

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ВОЛГОГРАДСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РЕФЕРАТ

по дисциплине «Методы и объекты  
генетического анализа»

Тема: «Генетическое расстояние.»

Студент

Преподаватель

Ржевская А.Э.

Замарин А.А.

# Полимеразная цепная реакция (ПЦР).

**Полимеразная цепная реакция (ПЦР)** — экспериментальный молекулярнобиологический метод, который основан на катализируемой ДНК-полимеразой реакции, и который позволяет амплифицировать (от английского *amplify* - многократно увеличивать, усиливать) малые концентрации определённых фрагментов ДНК в биологическом материале в миллионы раз в течение нескольких часов.



## Принцип метода.

Для проведения полимеразной цепной реакции необходимо соблюдение ряда условий:

Наличие в реакционной смеси ряда компонентов.

**1. Праймеры** - пара искусственно синтезированных олигонуклеотидов, имеющих, как правило, размер от 15 до 30 п. н., идентичные соответствующим участкам ДНК-мишени. Они играют ключевую роль в образовании продуктов реакции амплификации. Правильно подобранные праймеры обеспечивают специфичность и чувствительность тест-системы.

**2. Taq-полимераза** - термостабильный фермент, обеспечивающий достраивание 3'-конца второй цепи ДНК согласно принципу комплементарности.

**3. Смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов (дНТФ)** - дезоксиаденозинтрифосфат (дАТФ), дезоксигуанозинтрифосфат (дГТФ), дезоксицитозинтрифосфат (дЦТФ) и дезокситимидинтрифосфат (дТТФ) - "строительный материал", используемый Taq-полимеразой для синтеза второй цепи ДНК;

**3. Буфер** - смесь катионов и анионов в определенной концентрации, обеспечивающих оптимальные условия для реакции, а также стабильное значение pH;

**4. Анализируемый образец** - подготовленный к внесению в реакционную смесь препарат, который может содержать искомую ДНК, служащую мишенью для последующего многократного копирования (например, ДНК микроорганизмов). При отсутствии ДНК-мишени специфический продукт амплификации не образуется.

Этап программы	Режим амплификации		Процесс	Число циклов
	Температура, °С	Время, с		
1	94	180	Денатурация ДНК	1
2	94	30	Денатурация ДНК	40
	70	30	Отжиг праймеров	
	72	30*	Синтез ДНК	

\* Включение оптики для детекции ПЦР продуктов (в реальном времени): канал для красителей FAM и SYBR Green оптимальная длина волны источника света - 494 нм, оптимальная длина волны для детекции флуоресценции красителя - 518 нм).

Примечания - Использование амплификаторов температуры различных моделей может потребовать изменения температуры отжига праймеров на 1 °С - 2 °С.

## Основные принципы подбора праймеров.

При создании ПЦР-тест-системы одной из основных задач является правильный подбор праймеров, которые должны отвечать ряду критериев:

1. Праймеры должны быть специфичны. Если их специфичность недостаточна, то, вероятно, что в пробирке с реакционной смесью будут происходить нежелательные процессы, а именно, синтез неспецифической ДНК (коротких или длинных фрагментов).
2. Праймеры не должны образовывать димеры и петли, т.е. не должно образовываться устойчивых двойных цепей в результате отжига праймеров самих на себя или друг с другом.

## Стадии постановки ПЦР.

1. Подготовка пробы биологического материала.
2. Амплификация.
3. Оценка результатов реакции.



## Достоинства метода ПЦР.

1. Высокая чувствительность исследования
2. Специфичность анализа
3. Универсальность метода ПЦР
4. Экономия времени
5. Эффективность метода ПЦР
6. Широта исследуемого клинического материала



Области применения полимеразной цепной реакции как современного метода молекулярной биологии разнообразны. Во многом это обусловлено широтой материала, который можно анализировать (практически все, из чего можно выделить более-менее качественную ДНК может стать объектом исследования), а также подобранных праймеров. Основные области применения ПЦР:

- Клиническая медицина
- Экология
- Судебная медицина и криминалистика
- Фармакология
- Ветеринария
- Научные исследования (молекулярная биология, генетика)