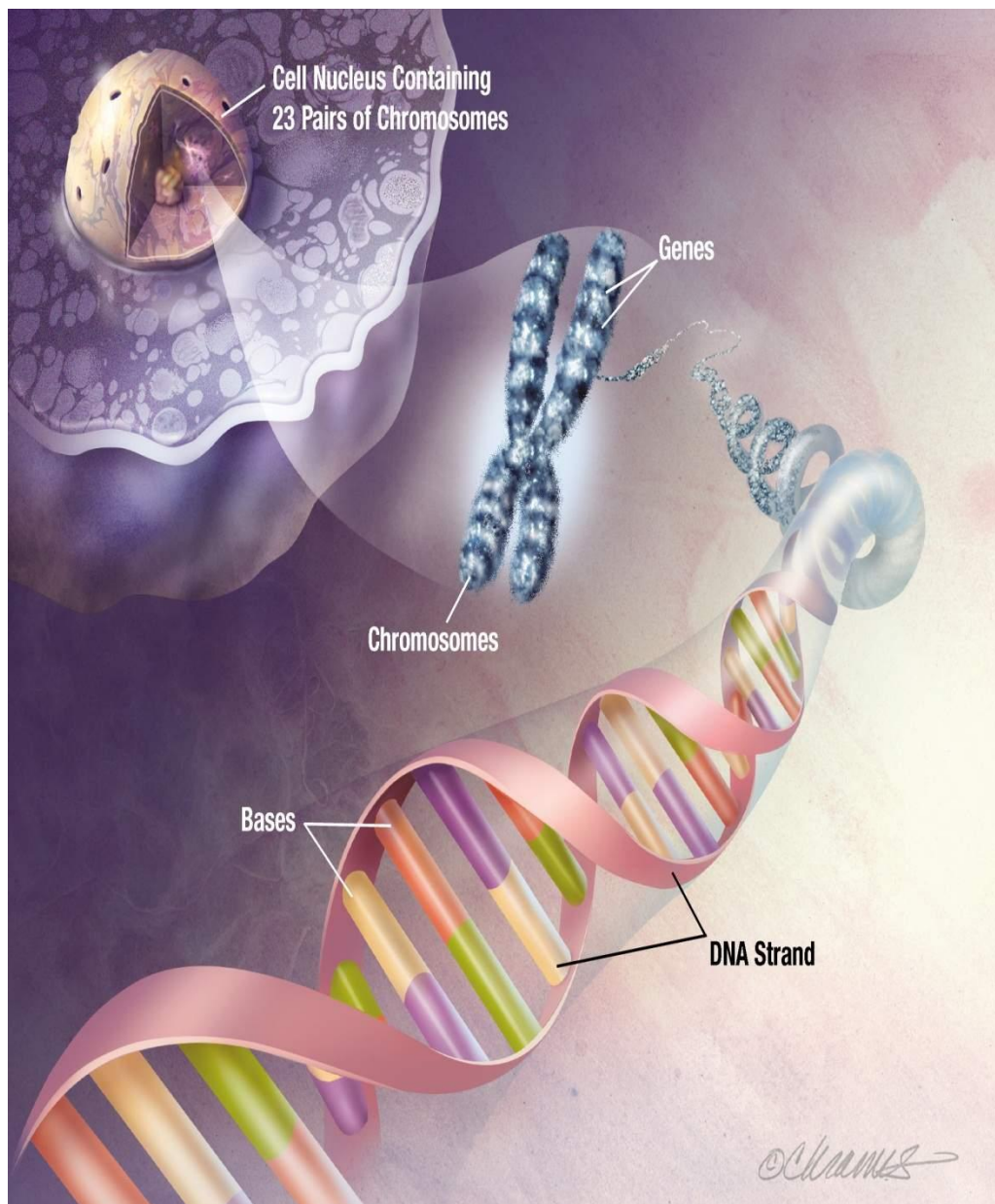


Полимеразная цепная реакция

Выполнила студентка 5 курса 13 группы
лечебного факультета Шипякова О.И.
Преподаватель асс.кафедры Фролова
Ольга Васильевна.



- **Полимеразная цепная реакция (ПЦР) —** экспериментальный метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (пробе).

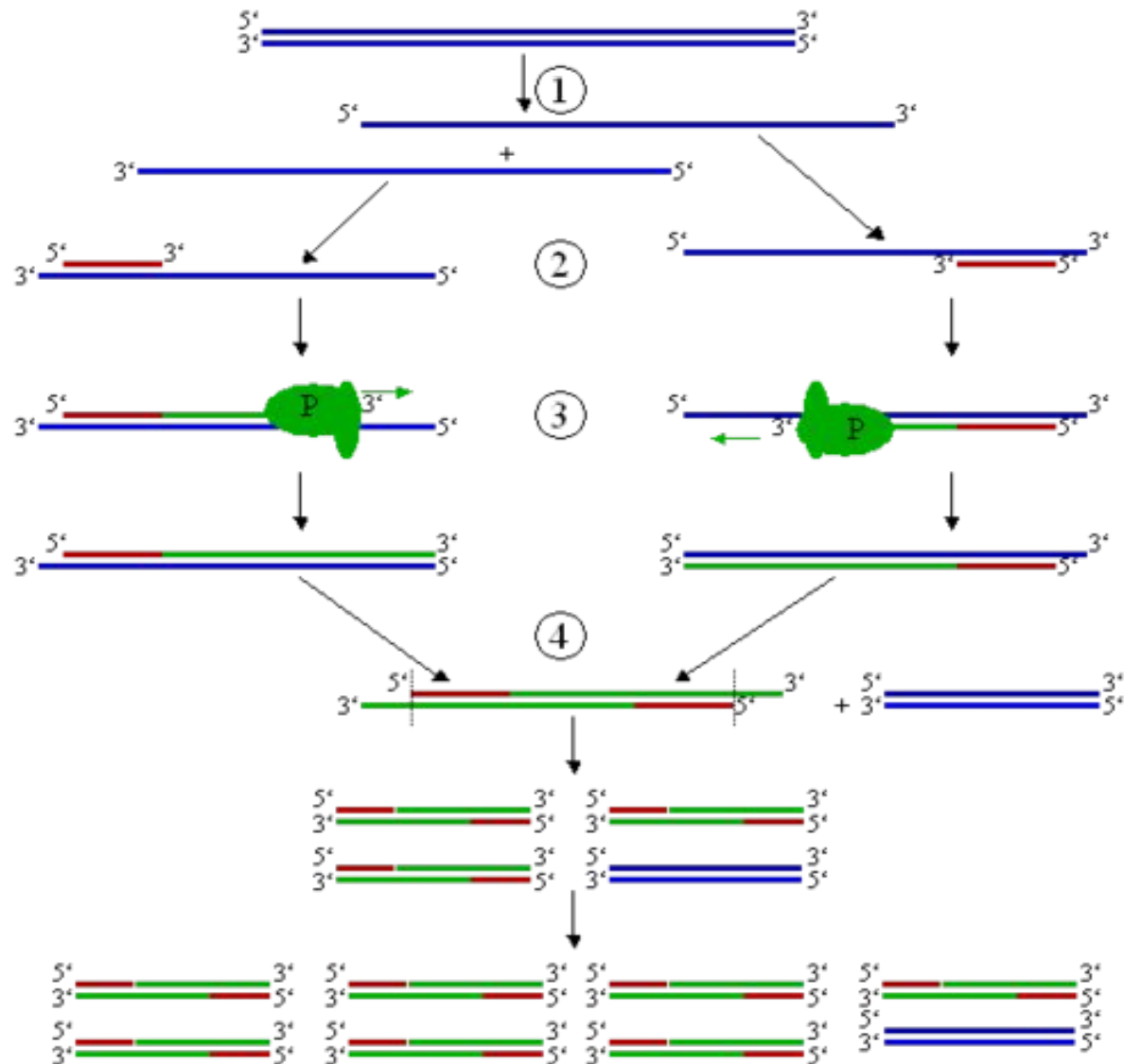
Компоненты реакции

- *ДНК-матрица*, содержащая тот участок ДНК, который требуется амплифицировать.
- Два праймера, комплементарные противоположным концам разных цепей требуемого фрагмента ДНК.
- Термостабильная ДНК-полимераза — фермент, который катализирует реакцию полимеризации ДНК. Полимераза для использования в ПЦР должна сохранять активность при высокой температуре длительное время, поэтому используют ферменты, выделенные из термофилов — *Thermus aquaticus* (Тaq-полимераза), *Pyrococcus furiosus* (Pfu-полимераза), *Pyrococcus woesei* (Pwo-полимераза) и другие.
- Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (dATP, dGTP, dCTP, dTTP).
- Ионы Mg^{2+} , необходимые для работы полимеразы.
- Буферный раствор, обеспечивающий необходимые условия реакции — pH, ионную силу раствора. Содержит соли, бычий сывороточный альбумин.

Амплификатор



Схематическое изображение первого цикла ПЦР. (1) Денатурация при 94—96 °С. (2) Отжиг при 68 °С (например). (3) Элонгация при 72 °С (P=полимераза). (4) Закончен первый цикл. Две получившиеся ДНК-цепи служат матрицей для следующего цикла, поэтому количество матричной ДНК в ходе каждого цикла удваивается.



Разновидности ПЦР

- «Вложенная» ПЦР
- «Инвертированная»
- ПЦР с обратной транскрипцией
- Асимметричная
- Количественная ПЦР
- Количественная ПЦР в реальном времени
- Touchdown
- Метод молекулярных колоний
- ПЦР с быстрой амплификацией концов кДНК
- ПЦР длинных фрагментов
- RAPD PCR со случайной амплификацией полиморфной ДНК
- с использованием горячего старта

Применение

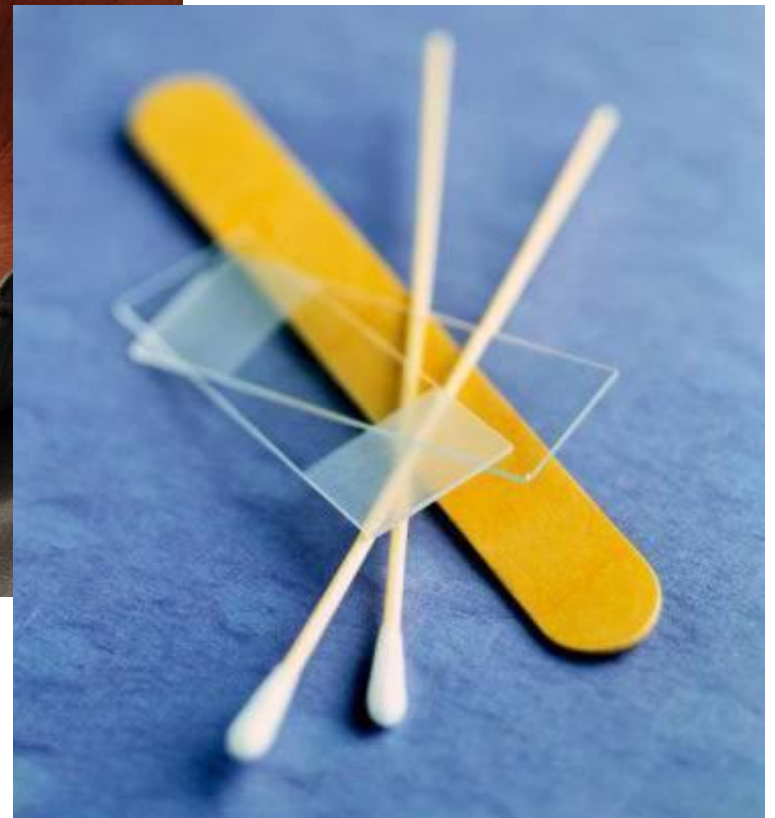


- Помимо амплификации ДНК, ПЦР позволяет производить множество других манипуляций с нуклеиновыми кислотами (введение мутаций, сращивание фрагментов ДНК) и широко используется в биологической и медицинской практике, например, для диагностики заболеваний (наследственных, инфекционных), для установления отцовства, для клонирования генов, выделения новых генов.

«ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОТПЕЧАТКИ ПАЛЬЦЕВ»



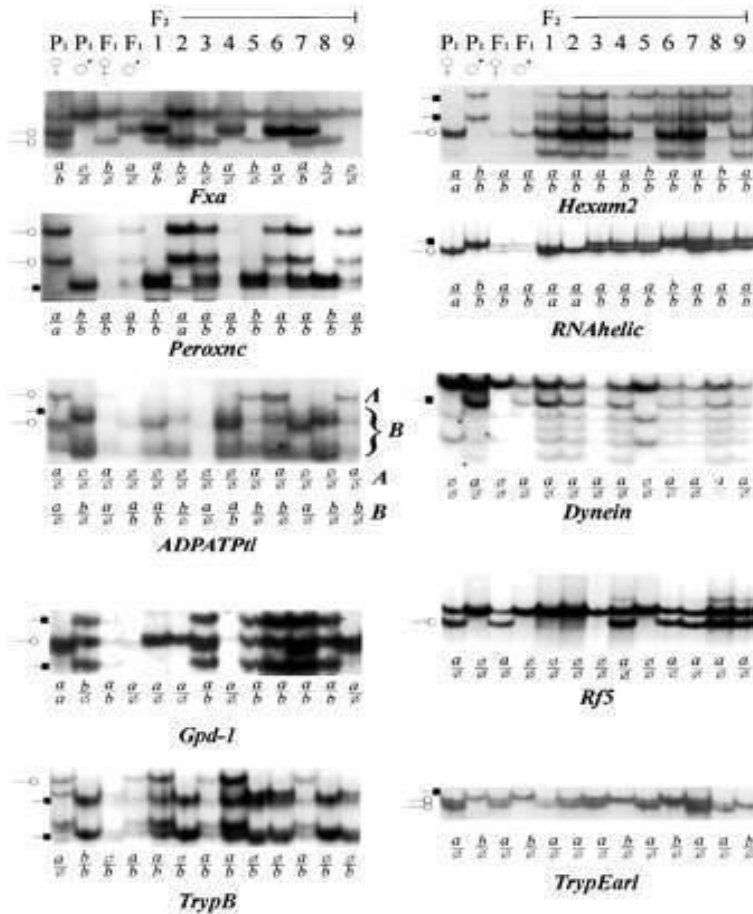
Установление отцовства



Медицинская диагностика



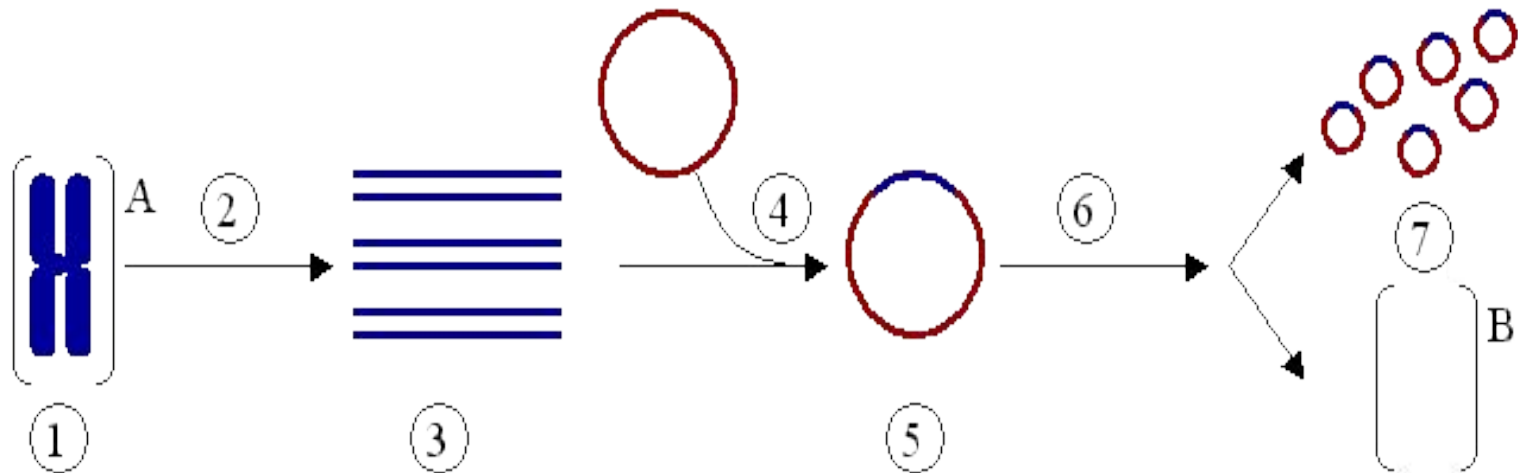
Персонализированная медицина



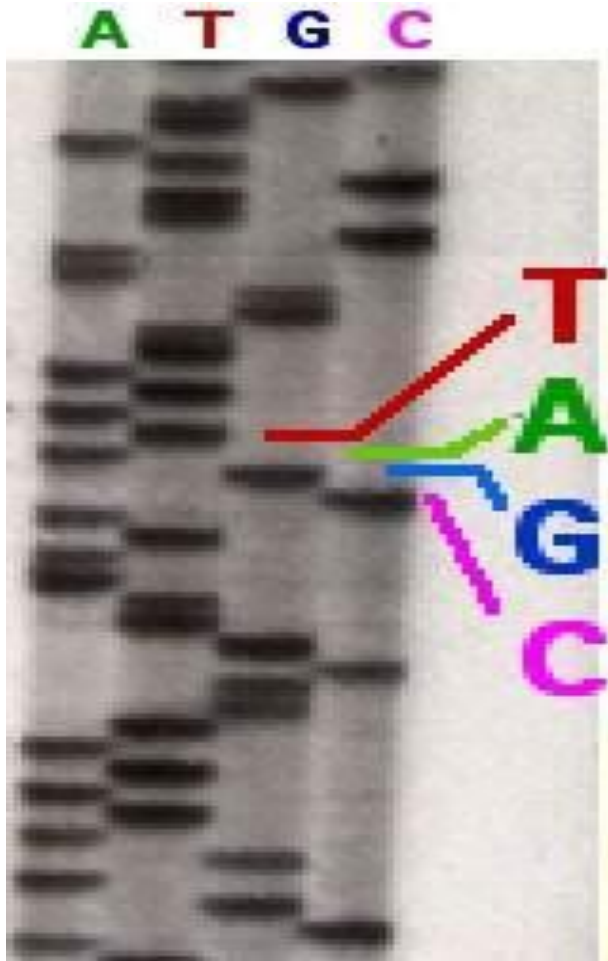
- Предварительное генотипирование

Клонирование генов

- Клонирование гена с использованием плазмиды.
(1) Хромосомная ДНК организма А. (2) ПЦР. (3) Множество копий гена организма А. (4) Вставка гена в плазмиду. (5) Плазмида с геном организма А. (6) Введение плазмиды в организм В. (7) Умножение количества копий гена организма А в организме В.

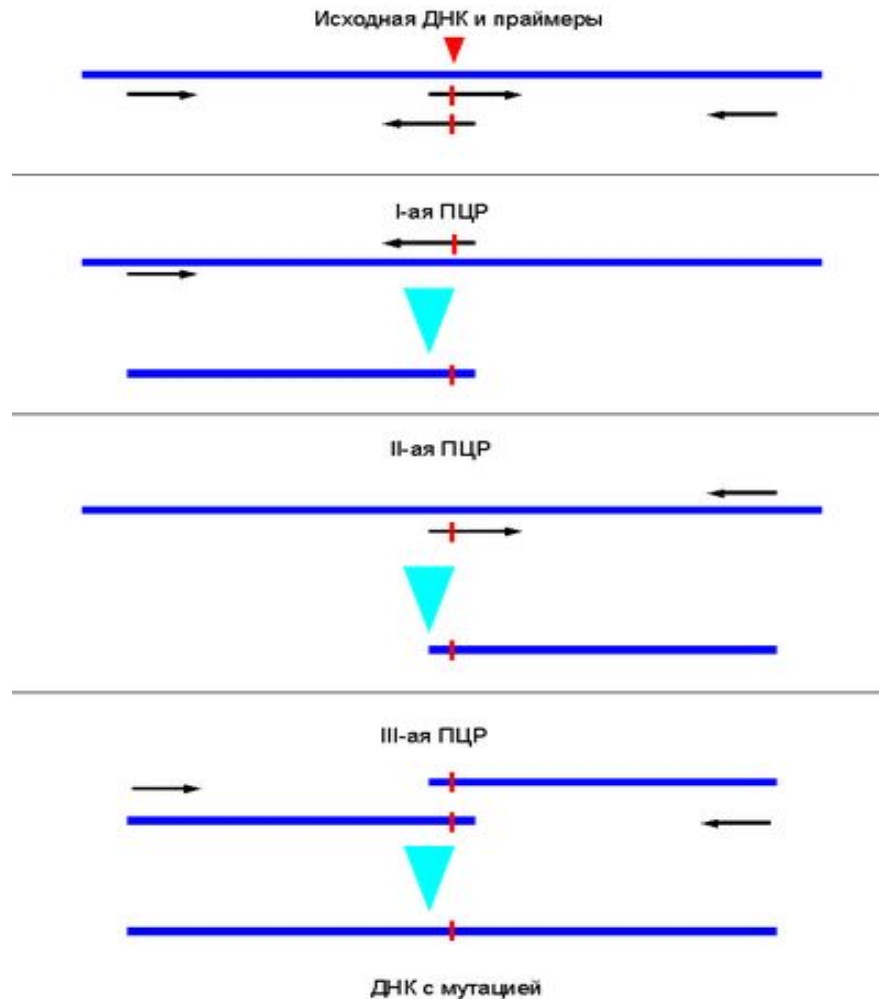


Секвенирование



- Участок геля, меченного радиоактивным ИЗОТОПОМ

Мутагенез



- Синтезируют пару праймеров, несущих мутацию, и пару праймеров, комплементарных концам нужного фрагмента ДНК. В ходе первых двух реакций образуются фрагменты ДНК с мутацией, которые объединяют в третьей реакции. Полученный фрагмент вставляют в нужную генно-инженерную конструкцию.

Список литературы

- *Глик Б., Пастернак Дж.* Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. — М.: Мир, 2002. — 589 с.
- *Патрушев Л. И.* Искусственные генетические системы. — М.: Наука, 2005.
- *Щелкунов С. Н.* Генетическая инженерия. — Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2004. —

Благодарю за внимание.