ЛЕКЦИЯ 4

ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ:

УСТРОЙСТВО ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ПРОКАРИОТ.
НУКЛЕОИД, ПЛАЗМИДЫ, ТРАНСПОЗОНЫ.
ВИДЫ ПЛАЗМИД И ИХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ.
ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ.
МУТАЦИИ, МОДИФИКАЦИИ, ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ РЕКОМБИНАЦИИ.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АППАРАТ ПРОКАРИОТ ПРЕДСТАВЛЕН

НУКЛЕОИДОМ

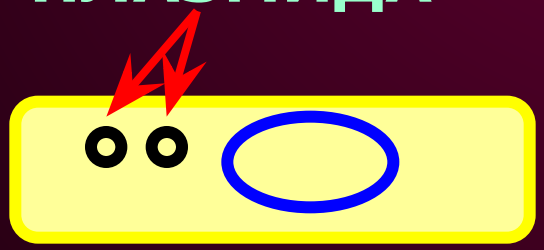
ВНЕХРОМОСОМНЫМИ ФАКТОРАМИ:

- ПЛАЗМИДАМИ,
- ЭПИСОМАМИ,
- ТРАНСПОЗОНАМИ,
- ИНСЕРЦИОННЫМИ ВСТАВКАМИ (IS-ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ Insertion Sequence)

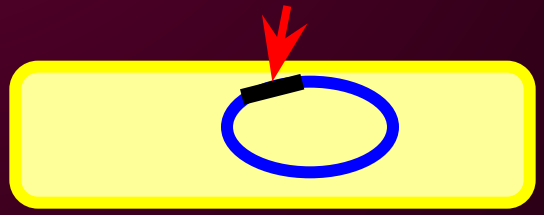
ПЛАЗМИДЫ - ВНЕХРОМОСОМНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СТРУКТУРЫ БАКТЕРИЙ.
НЕБОЛЬШИЕ МОЛЕКУЛЫ ДНК, СПОСОБНЫЕ К АВТОНОМНОЙ РЕПЛИКАЦИИ.

ПЛАЗМИДЫ ЛОКАЛИЗУЮТСЯ В ЦИТОПЛАЗМЕ БАКТЕРИИ

В СВОБОДНОМ ВИДЕ – ПЛАЗМИДА



В СВЯЗАННОМ С НУКЛЕОИДОМ ВИДЕ – ЭПИСОМА



СВОБОДНЫЕ ПЛАЗМИДЫ СПОСОБНЫ К АВТОНОМНОЙ ОТ ХРОМОСОМЫ РЕПЛИКАЦИИ

ТРАНСМИССИВНЫЕ ПЛАЗМИДЫ

САМОСТОЯТЕЛЬНО ПЕРЕДАЮТСЯ ДРУГИМ ОСОБЯМ С ПОМОЩЬЮ КОНЪЮГАЦИИ

НЕТРАНСМИССИВНЫЕ ПЛАЗМИДЫ

НЕ ИМЕЮТ АППАРАТА ПЕРЕДАЧИ, НО МОГУТ ПЕРЕНОСИТЬСЯ С ТРАНСМИССИВНЫМИ ПЛАЗМИДАМИ ИЛИ ПОСРЕДСТВОМ ТРАНСДУКЦИИ

ПРИОБРЕТЕНИЕ ИЛИ УТРАТА ПЛАЗМИДЫ ПРИВОДИТ К ПРИОБРЕТЕНИЮ ИЛИ УТРАТЕ ОДНОГО ИЛИ НЕСКОЛЬКИХ ПРИЗНАКОВ, В НЕКОТОРЫХ КЛЕТКАХ БАКТЕРИЙ МОЖЕТ СОДЕРЖАТЬСЯ НЕСКОЛЬКО ТИПОВ ПЛАЗМИД

РАЗЛИЧАЮТ НЕСКОЛЬКО ВИДОВ ПЛАЗМИД:

- **R-ПЛАЗМИДА**
- **COL –ПЛАЗМИДА**
- **F-ПЛАЗМИДА**
- **ПЛАЗМИДЫ ПАТОГЕННОСТИ**
- **ПЛАЗМИДЫ БИОДЕГРАДАЦИИ**

R-ПЛАЗМИДА (ФАКТОР РЕЗИСТЕНТНОСТИ) - ДЕТЕРМИНИРОВАНИЕ СИНТЕЗА ФЕРМЕНТОВ, РАСЩЕПЛЯЮЩИХ АНТИБИОТИКИ, ТОРМОЖЕНИЕ ПЕРЕНОСА АНТИБИОТИКА ЧЕРЕЗ КЛЕТОЧНЫЕ МЕМБРАНЫ. СОСТОИТ ИЗ 2 ОБЛАСТЕЙ: 1 - ЭТО ГЕНЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ, 2 - ГЕНЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ ПЕРЕНОС ПЛАЗМИДЫ В ДРУГУЮ КЛЕТКУ. ПЕРЕДАЧА ПЛАЗМИДЫ ВЫХОДИТ ЗА ПРЕДЕЛЫ ВИДА.

COL –ПЛАЗМИДЫ - КОНТРОЛИРУЮТ СИНТЕЗ БАКТЕРИОЦИНОВ, КОТОРЫЕ АКТИВНЫ В ОТНОШЕНИИ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ БАКТЕРИЙ.

ХАРАКТЕРНО АВТОНОМНОЕ СОСТОЯНИЕ, ПЕРЕДАЁТСЯ ПРИ КОНЪЮГАЦИИ БЕЗ СЦЕПЛЕНИЯ С ХРОМОСОМОЙ

ПЛАЗМИДЫ ПАТОГЕННОСТИ - КОНТРОЛЬ СИНТЕЗА АДГЕЗИНОВ, ИНВАЗИНОВ, ТОКСИНОВ

ПЛАЗМИДЫ БИОДЕГРАДАЦИИ – КОНТРОЛЬ УТИЛИЗАЦИИ НЕКОТОРЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

F-ПЛАЗМИДА (ФАКТОР ФЕРТИЛЬНОСТИ) – КОНТРОЛИРУЕТ СИНТЕЗ СЕКС-ПИЛИ, КОНЪЮГАЦИЮ И ПЕРЕНОС ГЕНОВ ХРОМОСОМЫ И НЕТРАНСМИССИВНЫХ ПЛАЗМИД ОТ ДОНОРА РЕЦИПИЕНТУ МОЖЕТ НАХОДИТЬСЯ КАК В АВТОНОМНОМ СОСТОЯНИИ, ТАК И В СОСТОЯНИИ ИНТЕГРАЦИИ С ХРОМОСОМОЙ.

БАКТЕРИИ, ОБЛАДАЮЩИЕ F-ПЛАЗМИДОЙ, ЯВЛЯЮТСЯ ДОНОРАМИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ И ОТНОСЯТСЯ К ТАК НАЗЫВАЕМЫМ Hfr-ШТАММАМ (High Frequency of Recombination)

ИНСЕРЦИОННЫЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ (IS) – ЛИНЕЙНЫЕ ФРАГМЕНТЫ ДВУХЦЕПОЧЕЧНОЙ ДНК (ОТ 200 ДО 2000 П. Н.), СОДЕРЖАТ ТОЛЬКО ГЕНЫ TNP, КОДИРУЮЩИЕ СИНТЕЗ ФЕРМЕНТА ТРАНСПОЗАЗЫ, НЕОБХОДИМОГО ДЛЯ ИХ ПЕРЕМЕЩЕНИЯ (ТРАНСПОЗИЦИИ).

СПОСОБНЫ К ПЕРЕМЕЩЕНИЮ ИЗ ХРОМОСОМНОГО ЛОКУСА В ДРУГОЙ, ИЗ ХРОМОСОМЫ НА ПЛАЗМИДУ.

СПОНТАННОЕ ПЕРЕМЕЩЕНИЕ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ МОЖЕТ ВЫЗЫВАТЬ МУТАЦИИ В ИСХОДНОМ ИЛИ НОВОМ УЧАСТКЕ ВНЕДРЕНИЯ.

ТРАНСПОЗОНЫ –
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ДНК (более 2000 п.н.), СОДЕРЖАТ КРОМЕ ГЕНОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ТРАНСПОЗИЦИЮ, СТРУКТУРНЫЕ ГЕНЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ФУНКЦИИ, ОТВЕЧАЮЩИЕ ЗА ПРОЯВЛЕНИЕ КАКОГО-ЛИБО ФЕНОТИПА.
И
ОГРАНИЧЕННЫЕ С ОБЕИХ СТОРОН ИДЕНТИЧНЫМИ IS-*ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМИ*, КОТОРЫЕ ОБЕСПЕЧИВАЮТ ТРАНСПОЗОНАМ СПОСОБНОСТЬ ПЕРЕМЕЩАТЬСЯ ИЗ ОДНОГО ЛОКУСА ХРОМОСОМЫ В ДРУГИЕ, С ХРОМОСОМЫ НА ПЛАЗМИДЫ И НАОБОРОТ

ТРАНСПОЗОНЫ -

КОНТРОЛИРУЮТ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ, ИОНАМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ,

СПОСОБНОСТЬ К КАТАБОЛИЗМУ ЛАКТОЗЫ, РАФФИНОЗЫ,

ДЕГРАДАЦИИ ТОЛУОЛА,

СИНТЕЗ ЭНТЕРОТОКСИНОВ.

ОСНОВНАЯ ФУНКЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА –

КОНТРОЛЬ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ И ИЗМЕНЧИВОСТИ

ИЗМЕНЧИВОСТЬ - СВОЙСТВО ОРГАНИЗМОВ ПРИОБРЕТАТЬ НОВЫЕ ИЛИ УТРАЧИВАТЬ ИСХОДНЫЕ ПРИЗНАКИ.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ У БОЛЬШИНСТВА М/О ВЫРАЖЕНА В БОЛЬШЕЙ СТЕПЕНИ, ЧЕМ У ВЫСШИХ ОРГАНИЗМОВ, ЧТО СВЯЗАНО:

- **С КОРОТКИМ ПЕРИОДОМ ГЕНЕРАЦИИ,**
- **БОЛЬШЕЙ ЧАСТОТОЙ МУТАЦИЙ,**
- **ГЕНЕТИЧЕСКИМ ОБМЕНОМ, ВЫХОДЯЩИМ ЗА ПРЕДЕЛЫ ВИДА.**

В ТО ЖЕ ВРЕМЯ НЕКОТОРЫЕ ВИДЫ БАКТЕРИЙ (НАПРИМЕР, АРХЕБАКТЕРИИ)

И ОТДЕЛЬНЫЕ ИХ ПРИЗНАКИ (ФОРМА, РАЗМЕРЫ, СТРУКТУРА КЛЕТКИ, СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЭНЕРГИИ И ПИТАНИЯ, ПЕРИОД ГЕНЕРАЦИИ И ДР.)

МАЛО ИЗМЕНИЛИСЬ В ПРОЦЕССЕ ЭВОЛЮЦИИ

ГЕНОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ОБЕСПЕЧИВАЕТСЯ

- МУТАЦИЯМИ
- ГЕНЕТИЧЕСКИМИ РЕКОМБИНАЦИЯМИ

МУТАЦИИ У БАКТЕРИЙ

ГЕНОМНЫЕ

ХРОМОСОМНЫЕ

ГЕННЫЕ

ЗАКЛЮЧАЮТСЯ В ИНТЕГРАЦИИ В ХРОМОСОМУ И ПЕРЕМЕЩЕНИИ ПО НЕЙ ТРАНСПОЗОНОВ, ИНТЕГРАЦИИ И ДЕЗИНТЕГРАЦИИ ПЛАЗМИД

ЯВЛЯЮТСЯ ГЛАВНЫМ МЕХАНИЗМОМ ИЗМЕНЧИВОСТИ

СПОНТАННЫЕ МУТАЦИИ ОБУСЛОВЛЕНЫ ОШИБКАМИ РЕПЛИКАЦИИ ГЕНОМА В ПРОЦЕССЕ ДЕЛЕНИЯ ОСОБЕЙ И ОШИБКАМИ РЕПАРАЦИИ ПОВРЕЖДЕННОГО ГЕНОМА, А ТАКЖЕ ДЕЙСТВИЕМ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ.

ЧАСТОТА ИХ ПОСТОЯННА И НИЗКА (10^{-7} - 10^{-12}).

В СВЯЗИ С КОРОТКИМ ПЕРИОДОМ ГЕНЕРАЦИИ И МНОЖЕСТВЕННОСТЬЮ ПОПУЛЯЦИИ МУТАЦИИ ЭТОГО ТИПА МНОГОЧИСЛЕННЫ

ИНДУЦИРОВАННЫЕ МУТАЦИИ ПОЯВЛЯЮТСЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ ДЕЙСТВИЯ МУТАГЕНОВ, К КОТОРЫМ ОТНОСЯТСЯ

УФ-ИЗЛУЧЕНИЕ,

ИОНИЗИРУЮЩЕЕ ИЗЛУЧЕНИЕ,

ХИМИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА,

ВЕЩЕСТВА МУТАГЕНЫ,

КАНЦЕРОГЕНЫ.

СУДЬБА МУТАНТОВ ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ ИХ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬЮ И ОТБОРОМ.
В СЕЛЕКТИВНОЙ СРЕДЕ МУТАНТЫ МОГУТ ПРИОБРЕСТИ ДОМИНИРУЮЩЕЕ ПОЛОЖЕНИЕ В ПОПУЛЯЦИИ,
В НЕСЕЛЕКТИВНОЙ СРЕДЕ
ОНИ ПОГИБАЮТ ИЛИ ЗАНИМАЮТ НИЗКОЧАСТОТНОЕ ПОЛОЖЕНИЕ.

МНОГОЧИСЛЕННЫЕ ПОПУЛЯЦИИ БАКТЕРИЙ ОБЫЧНО СОДЕРЖАТ БОЛЬШОЕ КОЛИЧЕСТВО САМЫХ РАЗНЫХ МУТАНТОВ,
ЧТО ОПРЕДЕЛЯЕТ ИХ ВЫРАЖЕННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕКОМБИНАЦИИИ – ПРОЦЕСС ОБРАЗОВАНИЯ ГЕНОМОВ, СОДЕРЖАЩИХ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ОТ ДВУХ РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ – БАКТЕРИИ-ДОНОРА (D) И БАКТЕРИИ-РЕЦИПИЕНТА (R)

ТРАНСФОРМАЦИЯ

ТРАНСДУКЦИЯ

КОНЪЮГАЦИЯ

- **ТРАНСФОРМАЦИЯ – ПРОЦЕСС ПЕРЕНОСА ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА, ПРИ КОТОРОМ КЛЕТКА РЕЦИПИЕНТ ПОГЛОЩАЕТ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ В ФОРМЕ СВОБОДНОЙ ДНК ОТ РАЗРУШЕННОЙ КЛЕТКИ, ПРИ ЭТОМ НЕ ТРЕБУЕТСЯ НЕПОСРЕДСТВЕННОГО КОНТАКТА МЕЖДУ ДВУМЯ КЛЕТКАМИ.**

- **Явление трансформации открыто Гриффитсом в 1928 г.: если в организм мыши ввести убитые нагреванием капсульные пневмококки, а потом живые, не образующие капсул, то последние приобретают способность образовывать капсулы, то есть подвергаются трансформации.**

- СПОСОБНОСТЬ ДНК ПРОНИКАТЬ В КЛЕТКУ РЕЦИПИЕНТА ЗАВИСИТ

ОТ «СОСТОЯНИЯ»ДНК (ФРАГМЕНТИРОВАННАЯ МОЛЕКУЛА ДНК)

И ОТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ КЛЕТКИ-РЕЦИПИЕНТА

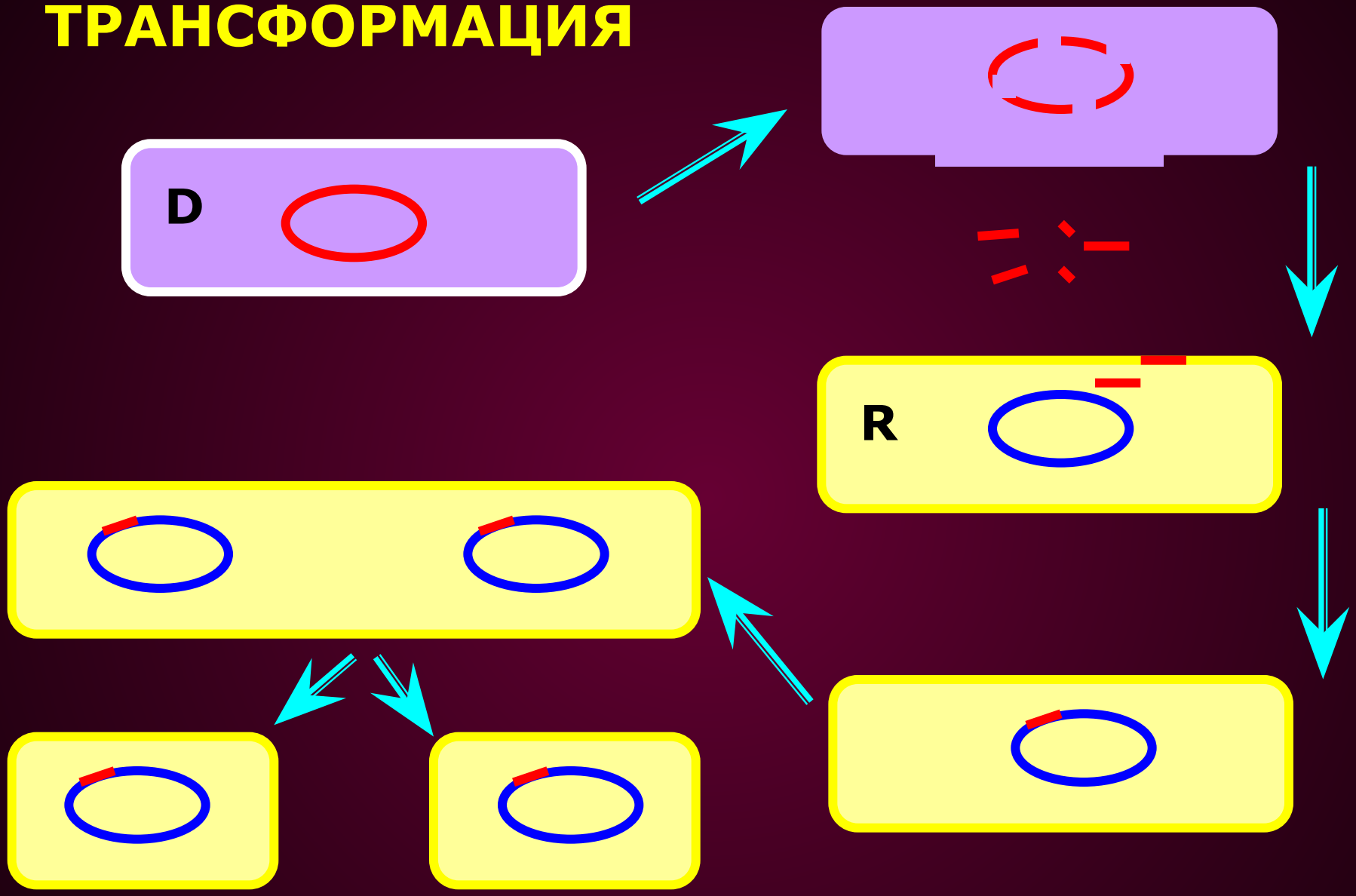
↓

- КЛЕТКИ, СПОСОБНЫЕ ВОСПРИНИМАТЬ ДОНОРНУЮ ДНК, НАЗЫВАЮТСЯ КОМПЕТЕНТНЫМИ
- В СОСТОЯНИИ КОМПЕТЕНТНОСТИ КЛЕТОЧНАЯ СТЕНКА БАКТЕРИЙ СТАНОВИТСЯ ПРОНИЦАЕМОЙ ДЛЯ ФРАГМЕНТОВ ДНК

Процесс трансформации включает несколько фаз:

1. адсорбция ДНК-донора на клетке-реципиенте
2. проникновение ДНК внутрь клетки-реципиента
3. соединение ДНК с гомологичным участком хромосомы реципиента с последующей рекомбинацией

ТРАНСФОРМАЦИЯ



- **ТРАНСДУКЦИЕЙ НАЗЫВАЕТСЯ ПЕРЕНОС ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ИЗ ОДНОЙ КЛЕТКИ В ДРУГУЮ С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИОФАГОВ**

- **Этот способ генетического обмена был открыт в 1952 г. Зиндером и Ледербергом**

- Трансдукция оказывается возможной, если в процессе размножения фага одна из частиц случайно захватывает фрагмент бактериальной хромосомы.

- Когда такая фаговая частица заражает бактерию реципиент, бактериальная ДНК проникает в клетку вместе с фаговой ДНК.

- Между трансдуцированной бактериальной ДНК и гомологичным участком бактериальной хромосомы может произойти обмен и, возникают рекомбинанты, несущие небольшую часть генетического материала клетки-донора.

ТРАНСДУКЦИЯ

КОНЪЮГАЦИЯ – ПРОЦЕСС ПЕРЕДАЧИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ ОДНОЙ КЛЕТКИ К ДРУГОЙ ПРИ ИХ НЕПОСРЕДСТВЕННОМ КОНТАКТЕ,

ПРИ ЭТОМ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ НАПРАВЛЕННЫЙ ПЕРЕНОС ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ КЛЕТКИ ДОНОРА В КЛЕТКУ РЕЦИПИЕНТА.

- **Конъюгация у бактерий была открыта Ледербергом и Татумом в 1946 г.**

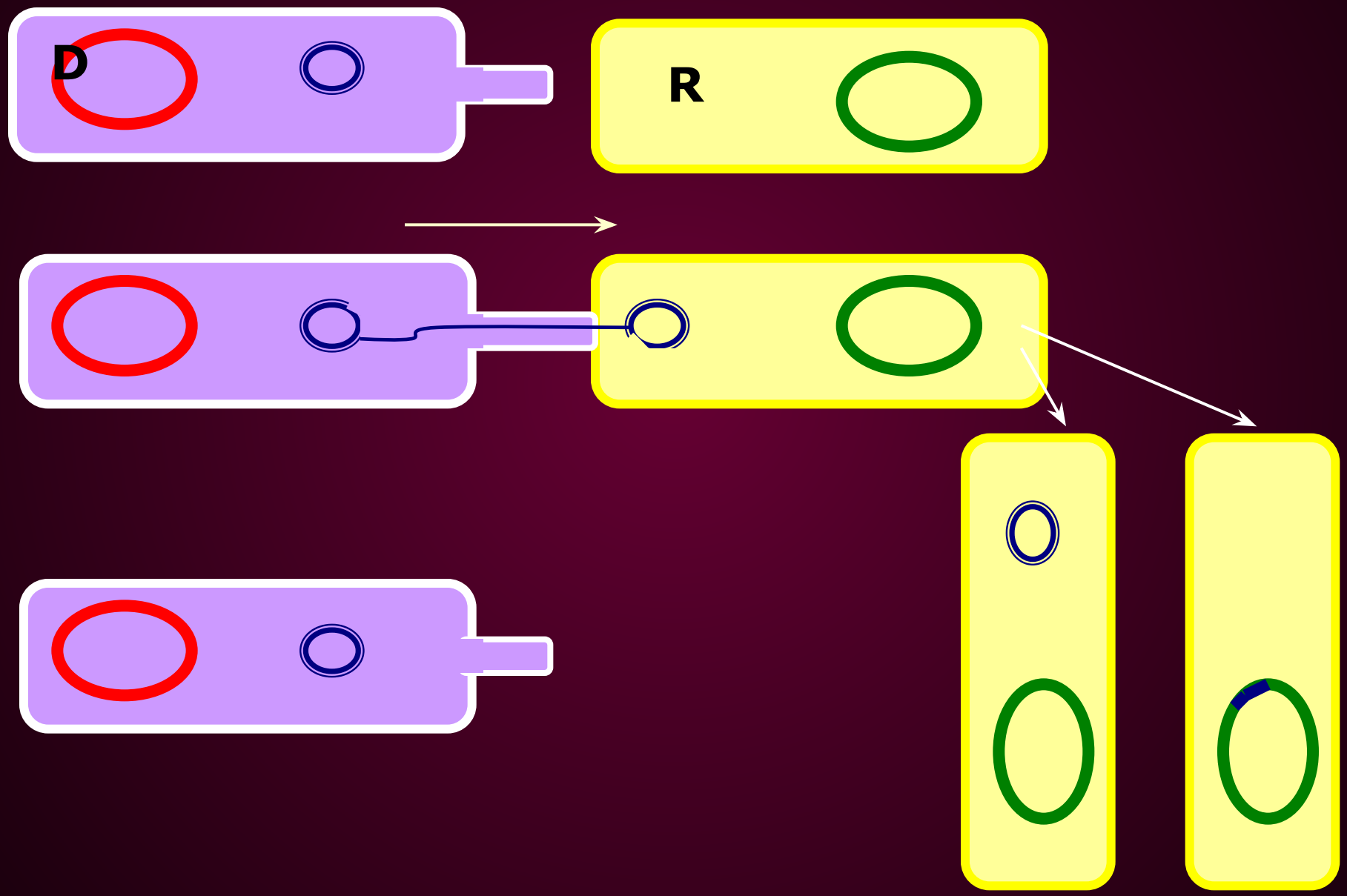
- ПРИ КОНЪЮГАЦИИ F^+ КЛЕТКА ПРИСОЕДИНЯЕТСЯ К F^- КЛЕТКЕ ПРИ ПОМОЩИ F ПИЛИ

- F ПЛАЗМИДА РЕПЛИЦИРУЕТСЯ ПО МЕХАНИЗМУ КАТЯЩЕГОСЯ КОЛЬЦА И ОДНА ЦЕПЬ ДНК ПЕРЕДАЕТСЯ ЧЕРЕЗ F-ПИЛИ В РЕЦИПИЕНТНУЮ КЛЕТКУ

- НА ЭТОЙ ЦЕПИ В РЕЦИПИЕНТНОЙ КЛЕТКЕ СИНТЕЗИРУЕТСЯ ДРУГАЯ ЦЕПЬ ДНК И, ТАКИМ ОБРАЗОМ, В РЕЦИПИЕНТНОЙ КЛЕТКЕ ПОЯВЛЯЕТСЯ ТОЧНО ТАКАЯ ЖЕ ПЛАЗМИДА КАК В КЛЕТКЕ-ДОНОРЕ.

- В РЕЗУЛЬТАТЕ КОНЪЮГАЦИИ ОБРАЗУЕТСЯ ДВЕ F^+ КЛЕТКИ

КОНЪЮГАЦИЯ



КОНЪЮГАЦИЯ У БАКТЕРИЙ

МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОМА БАКТЕРИЙ

ОСНОВАНЫ НА ПРИМЕНЕНИИ КОМПЛЕКСА ГЕНЕТИЧЕСКИХ, БИОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДОВ, А ТАКЖЕ КУЛЬТУРАЛЬНОГО МЕТОДА

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

В 1983 году Кэри Мюллис с сотрудниками разработал метод клонирования последовательностей ДНК in vitro.

ПЦР – метод амплификации, т.е. получения большого числа копий нужного гена или его фрагмента в условиях in vitro

ПЦР ШИРОКО ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ, ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ, КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА, ТУБЕРКУЛЕЗА, ВЕНЕРИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ И Т.Д.

ПЦР ПОЗВОЛЯЕТ ВЫЯВЛЯТЬ ЭТИОЛОГИЮ ИНФЕКЦИИ, ДАЖЕ ЕСЛИ В ПРОБЕ СОДЕРЖИТСЯ ВСЕГО НЕСКОЛЬКО МОЛЕКУЛ ДНК ВОЗБУДИТЕЛЯ.

ВЫСОКИЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И СПЕЦИФИЧНОСТИ (ДО 1000 М/О В 1 МЛ);

ВОЗМОЖНОСТЬ ОДНОВРЕМЕННОГО ВЫЯВЛЕНИЯ НЕСКОЛЬКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ОДНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ПРОБЕ, В ОТЛИЧИЕ ОТ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ, ГДЕ ДЛЯ РАЗНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ РАЗНЫЕ СПОСОБЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗНООБРАЗНОГО КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

РЕАКЦИОННАЯ СМЕСЬ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НУЖНОЙ ДНК СОДЕРЖИТ:

- ИССЛЕДУЕМАЯ ДНК-МАТРИЦА,

- СУБСТРАТЫ РЕАКЦИИ- ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДТРИФОСФАТЫ (DATP, DCTP, DGTP И TTP)

- 2 ПРАЙМЕРА - ИСКУССТВЕННО СИНТЕЗИРОВАННЫЕ КОРОТКИЕ ОДНОНИТЕВЫЕ ДНК (20-30 НУКЛЕОТИДОВ), СО СВОБОДНЫМ 3'-ОН-КОНЦОМ
- ФЕРМЕНТ - ТЕРМОСТАБИЛЬНАЯ TAQ-ПОЛИМЕРАЗА

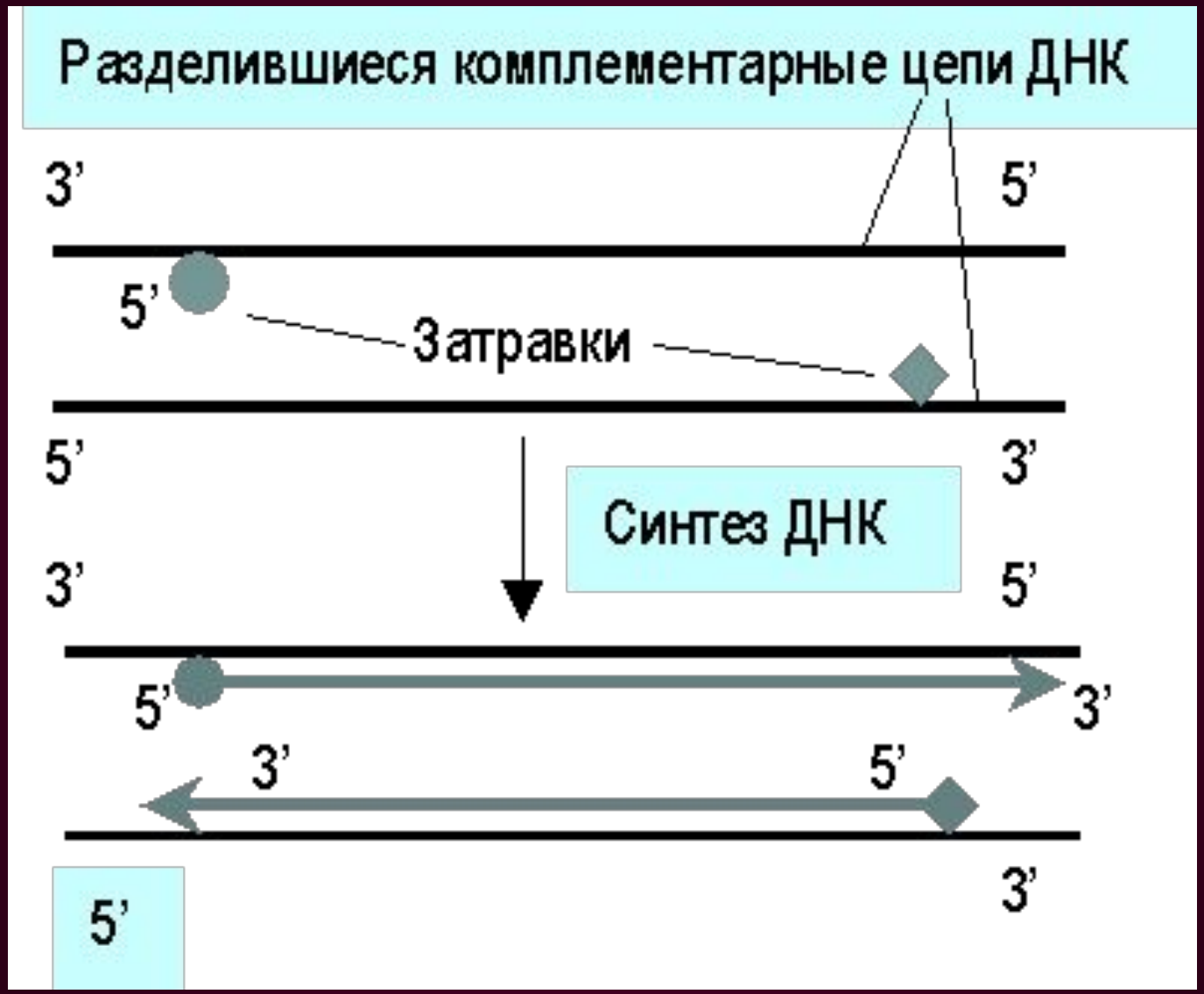
- БУФЕР - РАСТВОРЫ СОЛЕЙ, СОДЕРЖАЩИЕ ИОНЫ Mg^{2+}

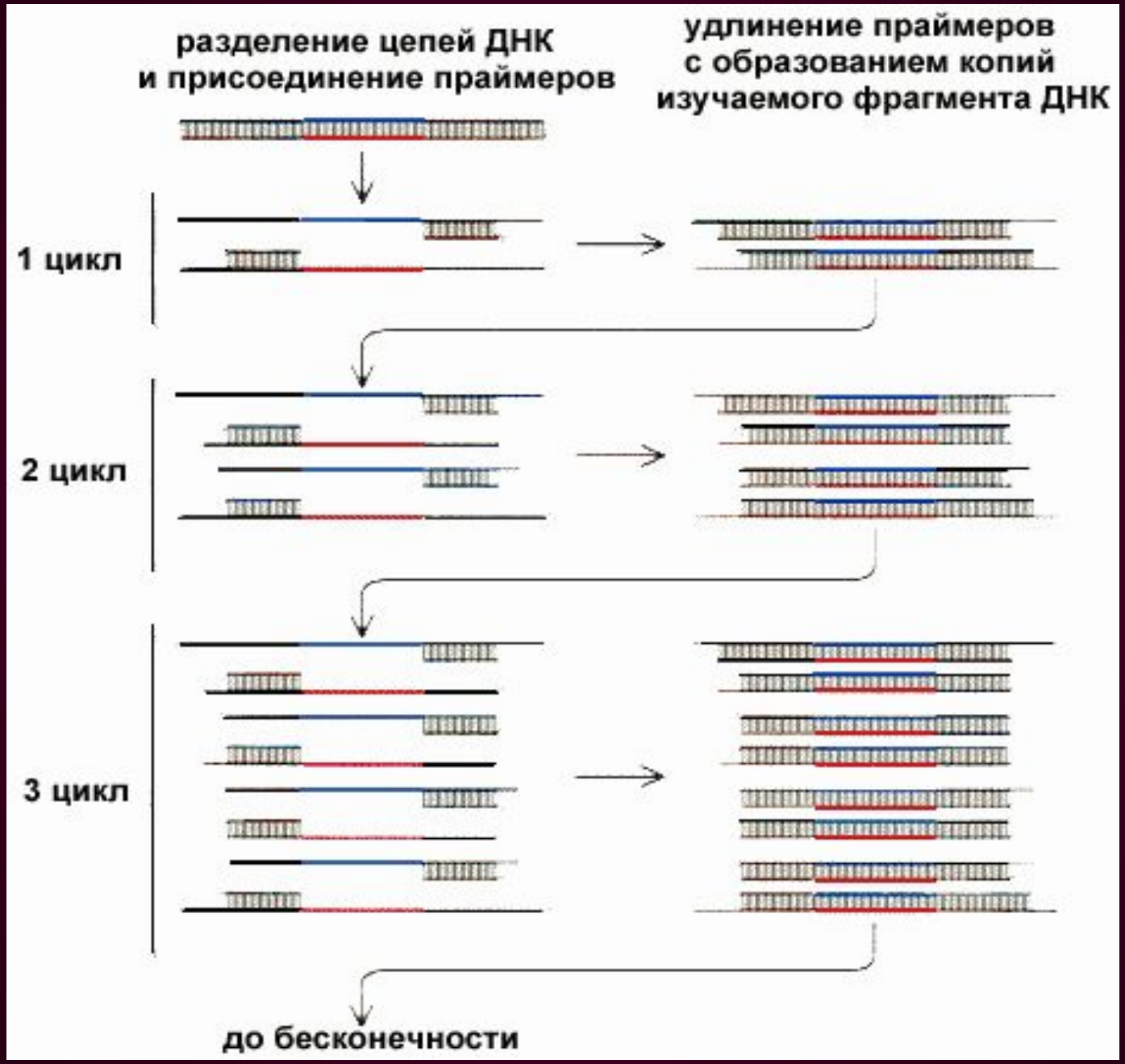
Цикл ПЦР включает 3 этапа:

- Денатурация – исходная смесь нагревается до 94°С, при этом нити ДНК расходятся;

- Отжиг – температура реакционной смеси снижается до 52°С и происходит комплементарное связывание праймеров с нитями матричной ДНК;

- Полимеризация, в ходе которой Taq-полимераза катализирует удлинение праймеров (с 3'-конца) и синтез новых цепей ДНК. Температура смеси 72°С.


Разделившиеся комплементарные цепи ДНК
3'
5'
5'
Затравки
5'
3'
Синтез ДНК
3'
5'
5'
3'
3'
5'
3'
5'


разделение цепей ДНК
и присоединение праймеров
удлинение праймеров
с образованием копий
изучаемого фрагмента ДНК
1 цикл
2 цикл
3 цикл
до бесконечности

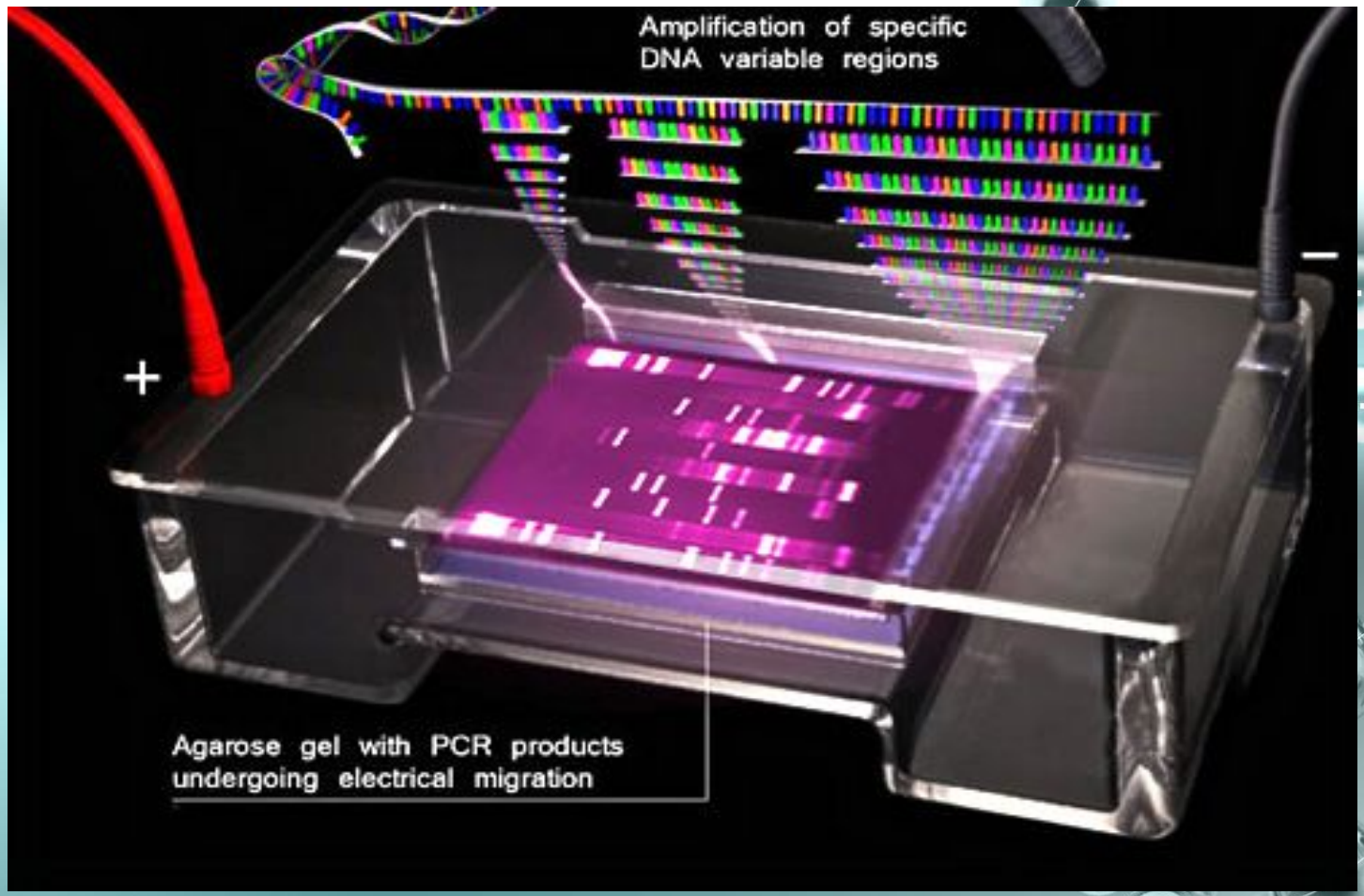
ЭТИ ЭТАПЫ ПОВТОРЯЮТСЯ МНОГОКРАТНО В ПРИБОРЕ – АМПЛИФИКАТОРЕ (ТЕРМОЦИКЛЕРЕ), ЧТО ПОЗВОЛЯЕТ ПОЛУЧИТЬ ОГРОМНОЕ КОЛИЧЕСТВО КОПИЙ НУЖНОГО ФРАГМЕНТА ДНК.

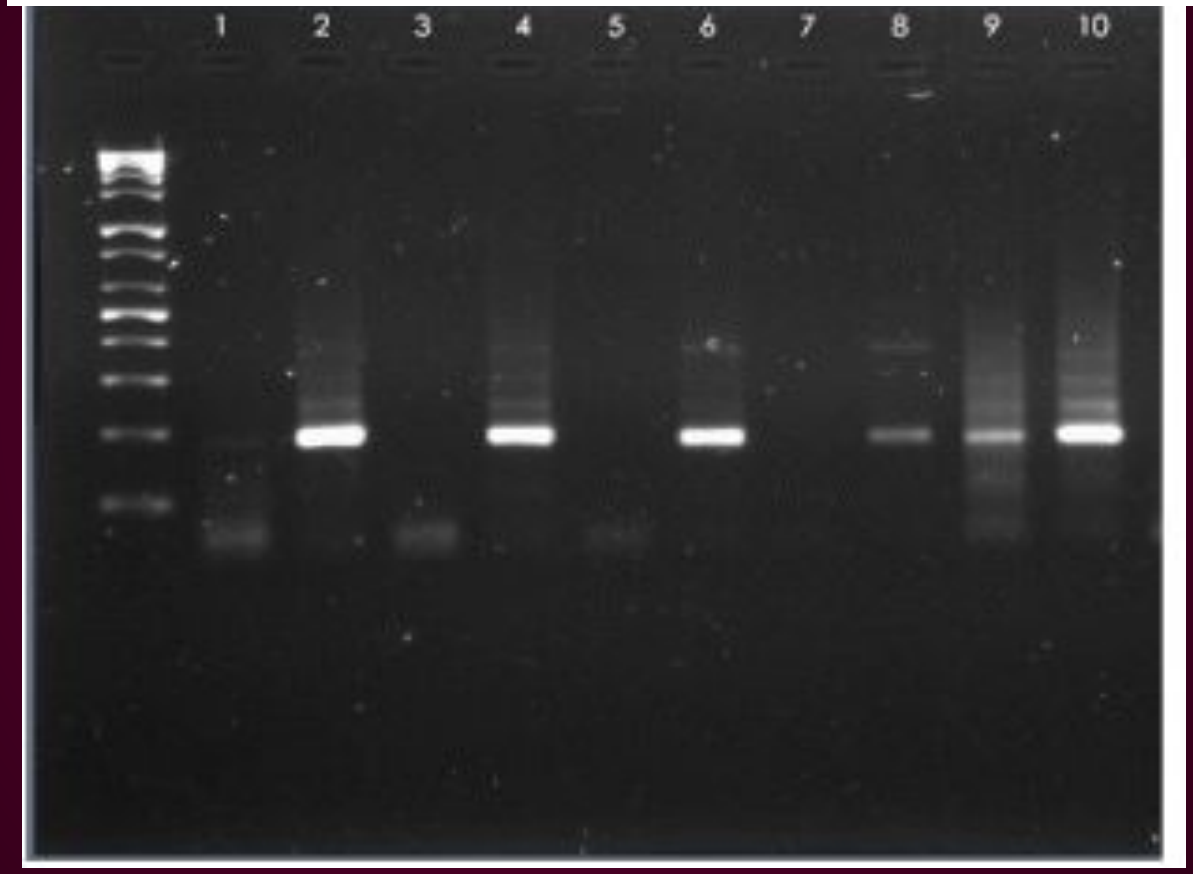
ТАК, В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРОВЕДЕНИЯ 20 ЦИКЛОВ ПЦР АНАЛИЗИРУЕМЫЙ УЧАСТОК ДНК АМПЛИФИЦИРУЕТСЯ БОЛЕЕ ЧЕМ В МИЛЛИОН РАЗ.

THERMOCYCLER ДЛЯ ПОСТАНОВКИ ПЦР

Современный амплификатор Corbett

Амплифицированный фрагмент выявляют в процессе электрофореза в агарозном геле





ПЦР-ПРОДУКТ ОБНАРУЖИВАЕТСЯ С ПОМОЩЬЮ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА В АГАРОЗНОМ ГЕЛЕ