

# 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.**

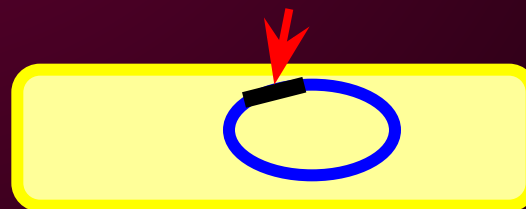
**ПЛАЗМИДЫ ЛОКАЛИЗУЮТСЯ В ЦИТОПЛАЗМЕ БАКТЕРИИ**



**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**

**ПРИБРЕТЕНИЕ 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  
ПРИБРЕТАТЬ 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.)**

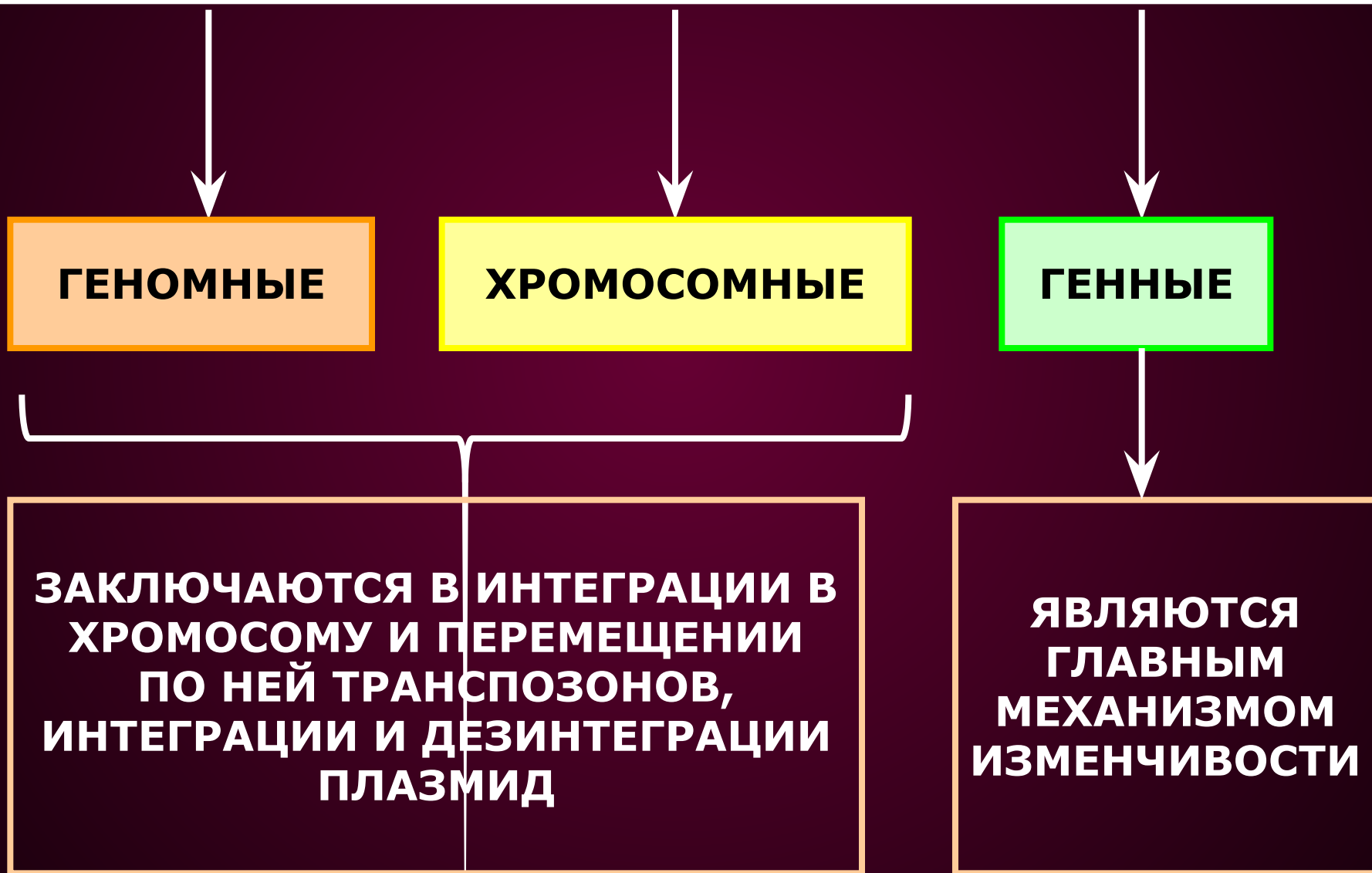
**МАЛО ИЗМЕНИЛИСЬ  
В ПРОЦЕССЕ ЭВОЛЮЦИИ**

# **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 ОБУСЛОВЛЕННЫ  
ОШИБКАМИ РЕПЛИКАЦИИ ГЕНОМА В ПРОЦЕССЕ  
ДЕЛЕНИЯ ОСОБЕЙ И ОШИБКАМИ РЕПАРАЦИИ  
ПОВРЕЖДЕННОГО ГЕНОМА,  
А ТАКЖЕ ДЕЙСТВИЕМ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ.

ЧАСТОТА ИХ ПОСТОЯННА И НИЗКА ( $10^{-7}$  -  $10^{-1/2}$ ).

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  
ПРИБРЕСТИ 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 РЕКОМБИНАЦИИ –**  
**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**

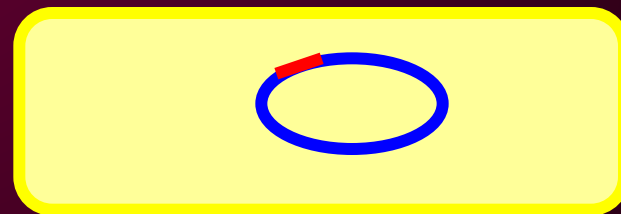
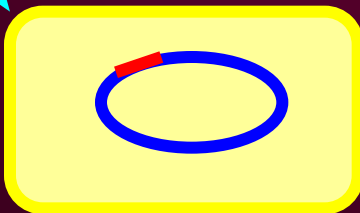
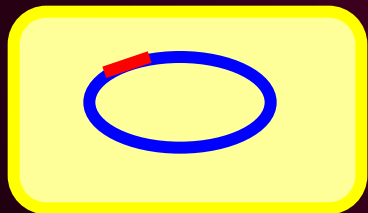
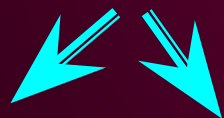
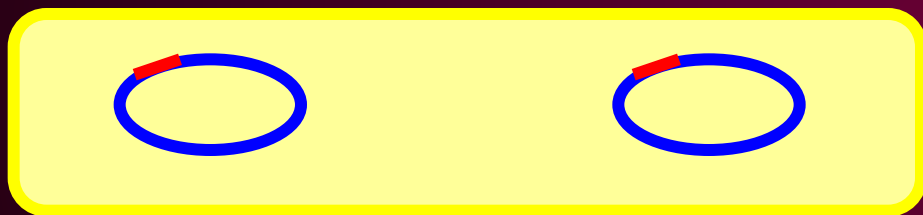
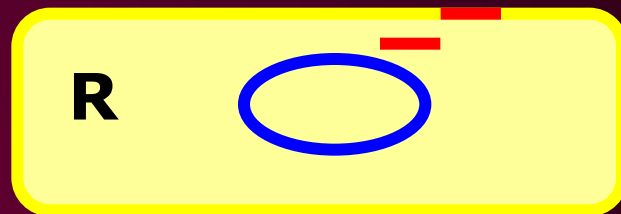
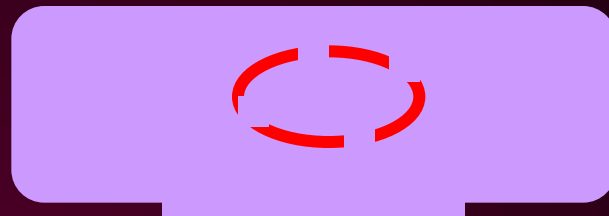
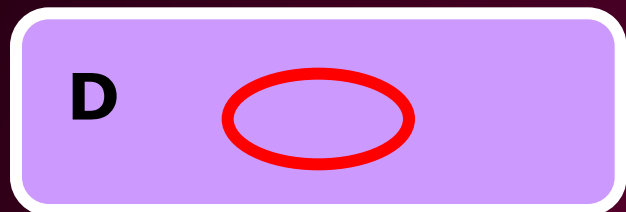
# Процесс трансформации включает несколько фаз:

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

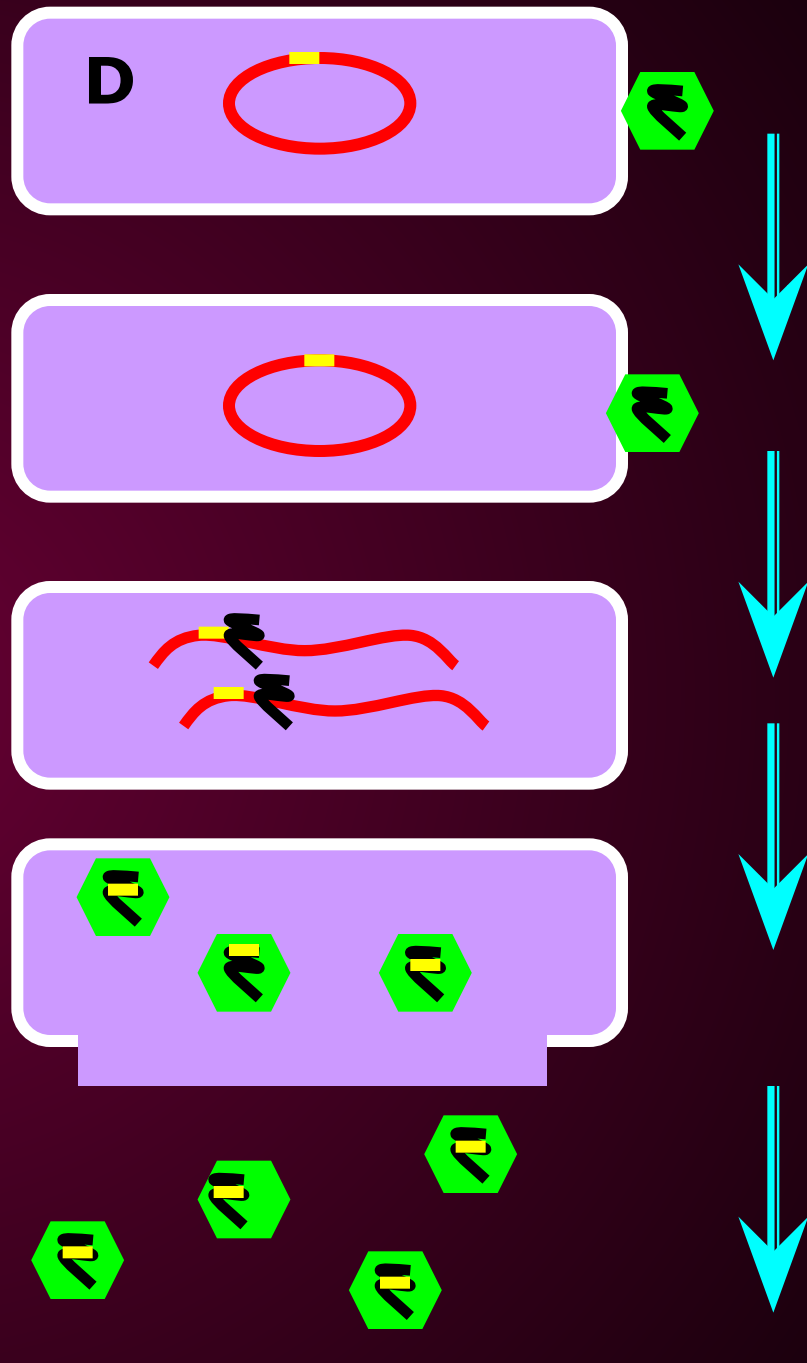
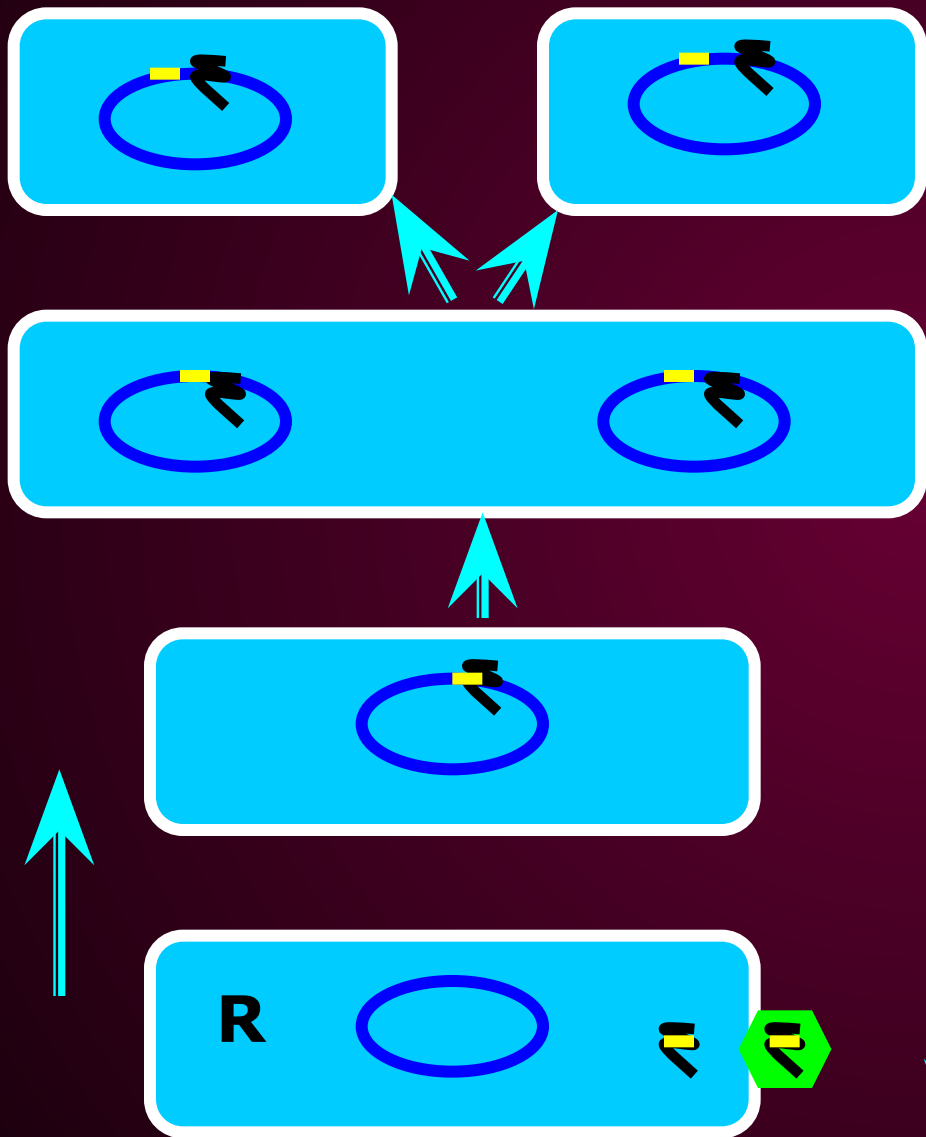




- **ТРАНСДУКЦИЕЙ НАЗЫВАЕТСЯ ПЕРЕНОС ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ИЗ ОДНОЙ КЛЕТКИ В ДРУГУЮ С ПОМОЩЬЮ БАКТЕРИОФАГОВ**
- **Этот способ генетического обмена был открыт в 1952 г. Зиндером и Ледербергом**

- **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

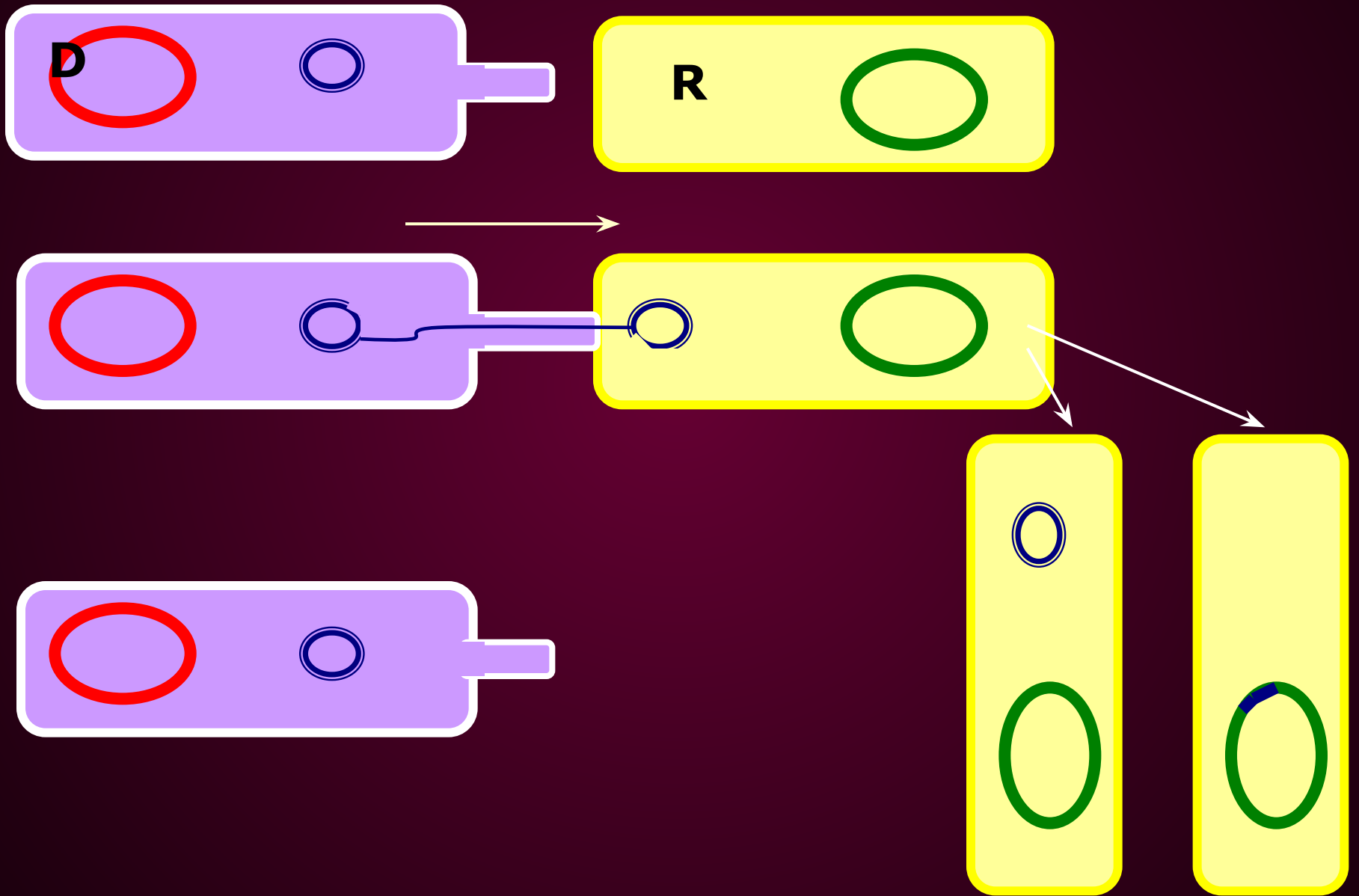


**КОНЪЮГАЦИЯ – ПРОЦЕСС ПЕРЕДАЧИ  
ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ ОДНОЙ  
КЛЕТКИ К ДРУГОЙ ПРИ ИХ  
НЕПОСРЕДСТВЕННОМ КОНТАКТЕ,  
ПРИ ЭТОМ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ  
НАПРАВЛЕННЫЙ ПЕРЕНОС  
ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ КЛЕТКИ  
ДОНОРА В КЛЕТКУ РЕЦИПИЕНТА.**

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

- ПРИБИ 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**

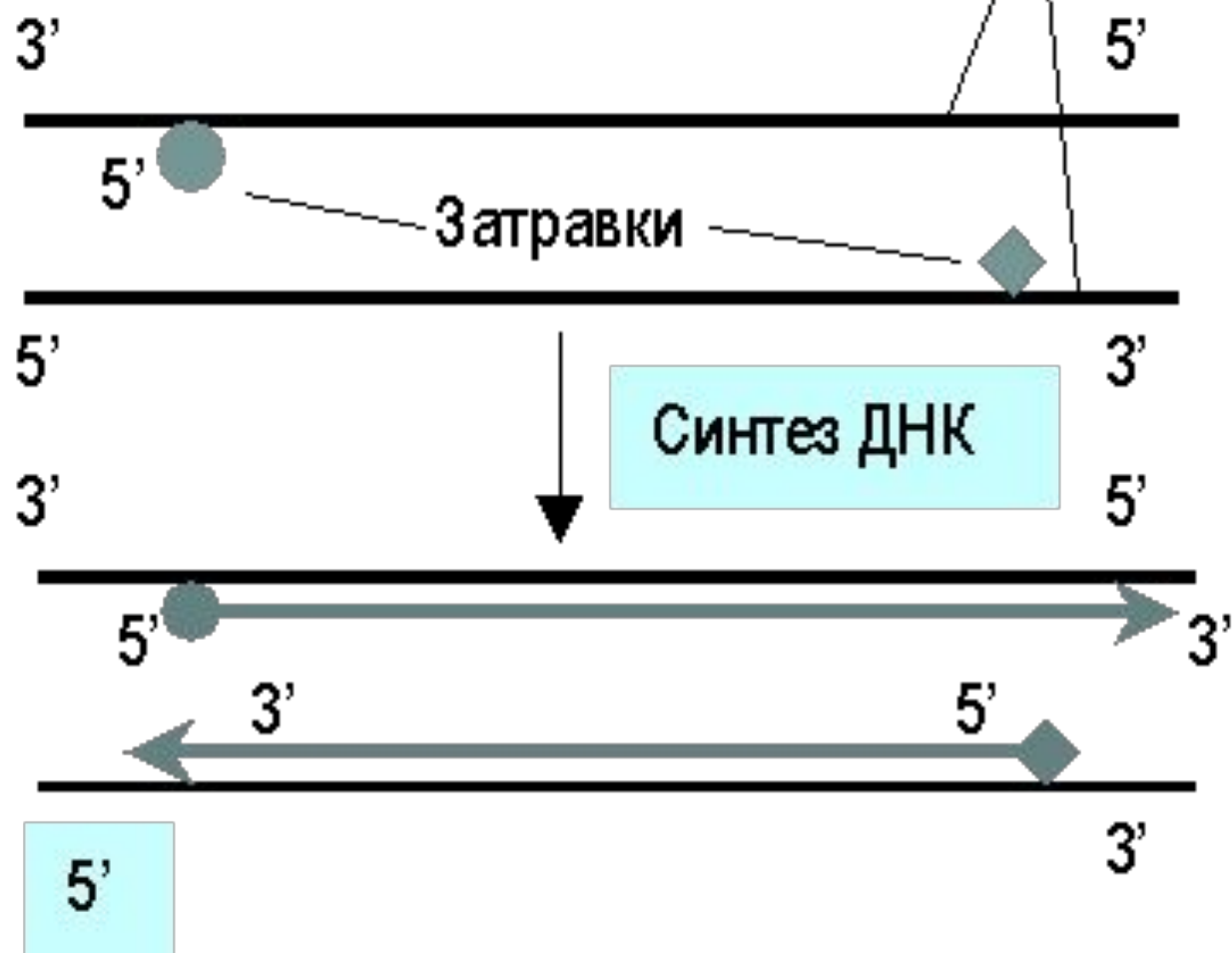
# **РЕАКЦИОННАЯ СМЕСЬ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НУЖНОЙ ДНК СОДЕРЖИТ:**

- ИССЛЕДУЕМАЯ ДНК-МАТРИЦА,**
- СУБСТРАТЫ РЕАКЦИИ-ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДТРИФОСФАТЫ (DATP, DSTP, DGTP И TTP)**
- 2 ПРАЙМЕРА - ИСКУССТВЕННО СИНТЕЗИРОВАННЫЕ КОРОТКИЕ ОДНОНИТЕВЫЕ ДНК (20-30 НУКЛЕОТИДОВ), СО СВОБОДНЫМ 3'-ОН-КОНЦОМ**
- ФЕРМЕНТ - ТЕРМОСТАБИЛЬНАЯ ТАQ-ПОЛИМЕРАЗА**
- БУФЕР - РАСТВОРЫ СОЛЕЙ, СОДЕРЖАЩИЕ ИОНЫ  $Mg^{2+}$**

## Цикл ПЦР включает 3 этапа:

- Денатурация – исходная смесь нагревается до **94°C**, при этом нити ДНК расходятся;
- Отжиг – температура реакционной смеси снижается до **52°C** 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°C**.

## Разделившиеся комплементарные цепи ДНК



разделение цепей ДНК  
и присоединение праймеров

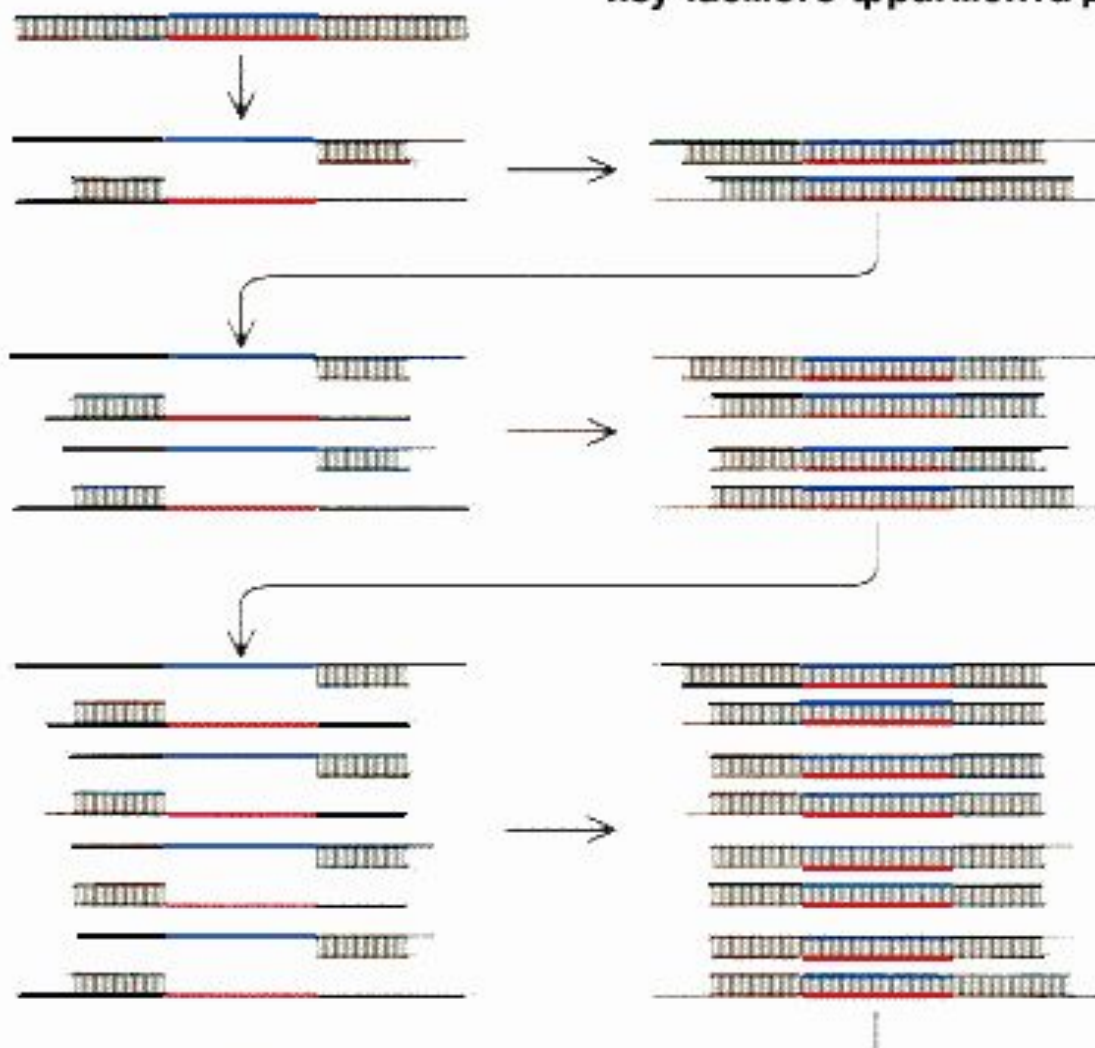
удлинение праймеров  
с образованием копий  
изучаемого фрагмента ДНК

1 цикл

2 цикл

3 цикл

до бесконечности



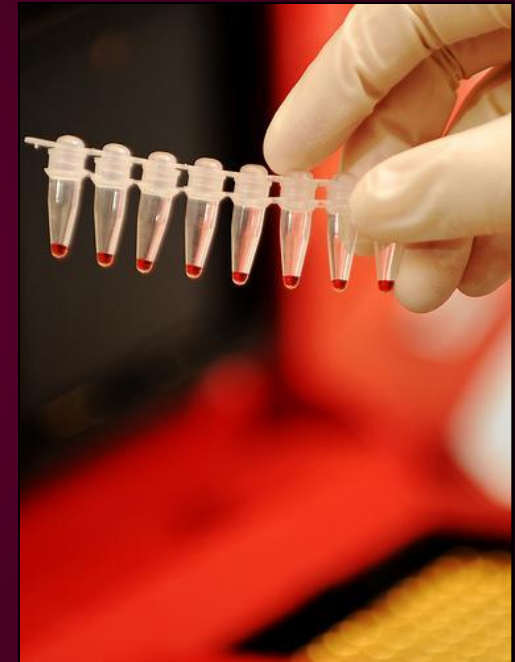
**ЭТИ ЭТАПЫ ПОВТОРЯЮТСЯ  
МНОГОКРАТНО В ПРИБОРЕ –  
АМПЛИФИКАТОРЕ (ТЕРМОЦИКЛЕРЕ), ЧТО  
ПОЗВОЛЯЕТ ПОЛУЧИТЬ ОГРОМНОЕ  
КОЛИЧЕСТВО КОПИЙ НУЖНОГО  
ФРАГМЕНТА ДНК.**

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



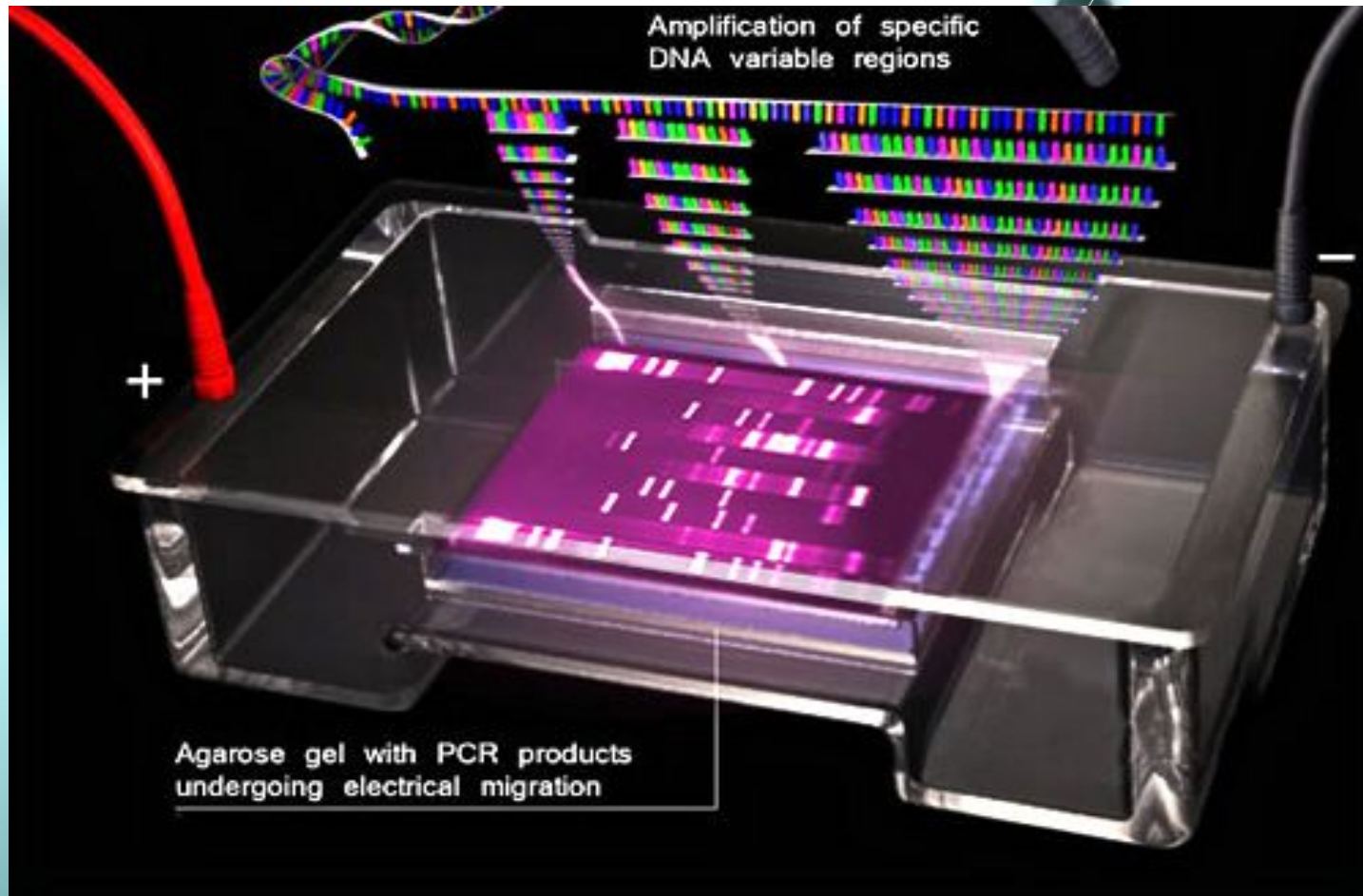


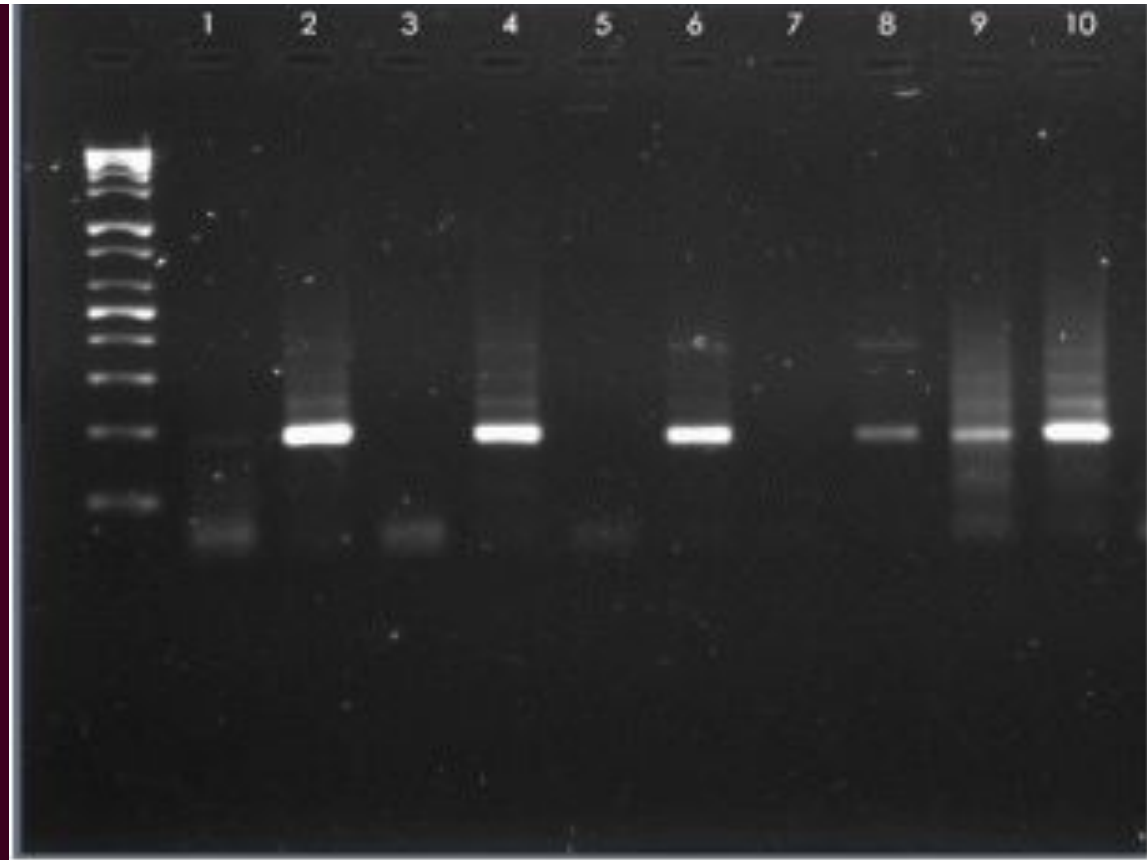
**THERMOCYCLER ДЛЯ ПОСТАНОВКИ ПЦР**



**Современный амплификатор Corbett**

# Аmplицированный фрагмент выявляют в процессе электрофореза в агарозном геле





**ПЦР-ПРОДУКТ ОБНАРУЖИВАЕТСЯ С ПОМОЩЬЮ  
ЭЛЕКТРОФЕРЕЗА В АГАРОЗНОМ ГЕЛЕ**