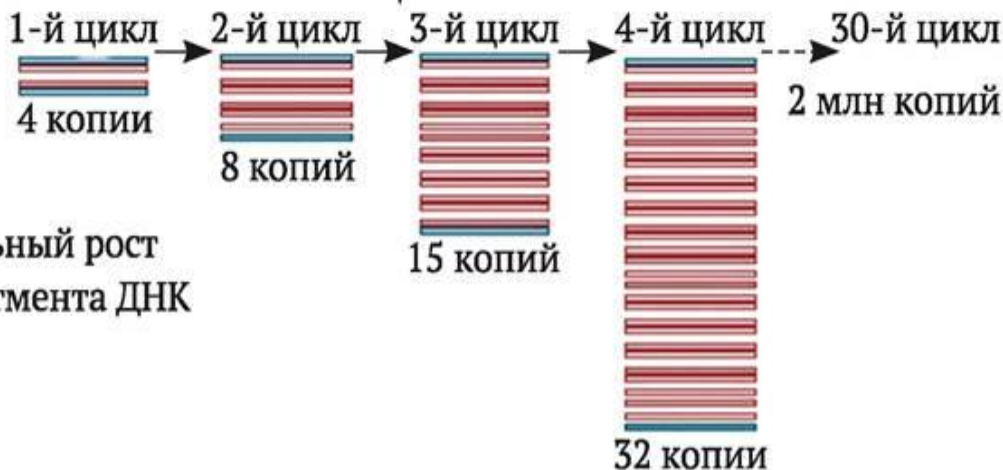
Полимераза наращивает новые цепи ДНК между праймерами на одноцепочечных матрицах



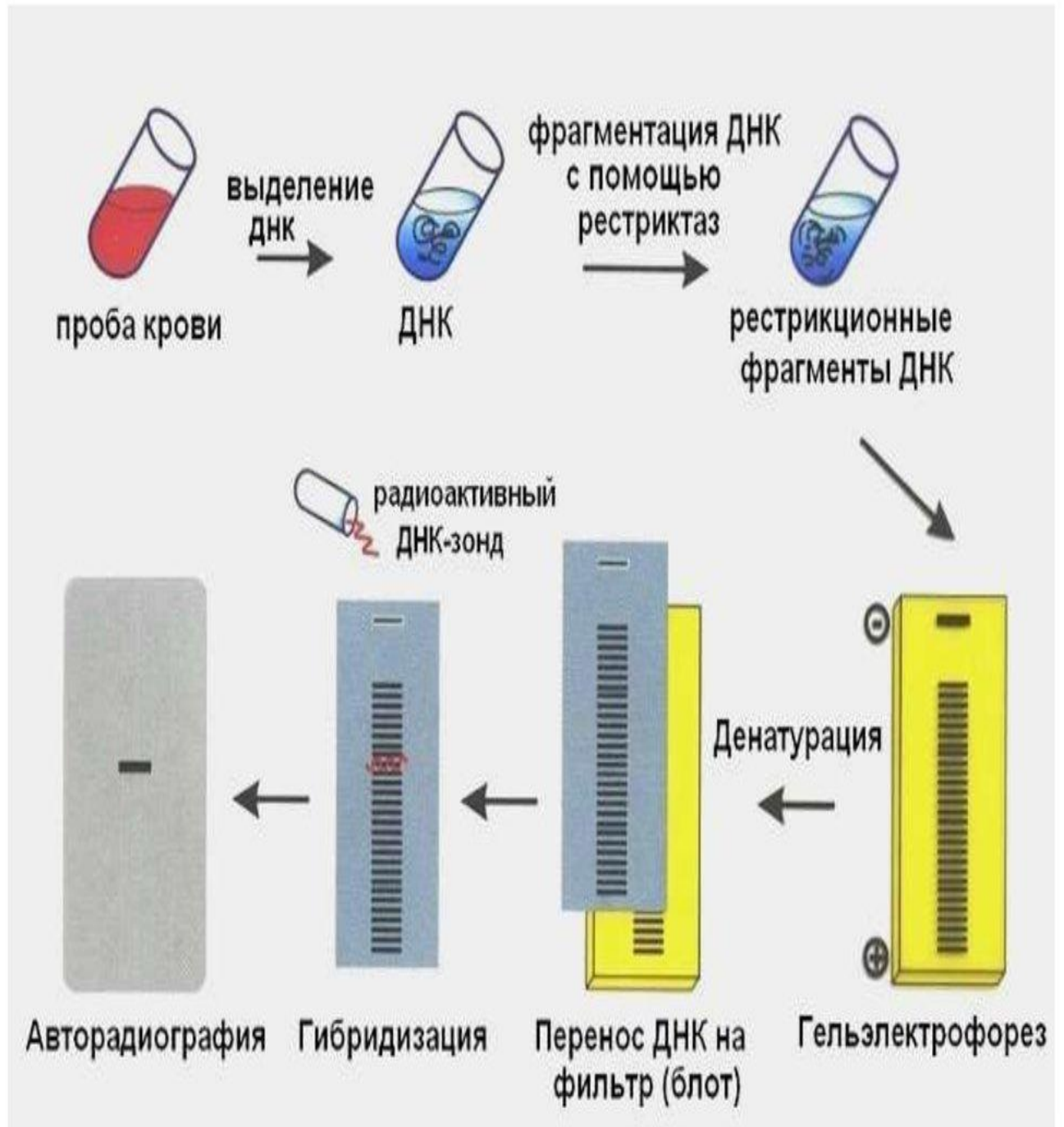
Синтезируемые заново на одноцепочечной матрице фрагменты двухцепочечной ДНК

Экспоненциальная амплификация фрагментов

Повторение процесса и далее экспоненциальный рост количества копий фрагмента ДНК



Метод блот-гибридации (Саузерн-блот) (Э.Саузерн, 1975 г.)



Применение ПЦР

- Криминалистика
- Установление отцовства
- Медицинская диагностика.
- Персонализированная медицина
Клонирование генов
- Секвенирование
- Мутагенез
- Древняя ДНК