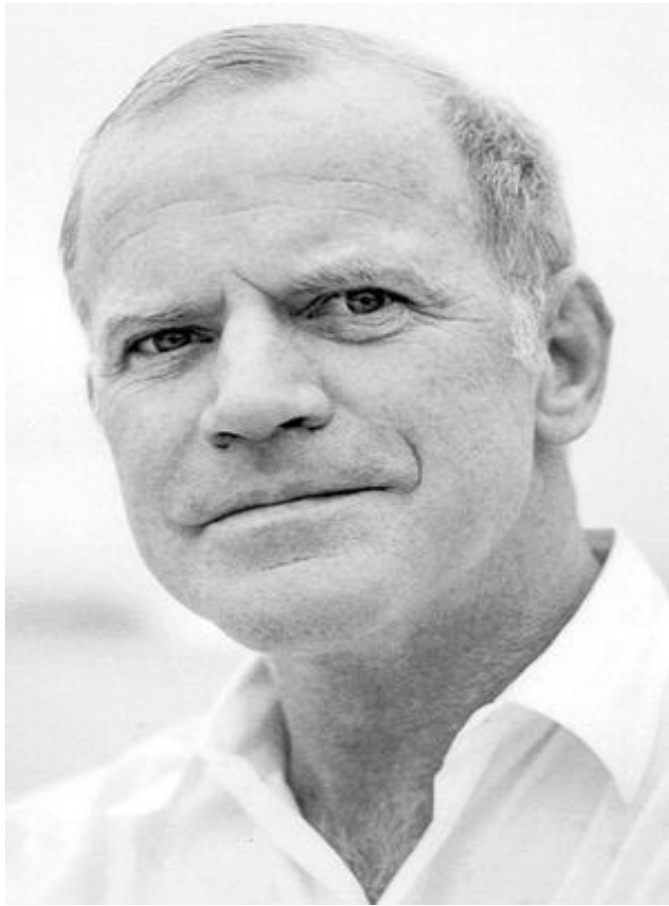


# **ПЦР- полимеразная цепная реакция**

**Молекулярно-генетический  
метод**



- В 1983 году Кэри Мюллис с сотрудниками разработал метод клонирования последовательностей ДНК *in vitro*, который получил название **полимеразной цепной реакции (ПЦР)**.

# Цель постановки

# ПЦР

## В медицине

1. Диагностика вирусных и бактериальных инфекций
2. Диагностика генетических заболеваний
3. Выявление фальсификации продуктов питания
4. Установление родства

## В ветеринарии

1. Диагностика вирусных и бактериальных инфекций домашних и сельскохозяйственных животных;
2. Проведение мониторинга ГМО в сырье и пищевых продуктах;
3. Выявление фальсификации кормов для животных ;

# Компоненты реакции

- 1. **Матрица** – выделяемый из исследуемого материала фрагмент ДНК;
- 2. **ДНК-полимераза** (Tag полимераза) – термостабильный фермент благодаря которому происходит копирование и синтез комплементарной цепи ДНК.
- 3. **Праймеры (затравки)** - отрезки одноцепочечной ДНК (олигонуклеотиды), используемые для репликации матричной цепи.
- Каждый из праймеров комплементарен одной из цепей двуцепочечной матрицы, обрамляя начало и конец копируемого участка.

- **4. Дезоксинуклетидтрифосфаты**
- **5. Буферный раствор для поддержания рН во время постановки ПЦР**

При ПЦР происходит **амплификация** (увеличение числа копий) определенных фрагментов молекул ДНК.

Аmplифицируемый участок называется ***амплификоном***.

# Виды амплификаторов-приборов для проведения реакции в автоматическом режиме



- **Метод основан на выделении фрагмента ДНК из исследуемого материала и синтезе нуклеиновых кислот путем размножения (амплификации) участков генов вирусов или бактерий, увеличивая их количество в миллионы раз при помощи термостабильного фермента ДНК-полимеразы.**



- Реакцию ставят в пробирках. После чего выявляют ДНК возбудителя в исследуемой пробе при помощи электрофореза в агаровом геле.

- Продолжительность реакции определяется числом циклов, необходимых для синтеза ДНК.



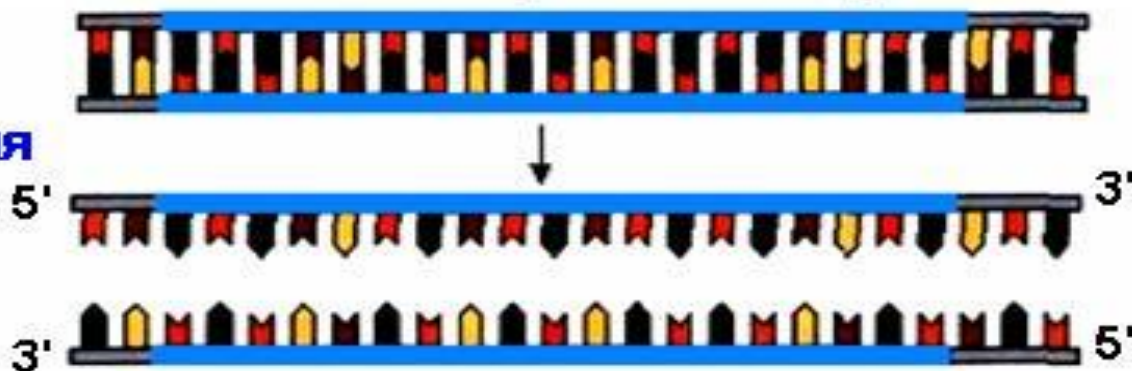
# **Каждый цикл амплификации состоит из трех этапов:**

- **1. Денатурация ДНК (расплетения спиралей)- расхождение цепей ДНК при нагревании**
- **2. Присоединение праймеров (20 нуклеиновых пар);**
- **3. Дистраивание цепей ДНК;**

# РЕЖИМЫ АМПЛИФИКАЦИИ ПЦР

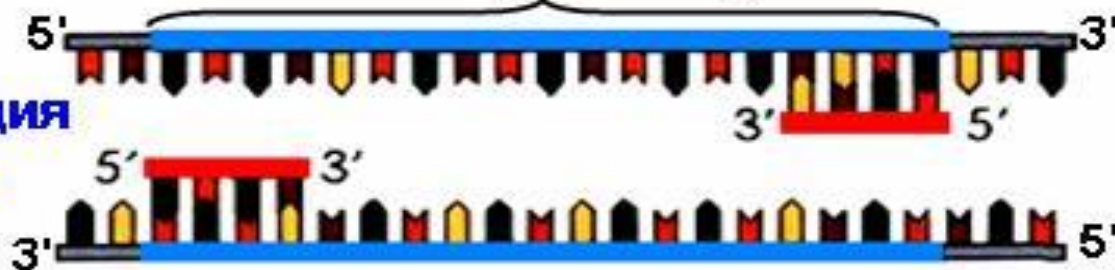
## 1-й цикл ПЦР

1 этап  
Денатурация  
93-95 °C

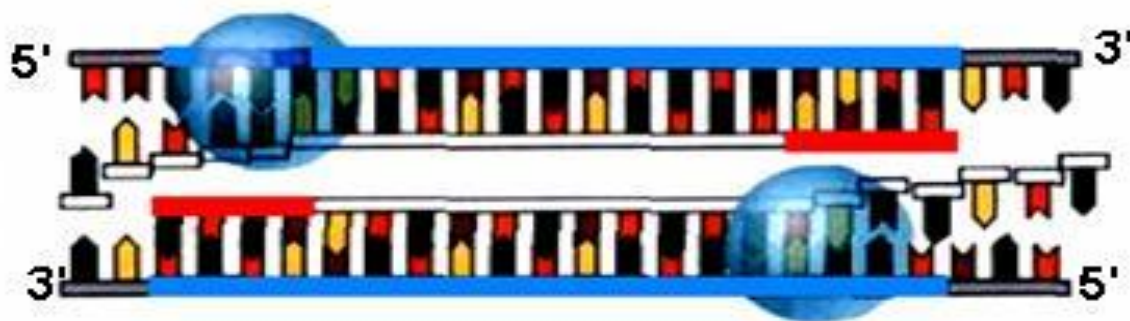


Искомый фрагмент ДНК

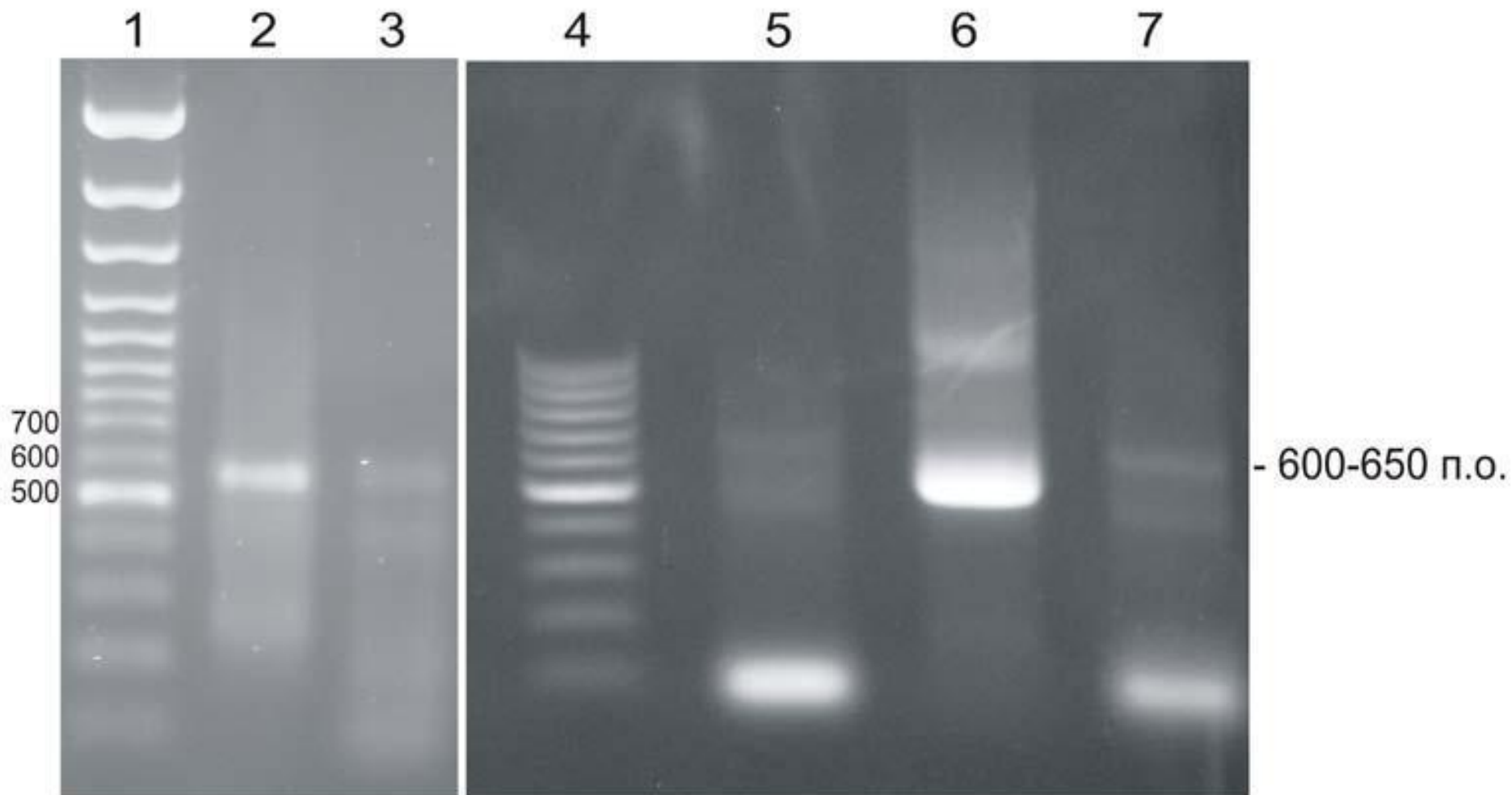
2 этап  
Гибридизация  
праймеров  
50-65 °C



3 этап  
Синтез  
цепи ДНК  
72 °C



**Для обычной PCR накопленные продукты  
амплификации выявляют путем электрофореза в  
геле.**



- Если в исследуемом материале содержится РНК-содержащий вирус, тогда на его молекуле синтезируют комплементарную цепь ДНК при помощи специфических праймеров (РНК-зависимой ДНК полимеразы).

# Пример обустройства рабочего места для смешивания ПЦР-смеси:



# Преимущества ПЦР:

- **1. Быстрота анализа.** Все манипуляции осуществляют за 1-2 рабочих дня при параллельном исследовании 10-12 проб.
- **2. Высокая чувствительность.**
- **3. Специфичность.**
- **4. Для ПЦР пригоден любой материал и даже гистопрепараты.**

# Недостатки ПЦР

- **Выявленная молекула ДНК может принадлежать вакцинному штамму вируса или бактерии.**
- **Амплификация не только живого, но и погибшего микроорганизма;**
- **Различия при использовании разных тест-систем;**



- **БЛАГОДАРЮ  
ЗА  
ВНИМАНИЕ**

