

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)**

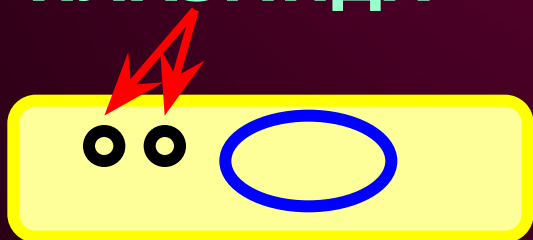
**ПЛАЗМИДЫ - ВНЕХРОМОСОМНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
СТРУКТУРЫ БАКТЕРИЙ.**

**НЕБОЛЬШИЕ МОЛЕКУЛЫ ДНК,
СПОСОБНЫЕ К АВТОНОМНОЙ РЕПЛИКАЦИИ.**

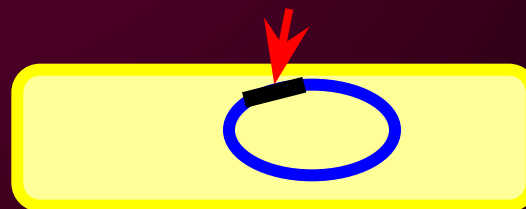
**ПЛАЗМИДЫ ЛОКАЛИЗУЮТСЯ В ЦИТОПЛАЗМЕ
БАКТЕРИИ**



**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 ПРИБРЕТЕНИЮ 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.)**

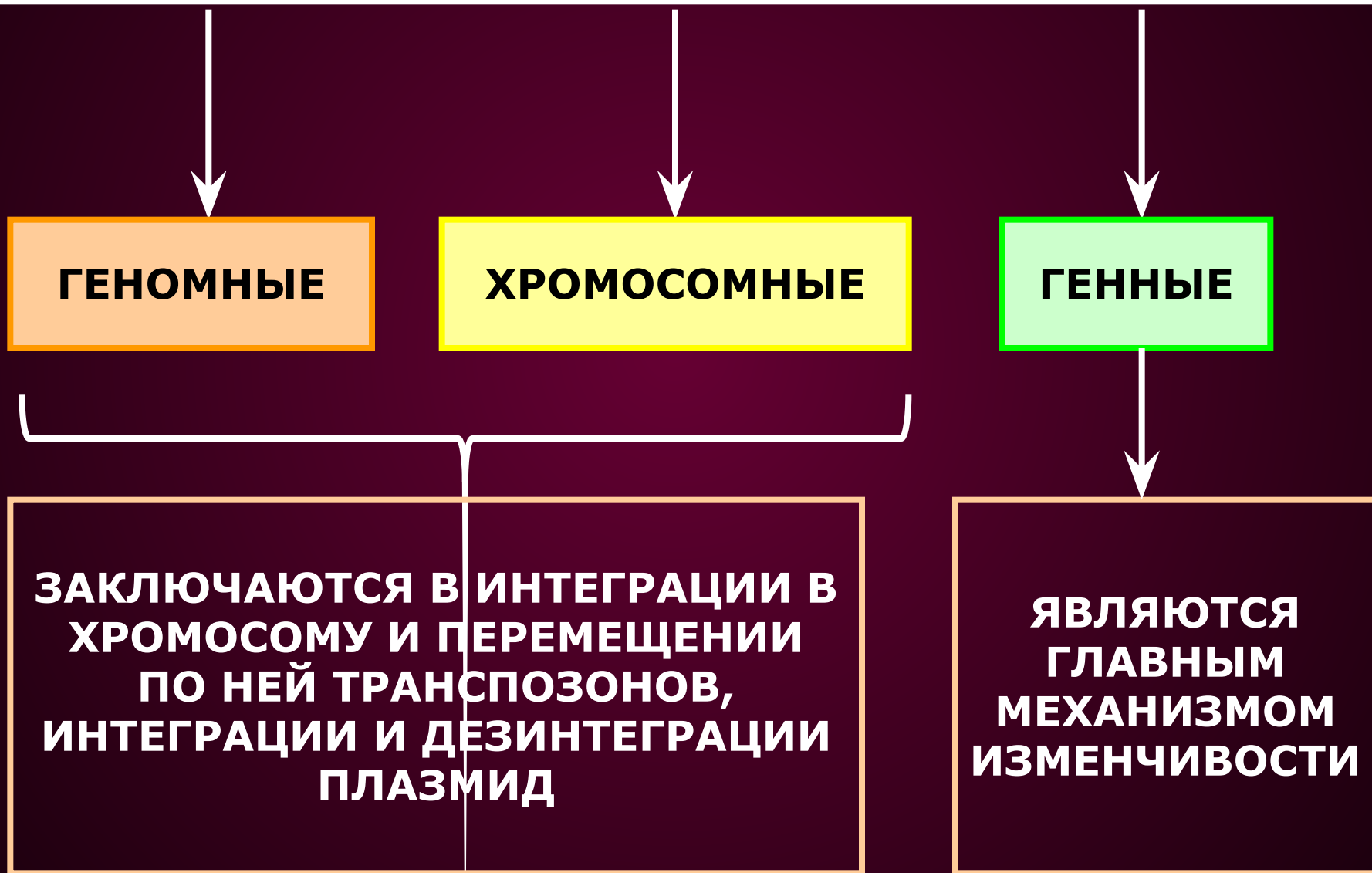
**МАЛО ИЗМЕНИЛИСЬ
В ПРОЦЕССЕ ЭВОЛЮЦИИ**

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^{-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
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**

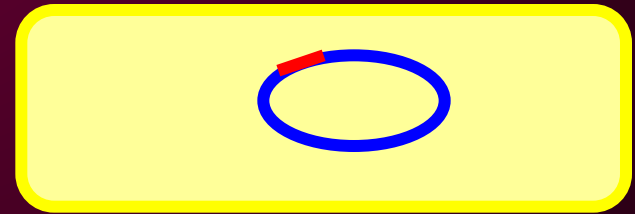
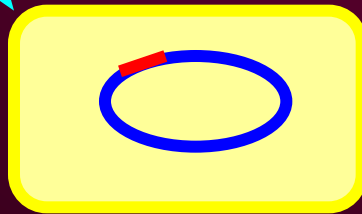
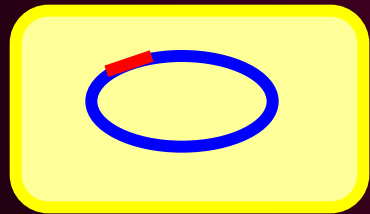
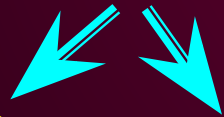
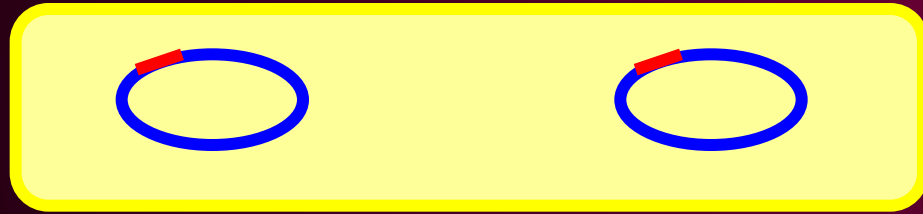
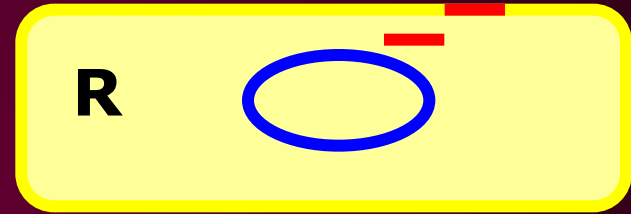
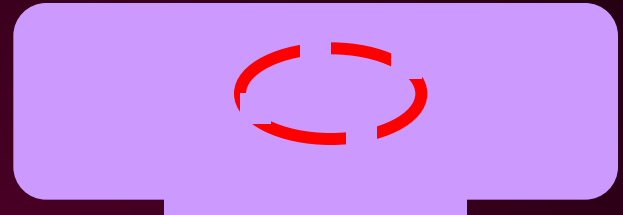
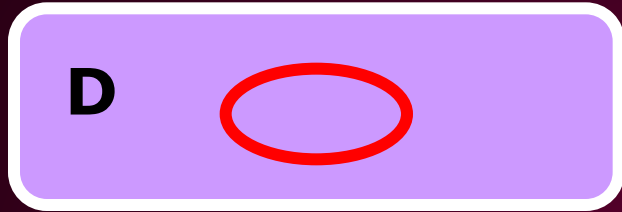


- **КЛЕТКИ, СПОСОБНЫЕ ВОСПРИНИМАТЬ ДОНОРНУЮ ДНК, НАЗЫВАЮТСЯ КОМПЕТЕНТНЫМИ**
 - **В СОСТОЯНИИ КОМПЕТЕНТНОСТИ КЛЕТОЧНАЯ СТЕНКА БАКТЕРИЙ СТАНОВИТСЯ ПРОНИЦАЕМОЙ ДЛЯ ФРАГМЕНТОВ ДНК**

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

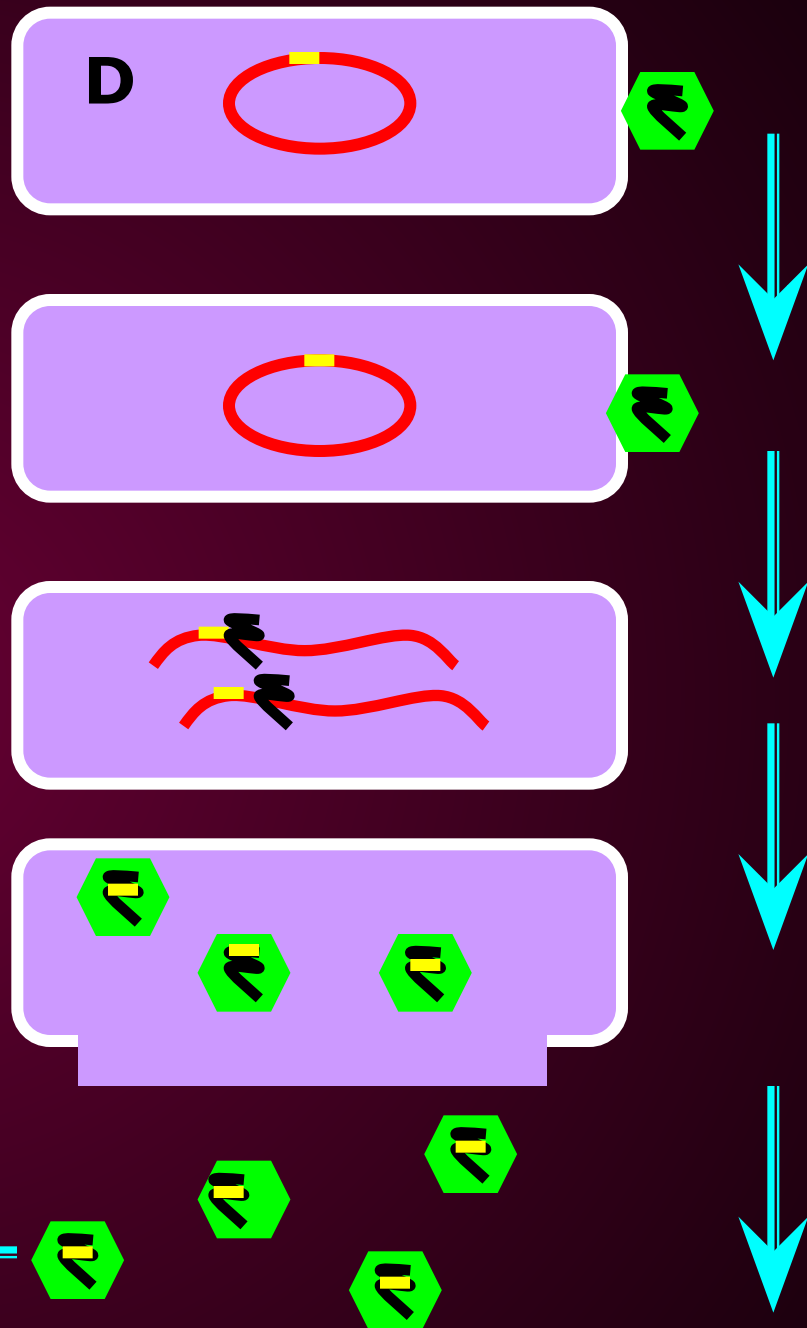
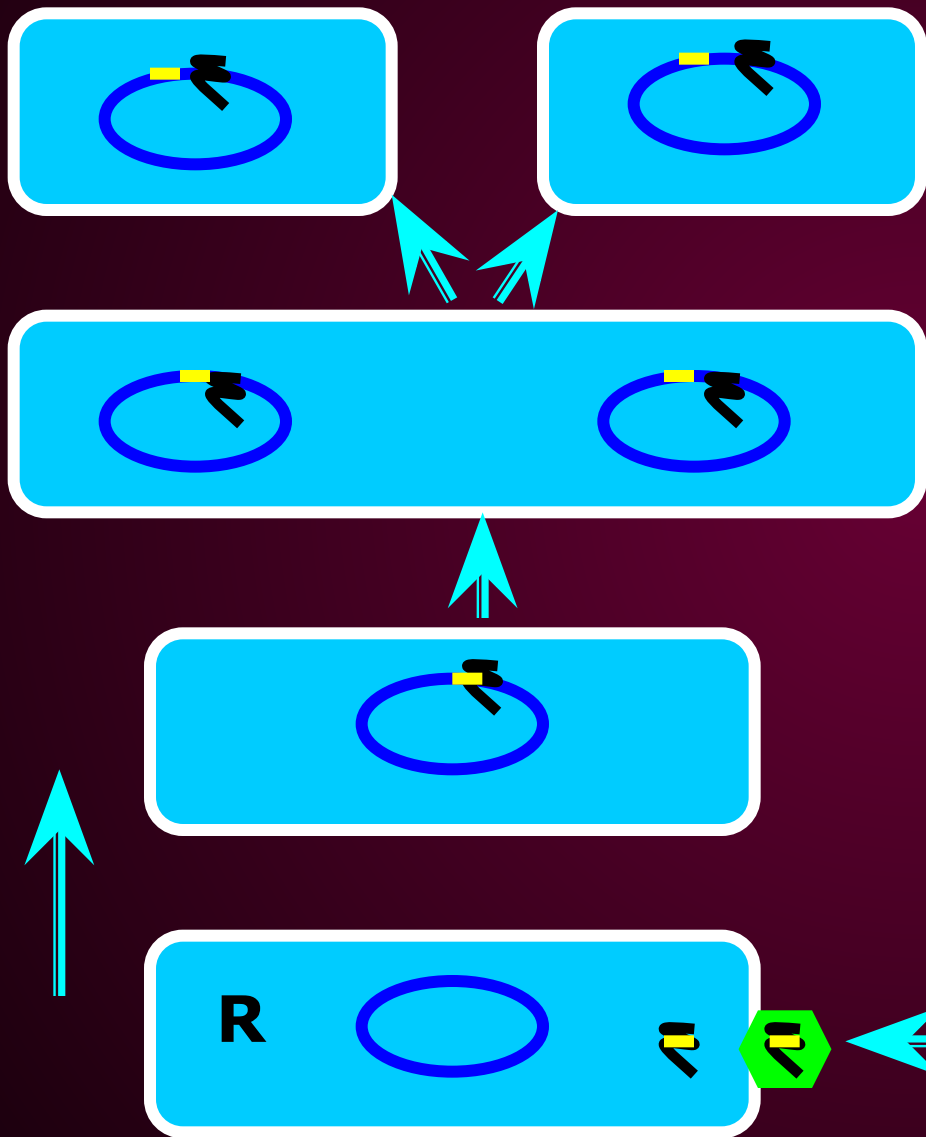
ТРАНСФОРМАЦИЯ



- **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

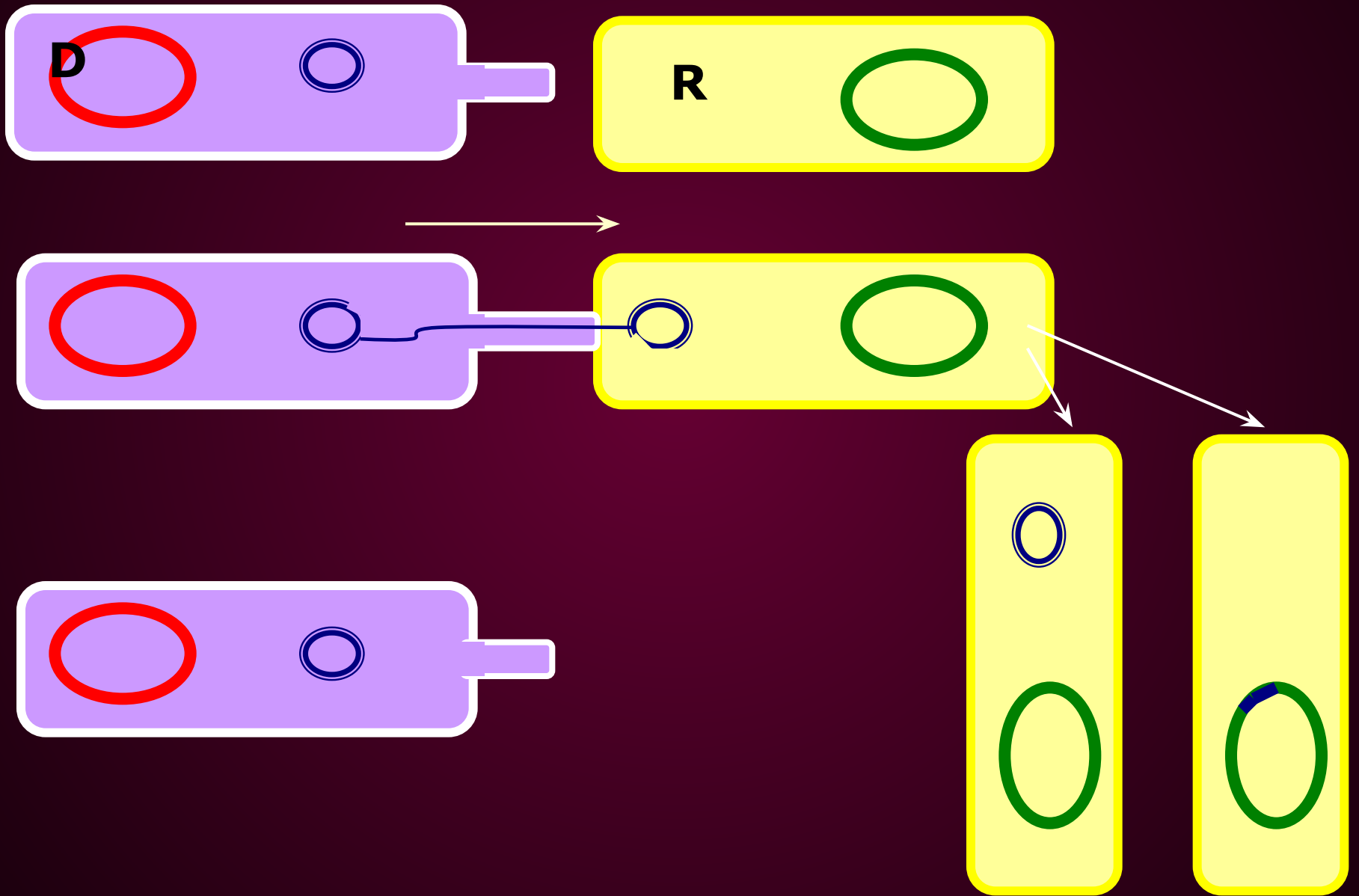


**КОНЪЮГАЦИЯ – ПРОЦЕСС ПЕРЕДАЧИ
ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ ОДНОЙ
КЛЕТКИ К ДРУГОЙ ПРИ ИХ
НЕПОСРЕДСТВЕННОМ КОНТАКТЕ,
ПРИ ЭТОМ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ
НАПРАВЛЕННЫЙ ПЕРЕНОС
ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ОТ КЛЕТКИ
ДОНОРА В КЛЕТКУ РЕЦИПИЕНТА.**

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

- **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**

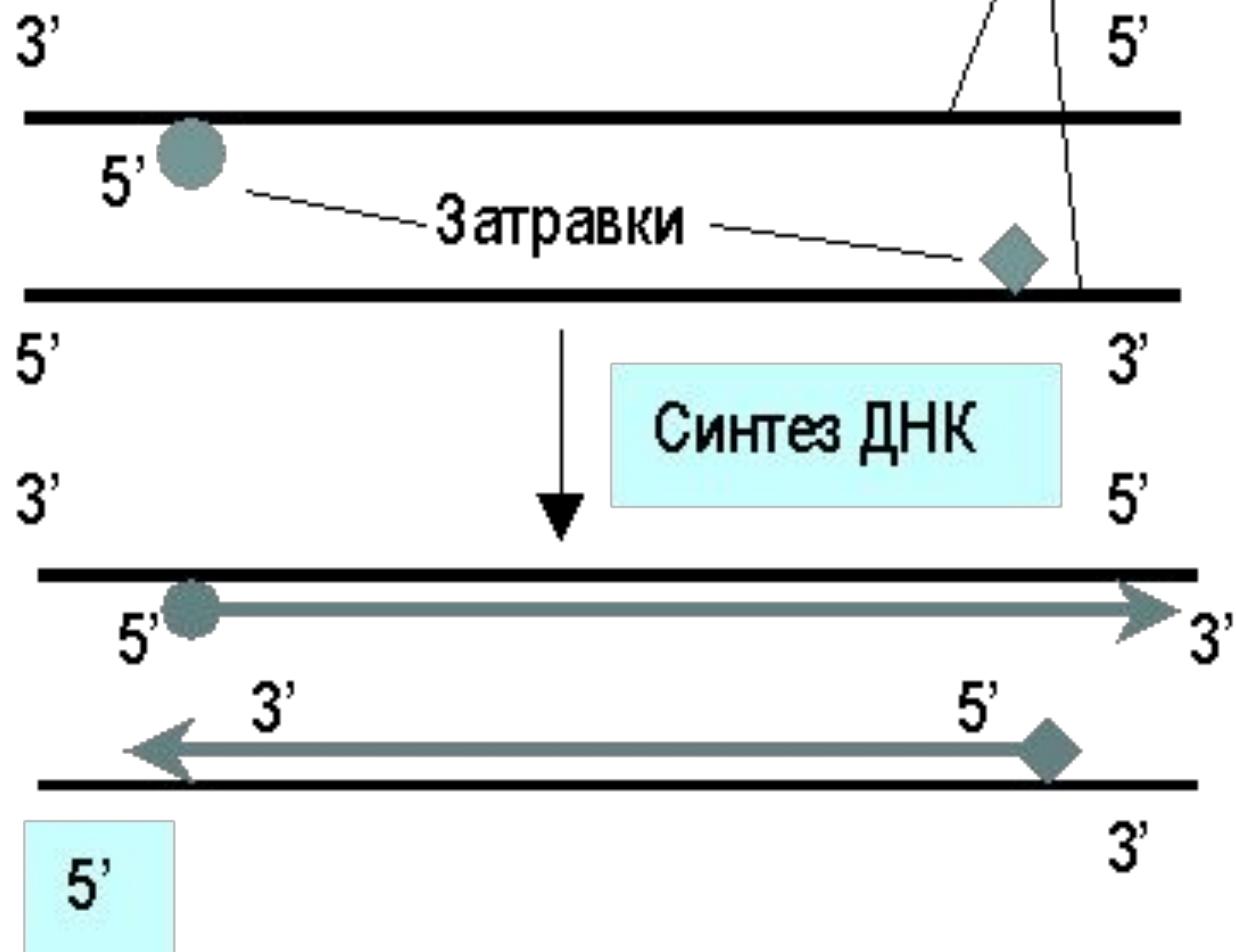
РЕАКЦИОННАЯ СМЕСЬ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НУЖНОЙ ДНК СОДЕРЖИТ:

- ИССЛЕДУЕМАЯ ДНК-МАТРИЦА,
- СУБСТРАТЫ РЕАКЦИИ-ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДТРИФОСФАТЫ (DATP, 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 Таq-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

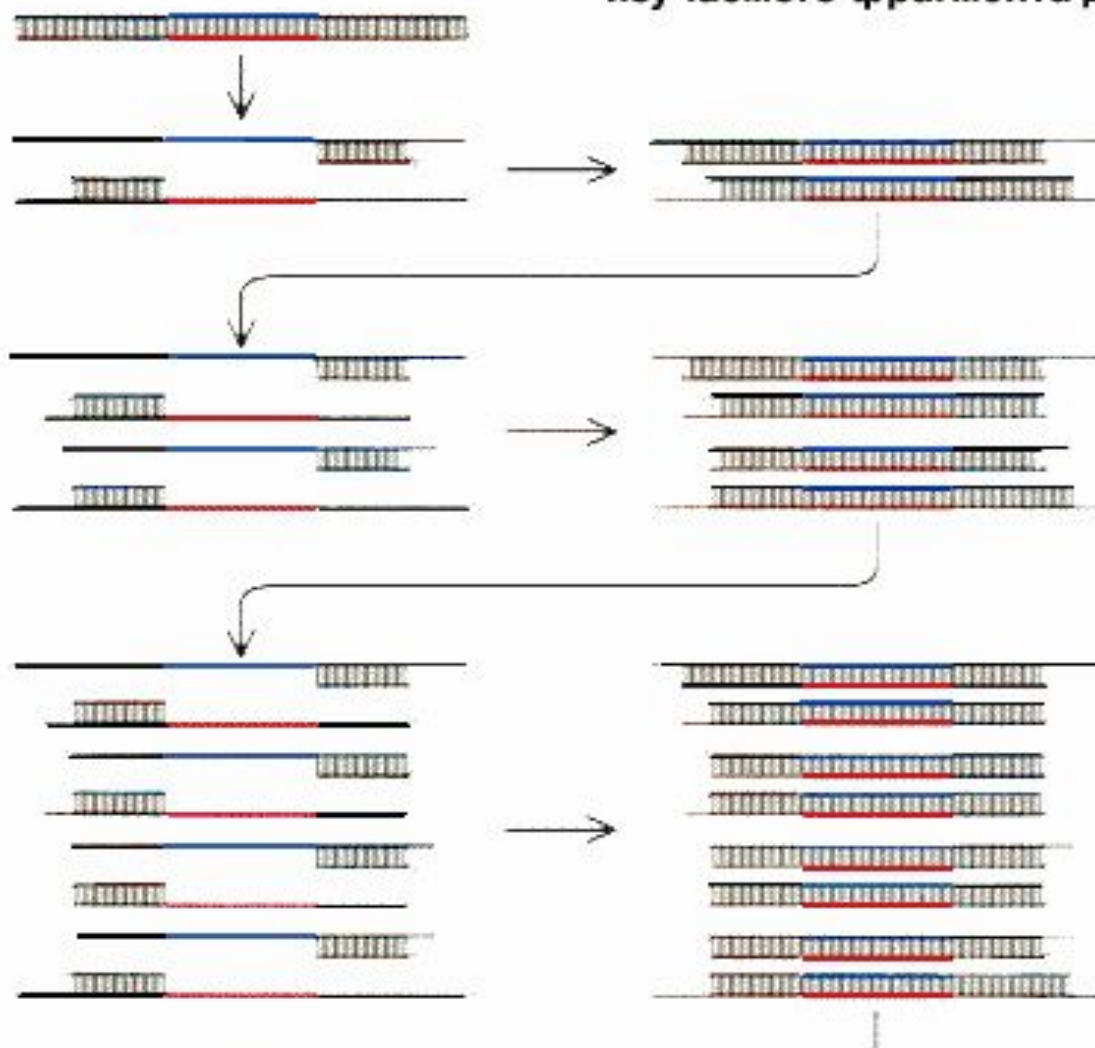
удлинение праймеров
с образованием копий
изучаемого фрагмента ДНК

1 цикл

2 цикл

3 цикл

до бесконечности

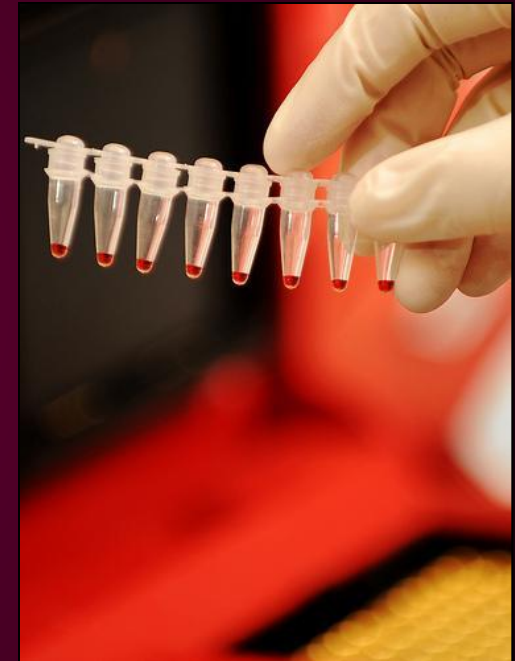


**ЭТИ ЭТАПЫ ПОВТОРЯЮТСЯ
МНОГОКРАТНО В ПРИБОРЕ –
АМПЛИФИКАТОРЕ (ТЕРМОЦИКЛЕРЕ), ЧТО
ПОЗВОЛЯЕТ ПОЛУЧИТЬ ОГРОМНОЕ
КОЛИЧЕСТВО КОПИЙ НУЖНОГО
ФРАГМЕНТА ДНК.**

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

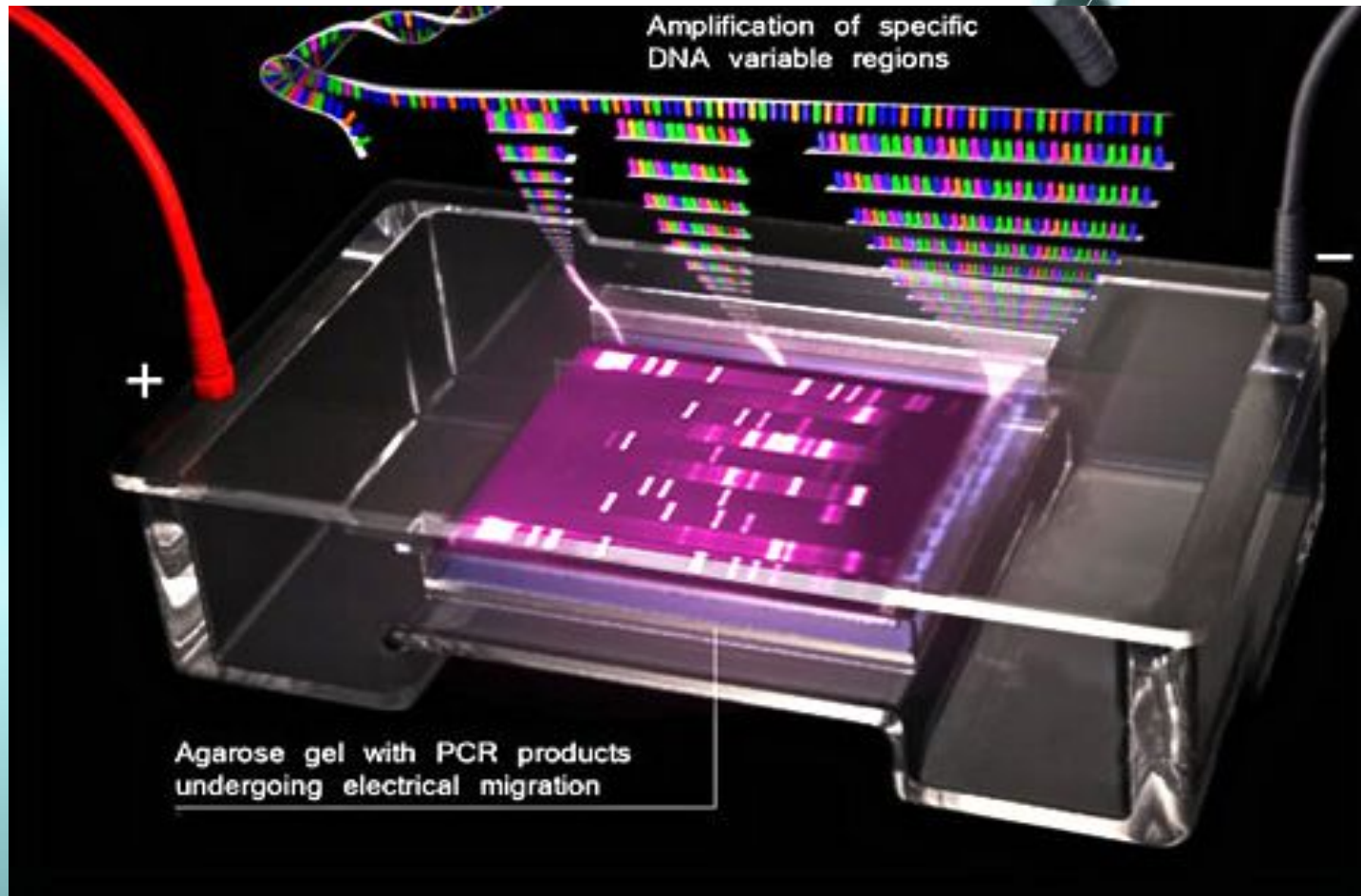


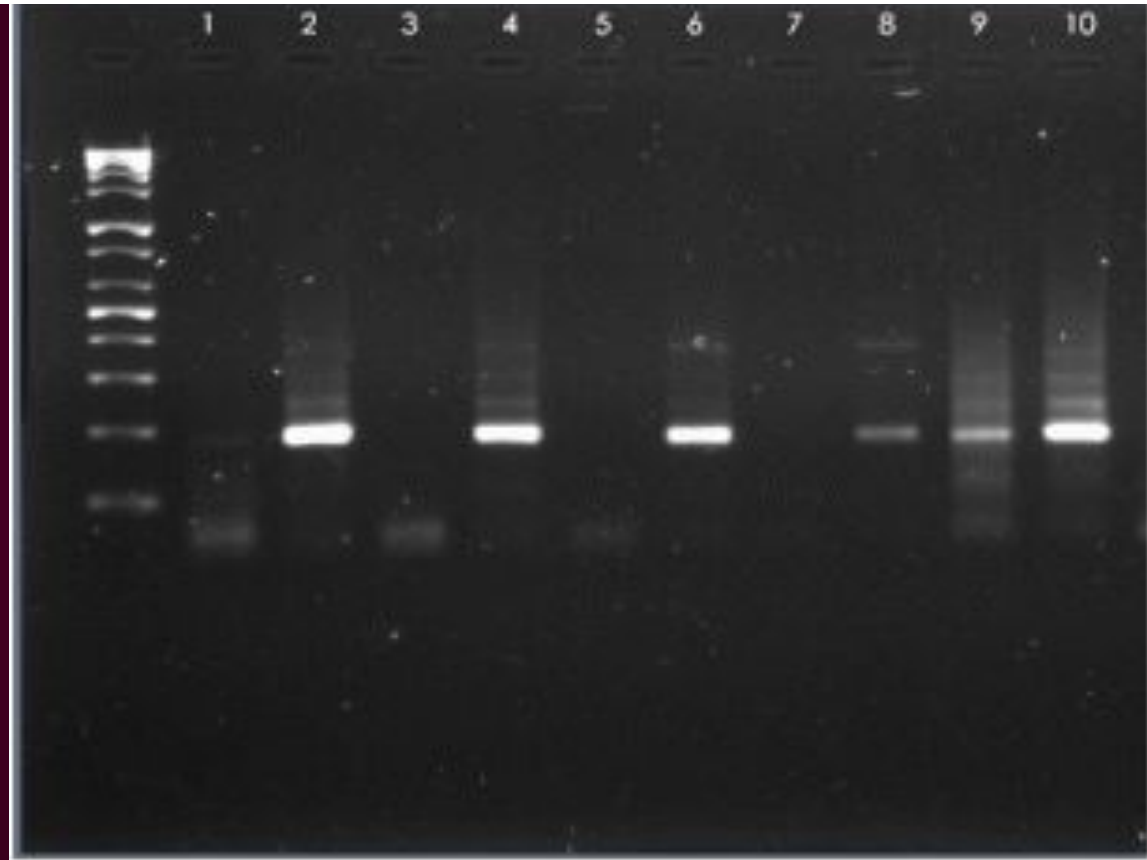
THERMOCYCLER ДЛЯ ПОСТАНОВКИ ПЦР



Современный амплификатор Corbett

Аmplицированный фрагмент выявляют в процессе электрофореза в агарозном геле





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