



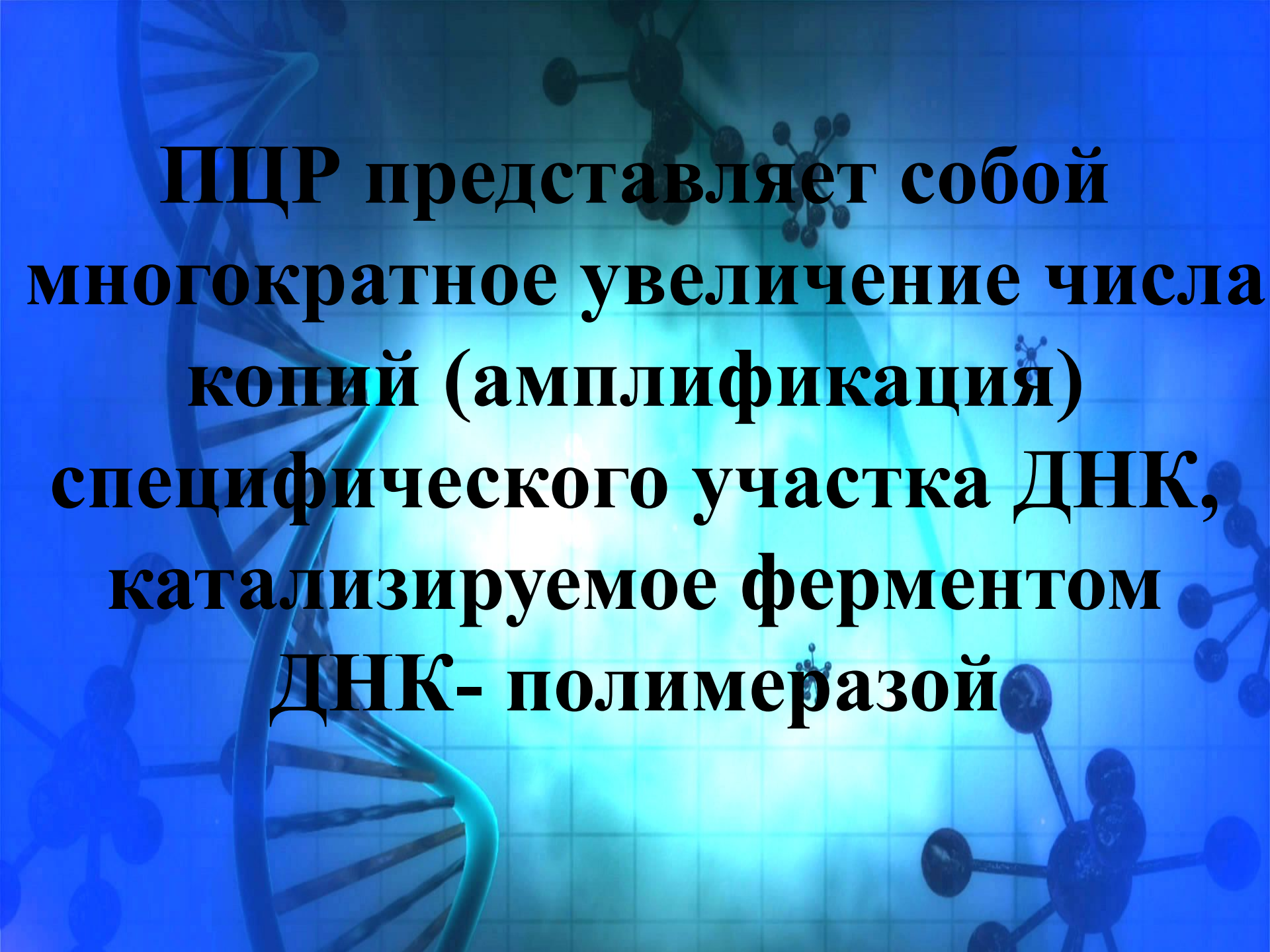
Молекулярно- генетические методы диагностики

Метод полимеразной цепной реакции

В основе метода ПЦР лежит репликация ДНК.

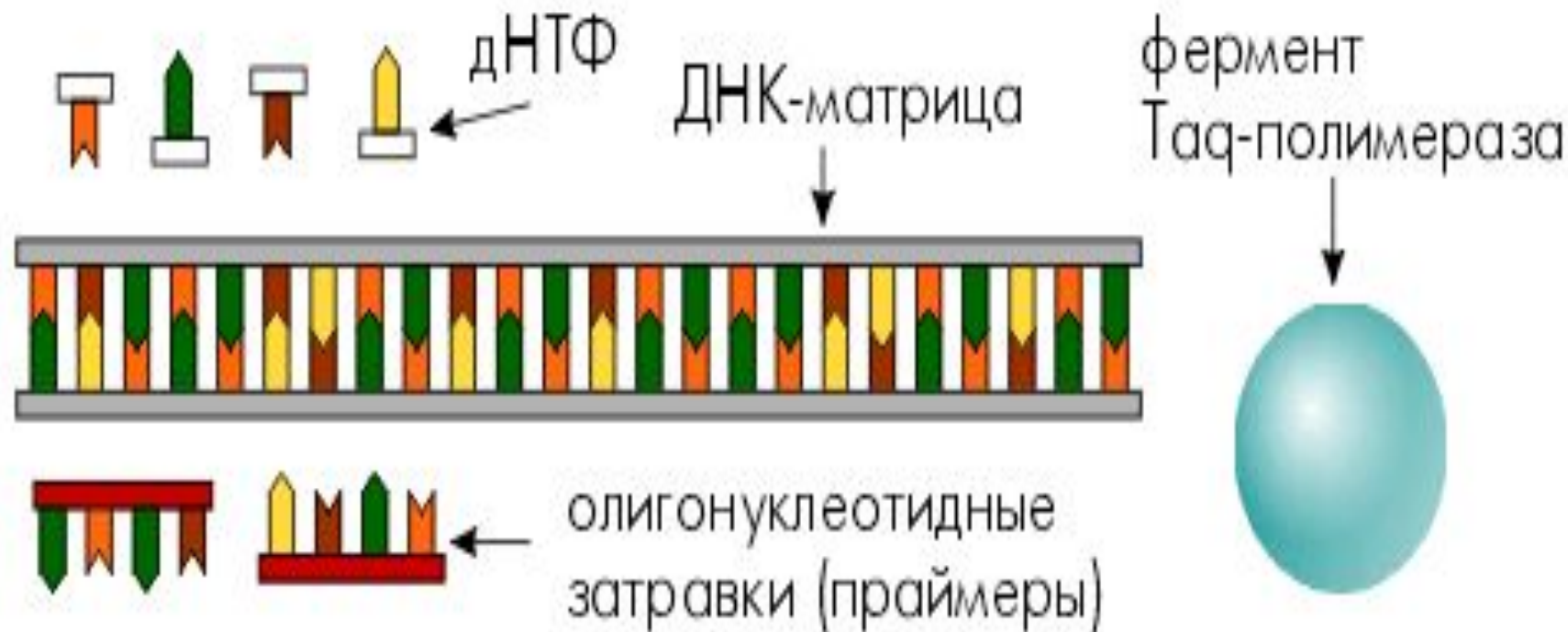
Естественная репликация ДНК включает в себя несколько стадий:

- 1) Денатурация ДНК (расплетение двойной спирали, расхождение нитей ДНК);**
- 2) Образование коротких двухцепочечных участков ДНК (затравок, необходимых для инициации синтеза ДНК);**
- 3) Синтез новой цепи ДНК (комплементарное достраивание обеих нитей).**



**ПЦР представляет собой
многократное увеличение числа
копий (амплификация)
специфического участка ДНК,
катализируемое ферментом
ДНК- полимеразой**

Для проведения амплификации необходимы следующие компоненты:



Исходные компоненты ПЦР

Каждый цикл амплификации включает 3 этапа, протекающих в различных температурных режимах:

1 этап: денатурация ДНК

2 этап: присоединение праймеров (отжиг).

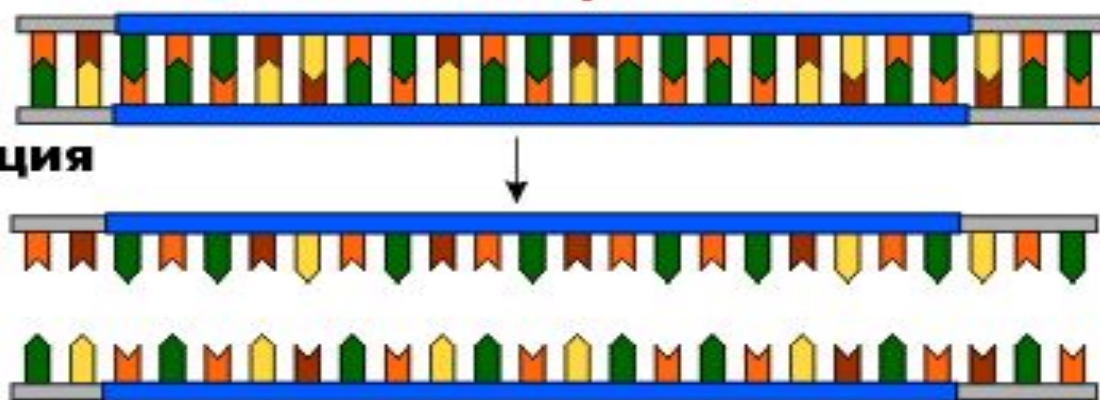
3 этап: достраивание цепей ДНК.

1-ый цикл амплификации

1-ый этап

Денатурация

93-95°C



2-ый этап

Отжиг

праймеров

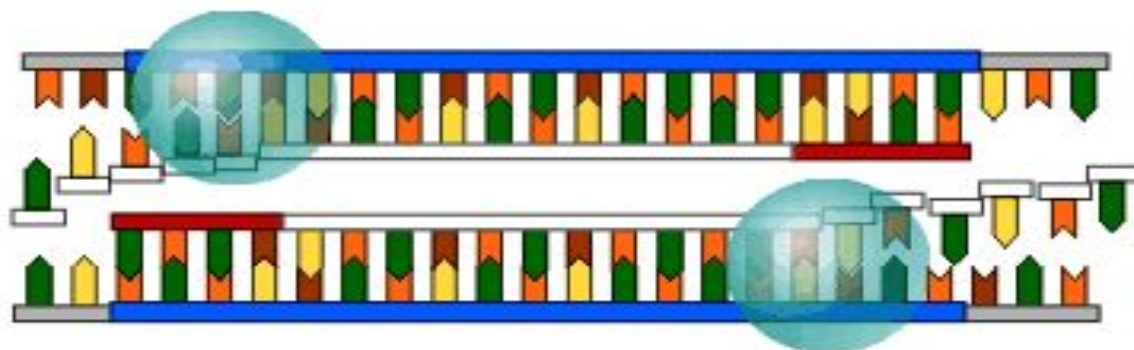
50-65°C



3-ий этап

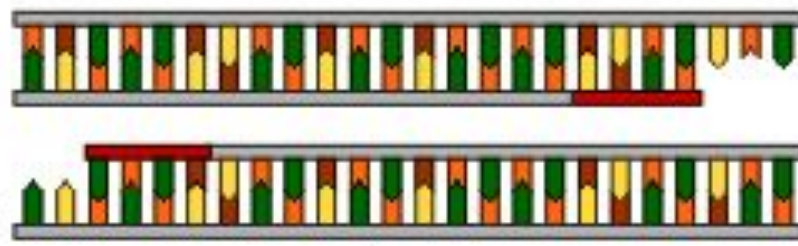
Синтез
цепи ДНК

72°C

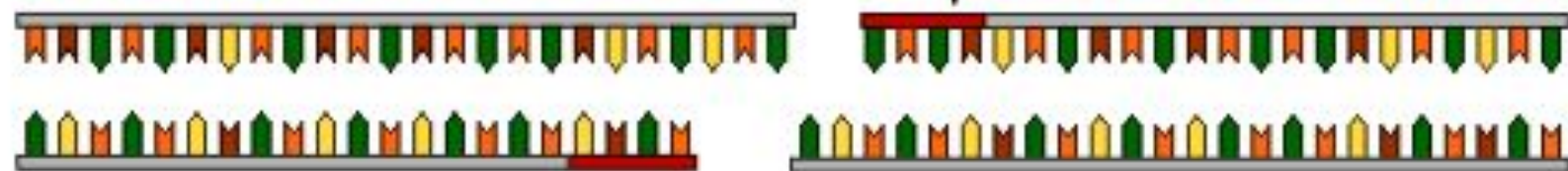


2-ой цикл амплификации

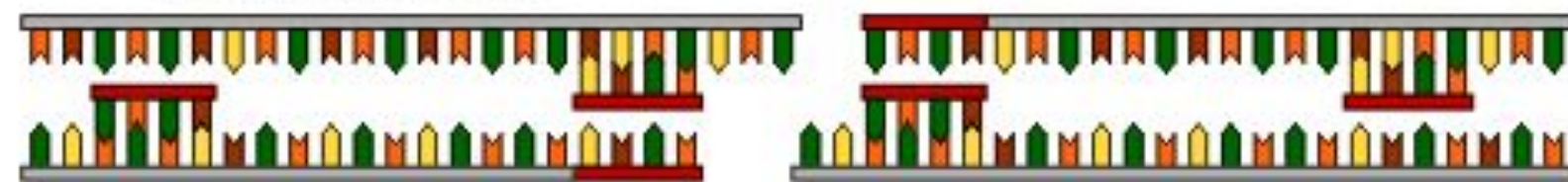
1-ый этап
Денатурация



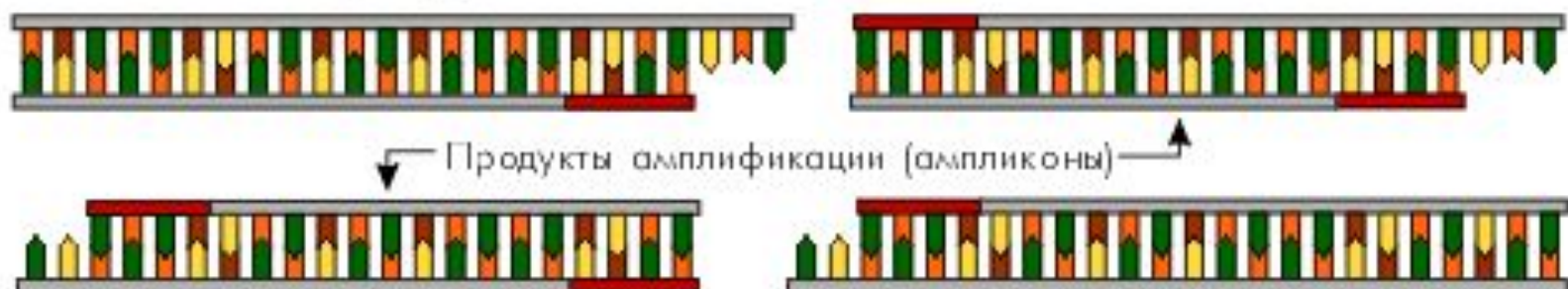
2-ый этап
Отжиг праймеров



3-ий этап
Синтез цепи ДНК



← Продукты амплификации (ампликоны) →



ПЦР протекает автоматически в программируемом термостате – термоциклере (амплификаторе).



*ПЦР – исследование включает в себя
3 стадии:*

*выделение ДНК из образцов;
проведение полимеразной цепной
реакции;
регистрация результатов (методом
электрофореза в агарозном геле и др.)*

*Необходимо территориально разделить
различные стадии проведения анализа,
размещая их в отдельных помещениях:*

- Пре-ПЦР-
помещение*
- Пост-ПЦР-помещение*



Благодарю за внимание!