

НУКЛЕОТИДЫ И НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

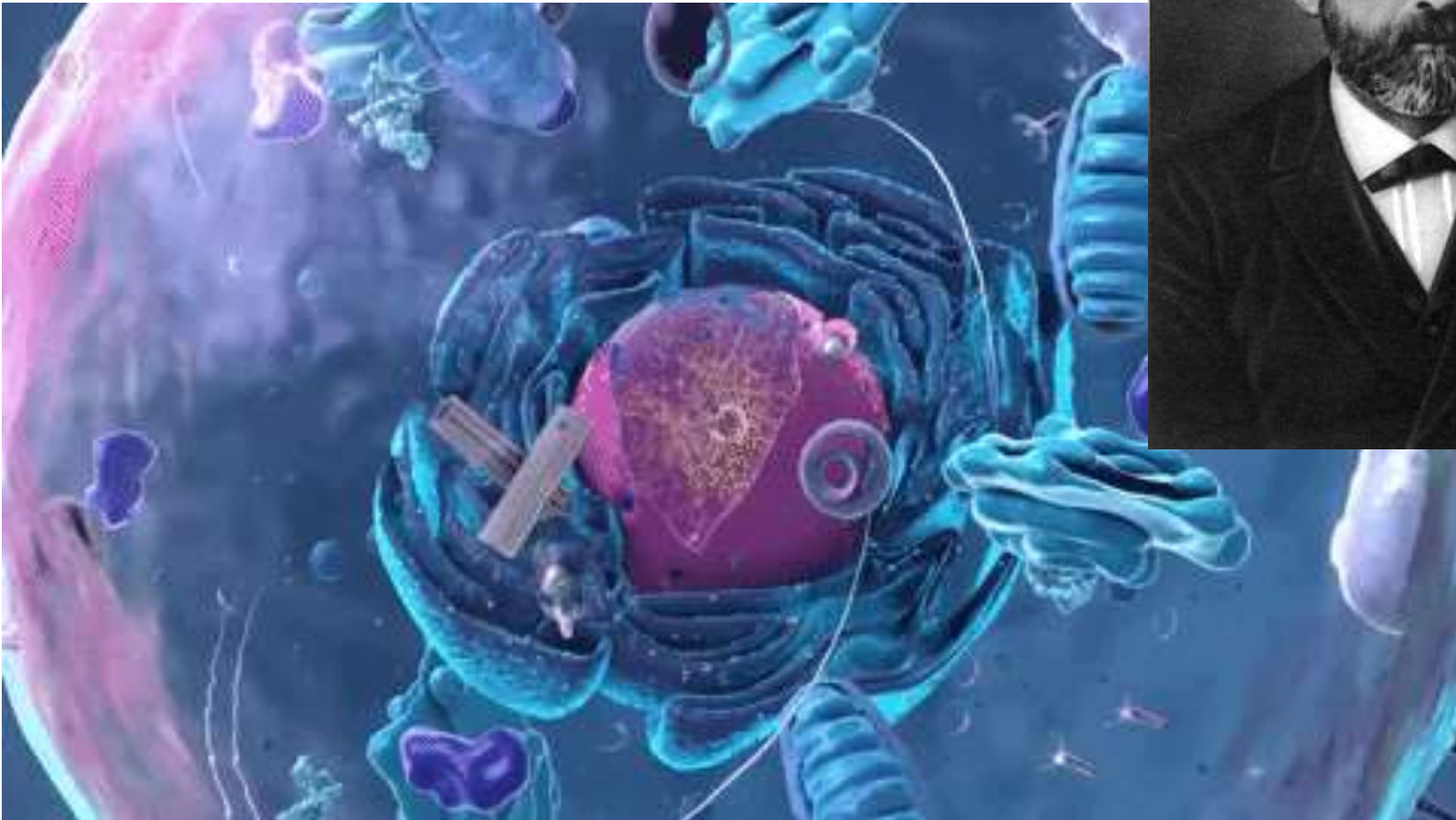
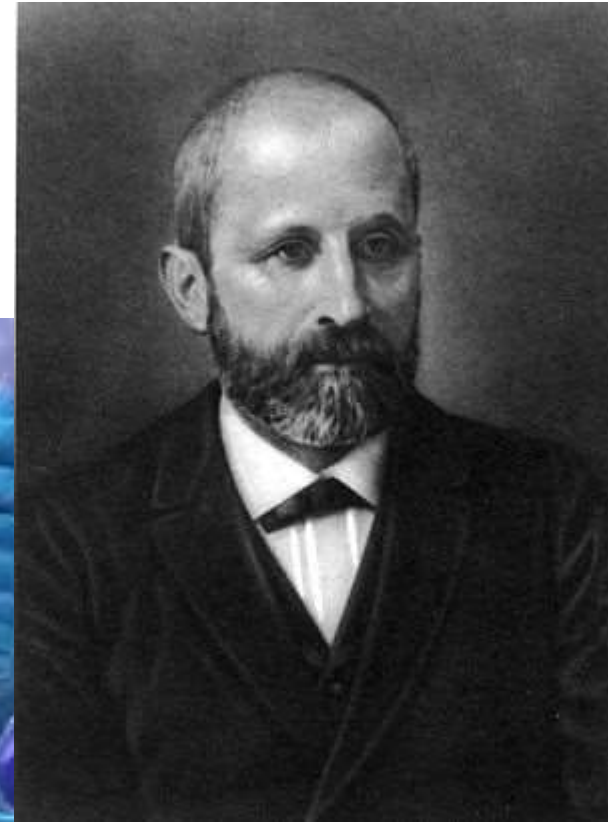
Автор Е.А. Кузнецова, 2020

Ред. О.В.Стронин, 2024

Нуклеотиды, нуклеиновые кислоты

Nucleus (lat.) - ядро

1869 г. - Friedrich Miescher (Switzerland) выделил из находившихся в гное клеток неизвестное вещество, содержащее азот и фосфор, которое назвал nuclein.



Нуклеотиды, нуклеиновые кислоты

Nucleus (лат.) - ядро

1869 г. - Friedrich Miescher (*Switzerland*).

Затем получал нуклеин из молок лососевых рыб.

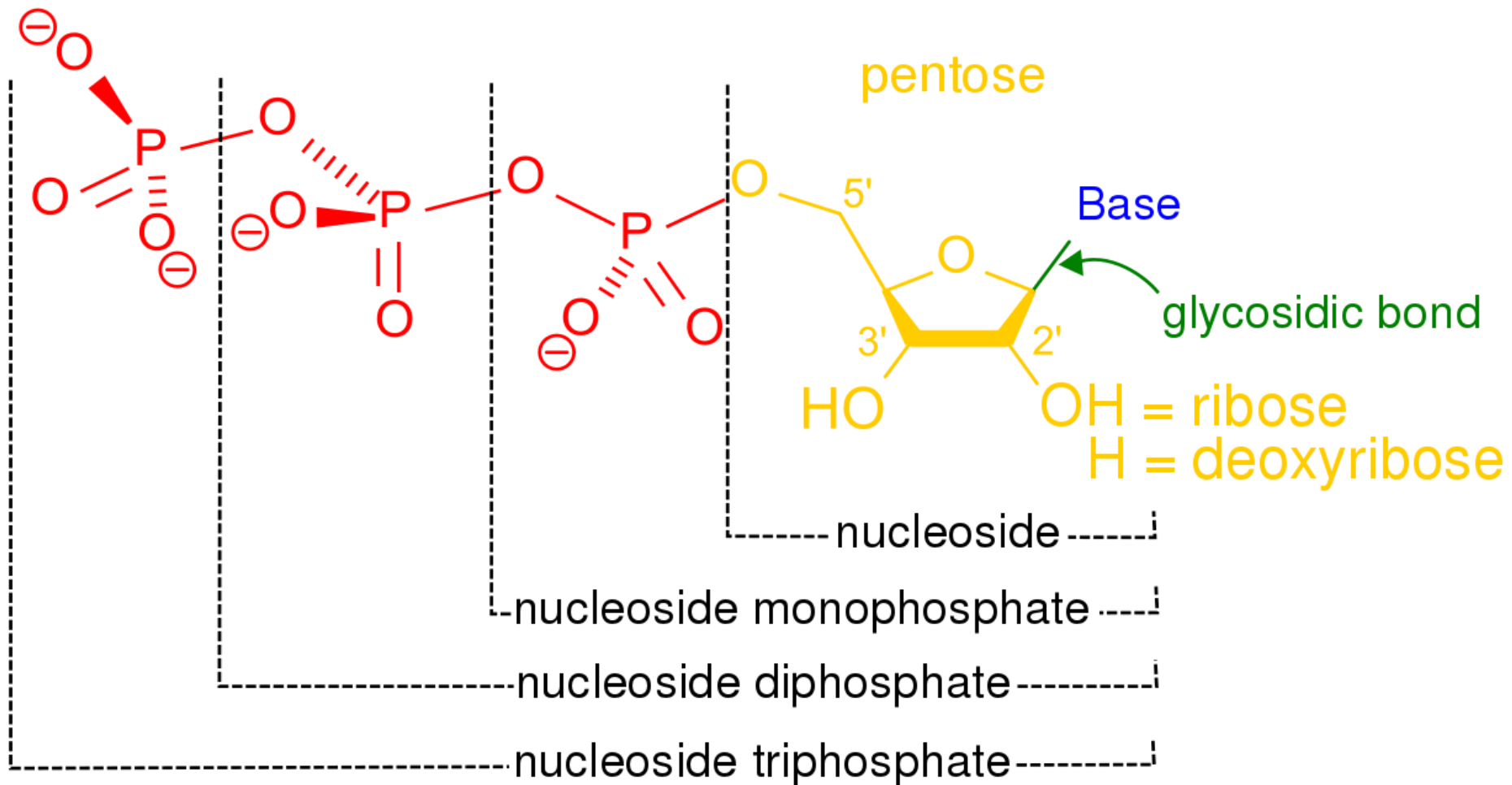
Предположение о связи с размножением.

Считалось, что вещество слишком простое для хранения генетической информации. Более вероятны — белки.

Переименовали в нуклеиновую кислоту (из-за кислых свойств).

Нуклеотиды

Нуклеотиды (нуклеозидфосфаты) — группа органических соединений, представляющих собой фосфорные эфиры нуклеозидов.



Нуклеотиды

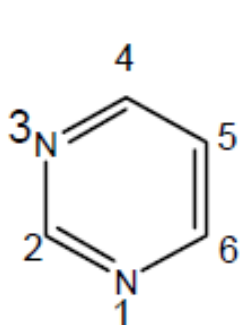
Азотистое основание (пуриновое или пиримидиновое)

Пентоза

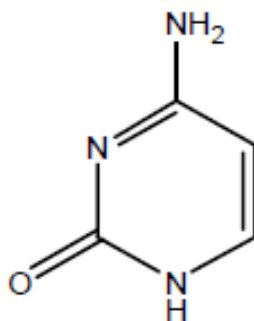
Фосфат

Азотистое основание (гетероцикл.)

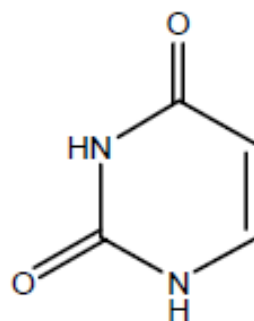
Пиримидиновые основания



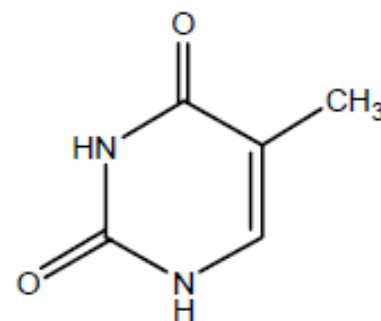
Пиримидин



Цитозин
(2-оксо-4-амино-
пиримидин)

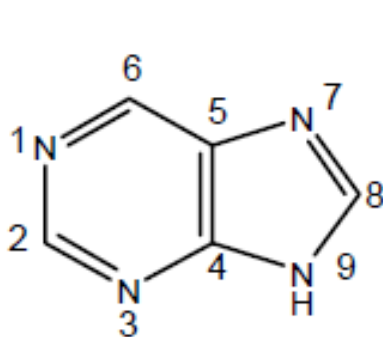


Урацил
(2,4-диоксо-
пиримидин)

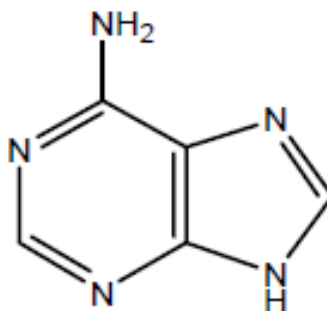


Тимин
(2,4-диоксо-
5-метилпиримидин;
5-метилурацил)

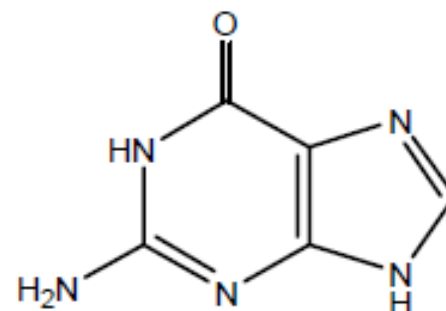
Пуриновые основания



Пурин



Аденин
(6-аминопурин)

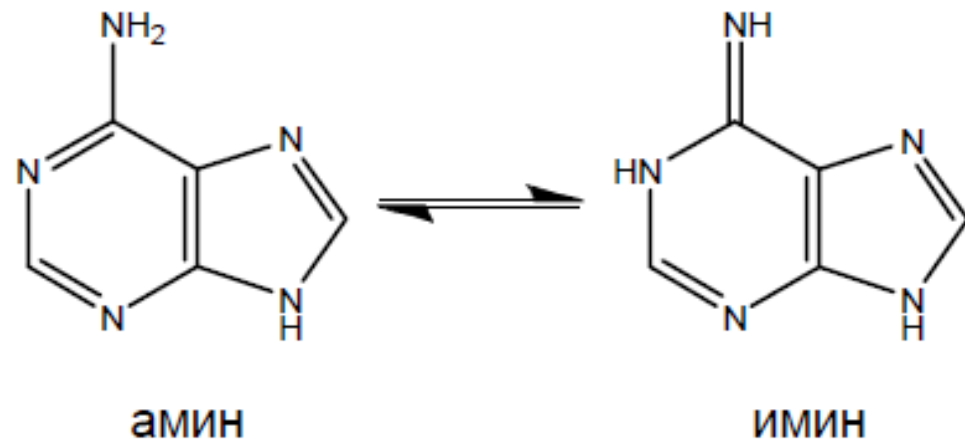
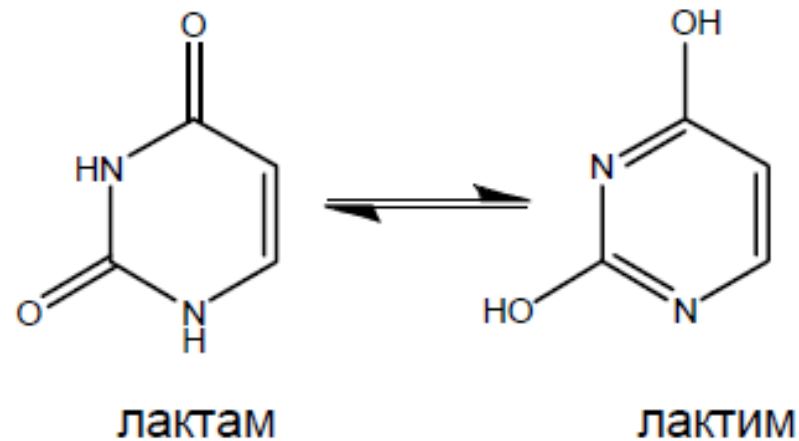


Гуанин
(2-амино-6-оксопурин)

Таутомерия азотистых оснований

Урацил

Аденин



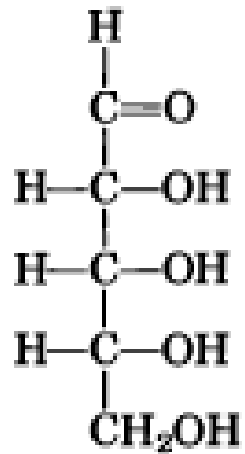
Пиримидины — кето-енольная таутомерия

Пурины — амино-иминная таутомерия

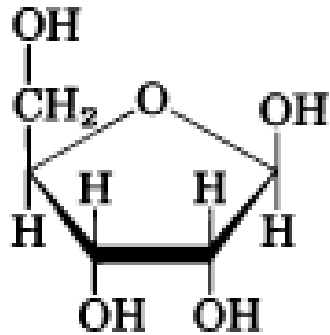
В составе нуклеиновых кислот пуриновые и пиримидиновые основания находятся в **лакта́мной и аминной** формах.

ВАЖНО! Плоскости колец — гидрофобны, торцы — гидрофильны

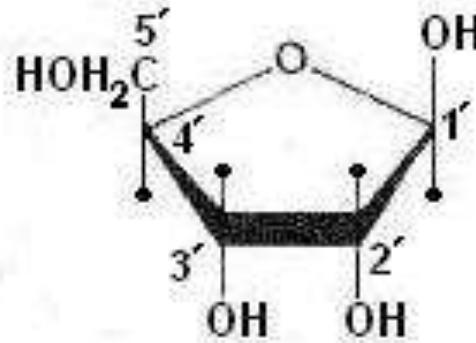
Углевод – пентоза (рибоза или дезоксирибоза)



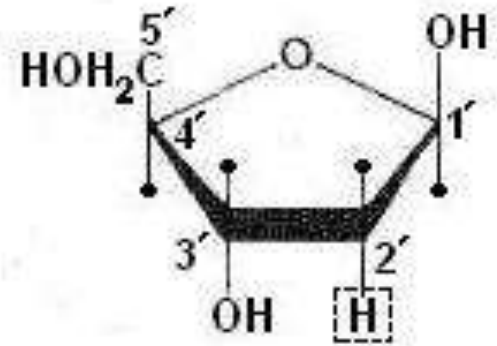
Альдегид



β -Фураноза



D-Рибоза

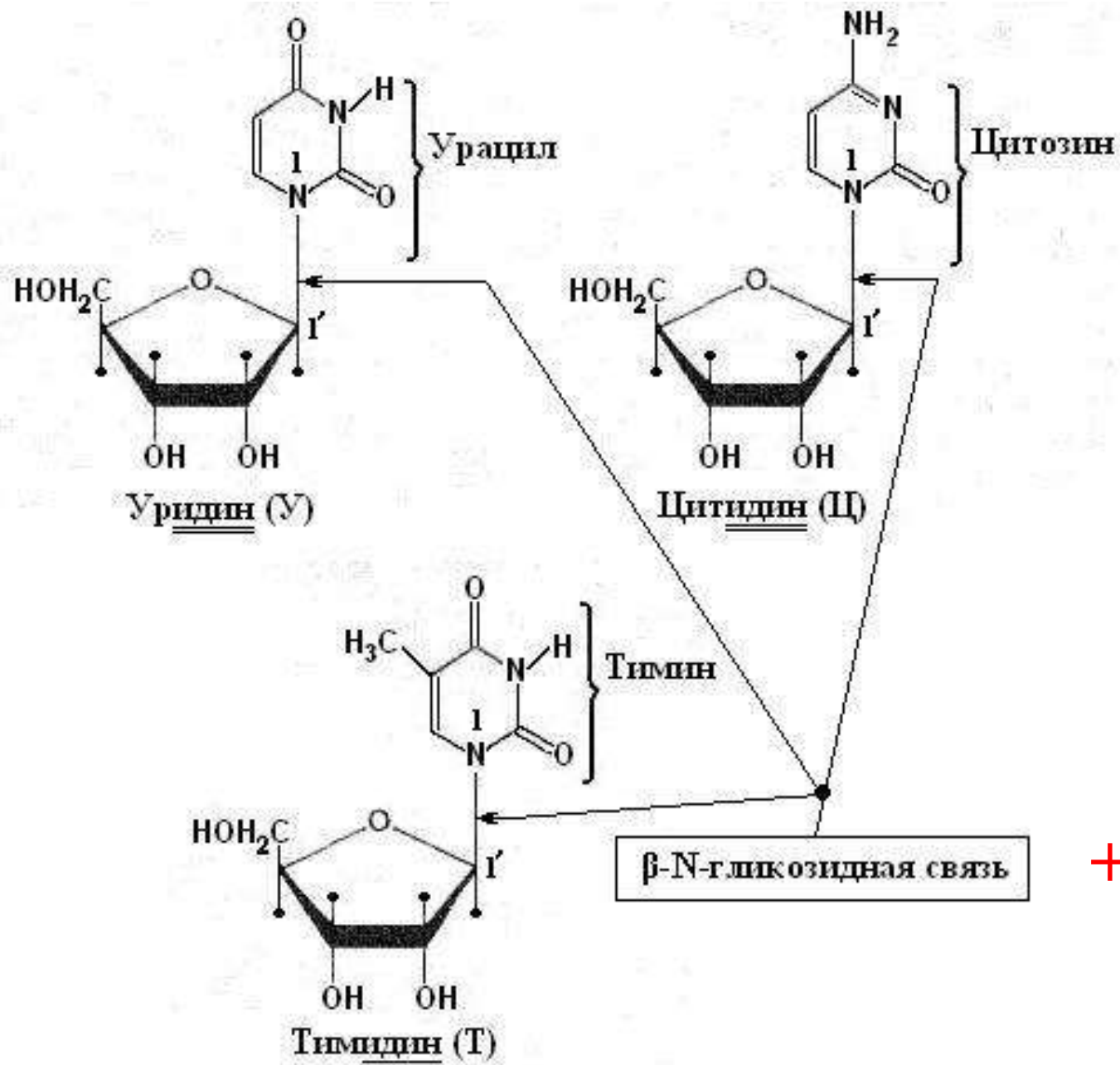


D-Дезоксирибоза

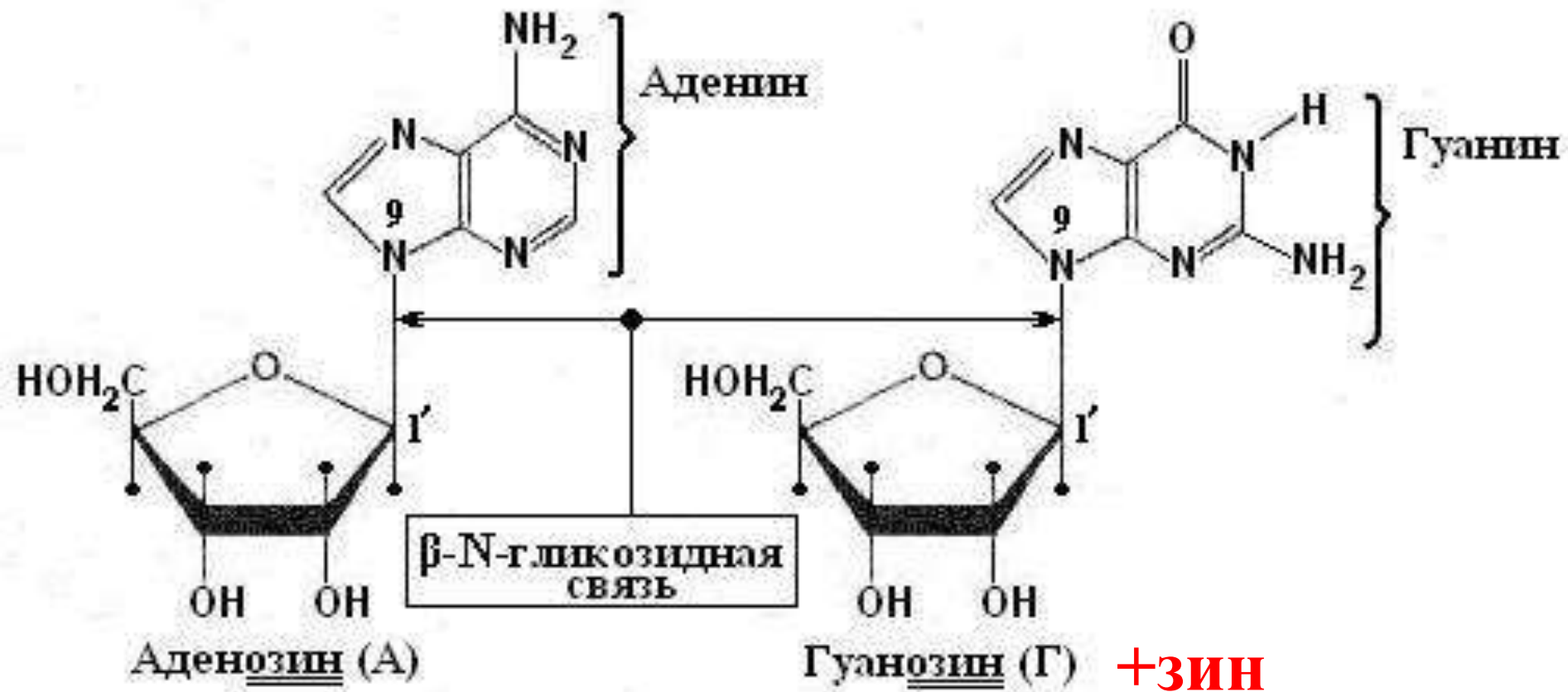
В НК пентозы находятся в циклической форме (β -фуранозы).

Углеродные атомы в кольце пентозы нумеруют со штрихами для отличия нумерации атомов в гетероциклах пуринов и пиримидинов.

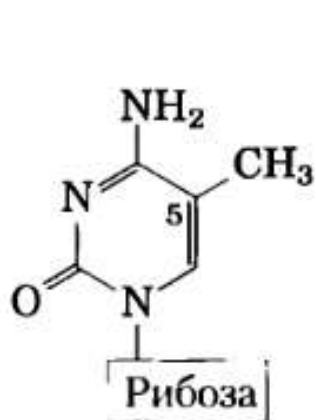
Пиримидиновые нуклеозиды



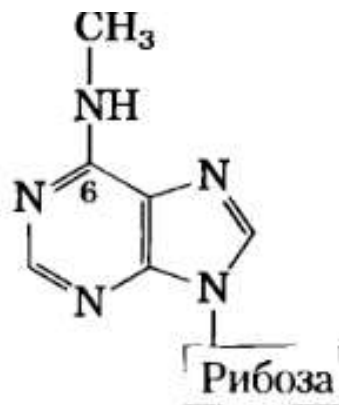
Пуриновые нуклеозиды



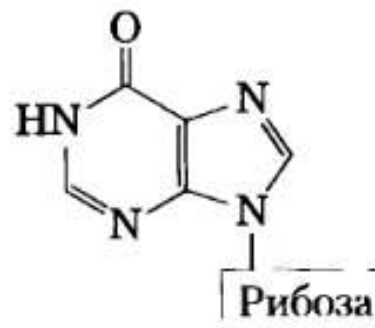
Минорные основания



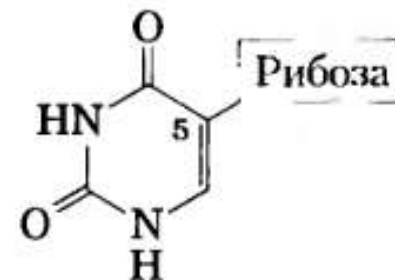
5'-Метилцитидин



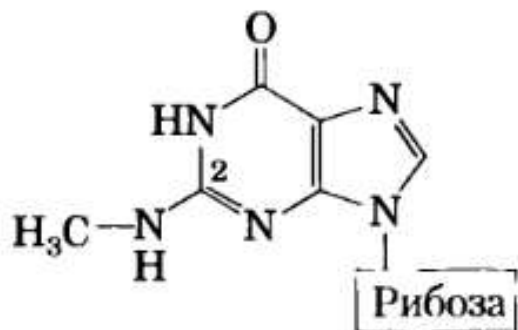
N⁶-Метиладенозин



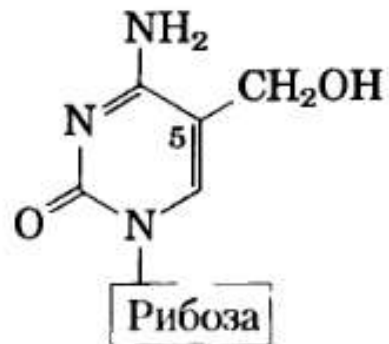
Инозин



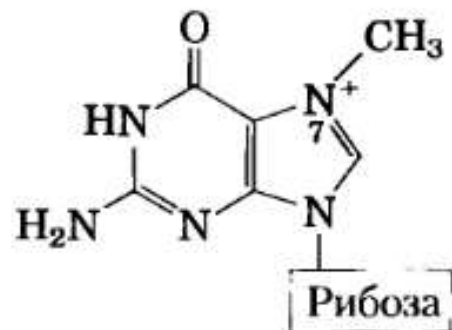
Псевдоуридин



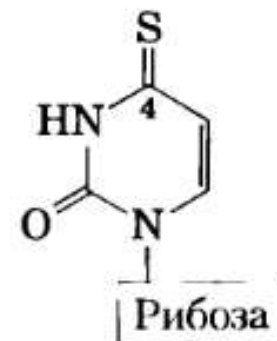
N²-Метилгуанозин



5-Гидроксиметилцитидин



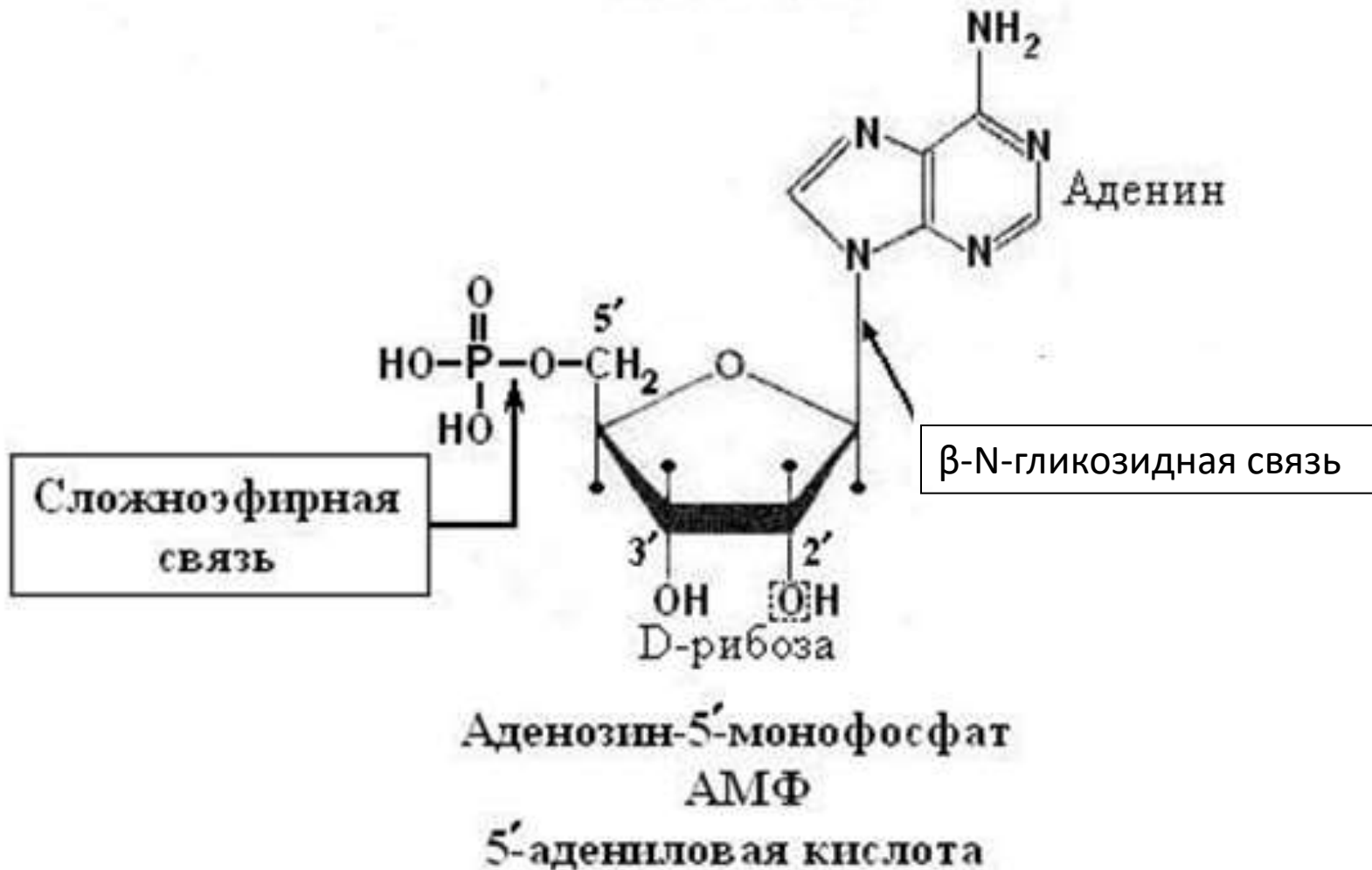
7-Метилгуанозин



4-Тиоуридин

Нуклеотиды

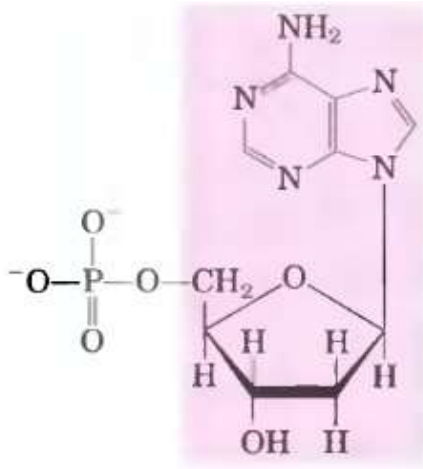
Это сложные эфиры нуклеозида и фосфорной кислоты.



Нуклеотиды

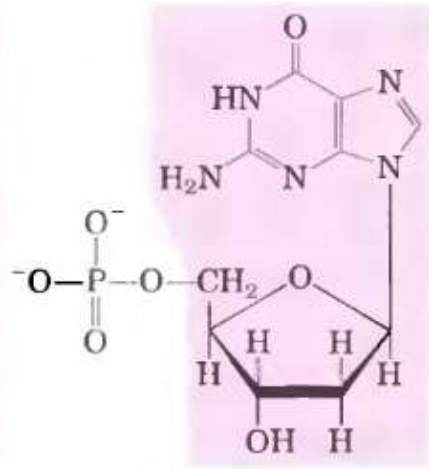
Дезоксирибонуклеотиды

a



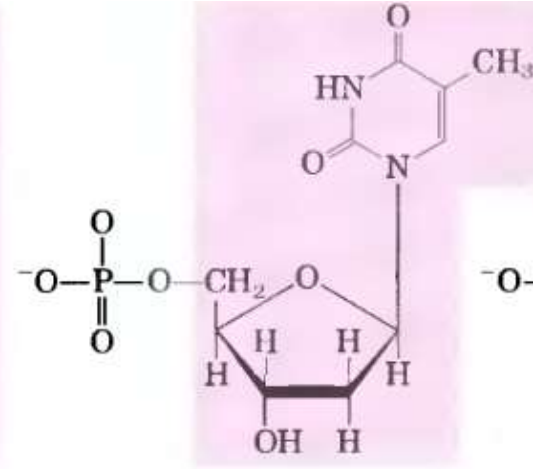
Нуклеотиды: Дезоксиаденилат
(дезоксиаденозин-5'-монофосфат)

Обозначения: A, dA, dAMP



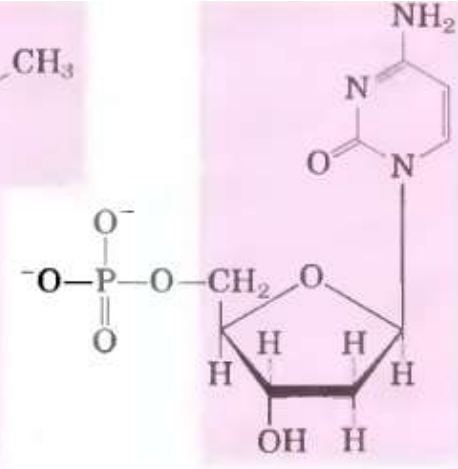
Нуклеотиды: Дезоксигуанилат
(дезоксигуанозин-5'-монофосфат)

Обозначения: G, dG, dGMP



Нуклеотиды: Дезокситимилилат
(дезокситимидин-5'-монофосфат)

Обозначения: T, dT, dTMP



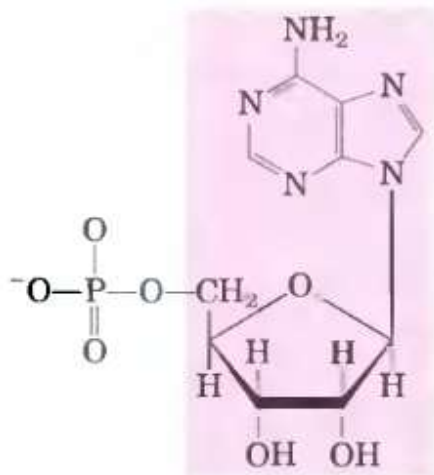
Нуклеотиды: Дезоксицитидилат
(дезоксицитидин-5'-монофосфат)

Обозначения: C, dC, dCMP

Нуклеотиды

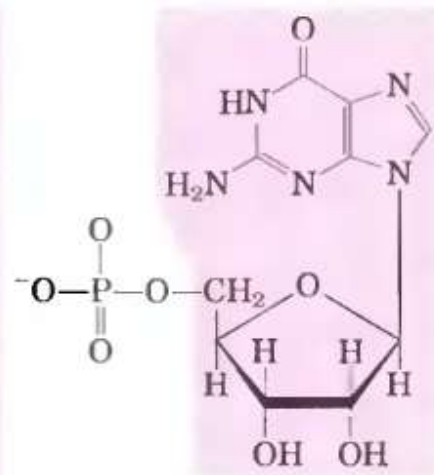
Рибонуклеотиды

6



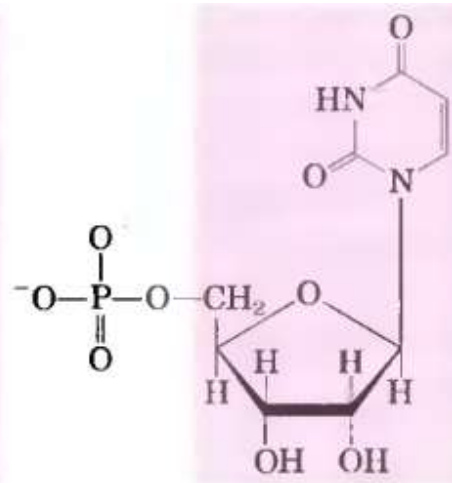
Нуклеотиды: Аденилат (аденозин-5'-монофосфат)

Обозначения: A, AMP



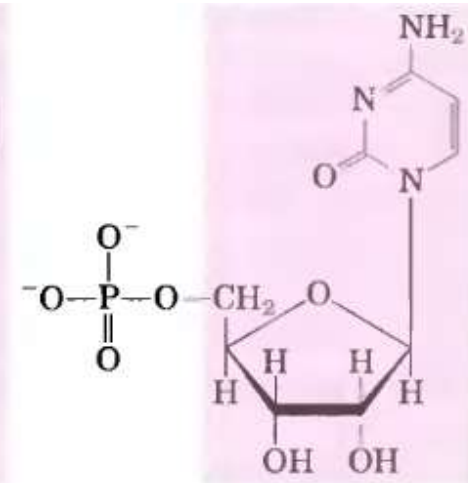
Гуанилат (гуанозин-5'-монофосфат)

G, GMP



Уридилат (уридин-5'-монофосфат)

U, UMP

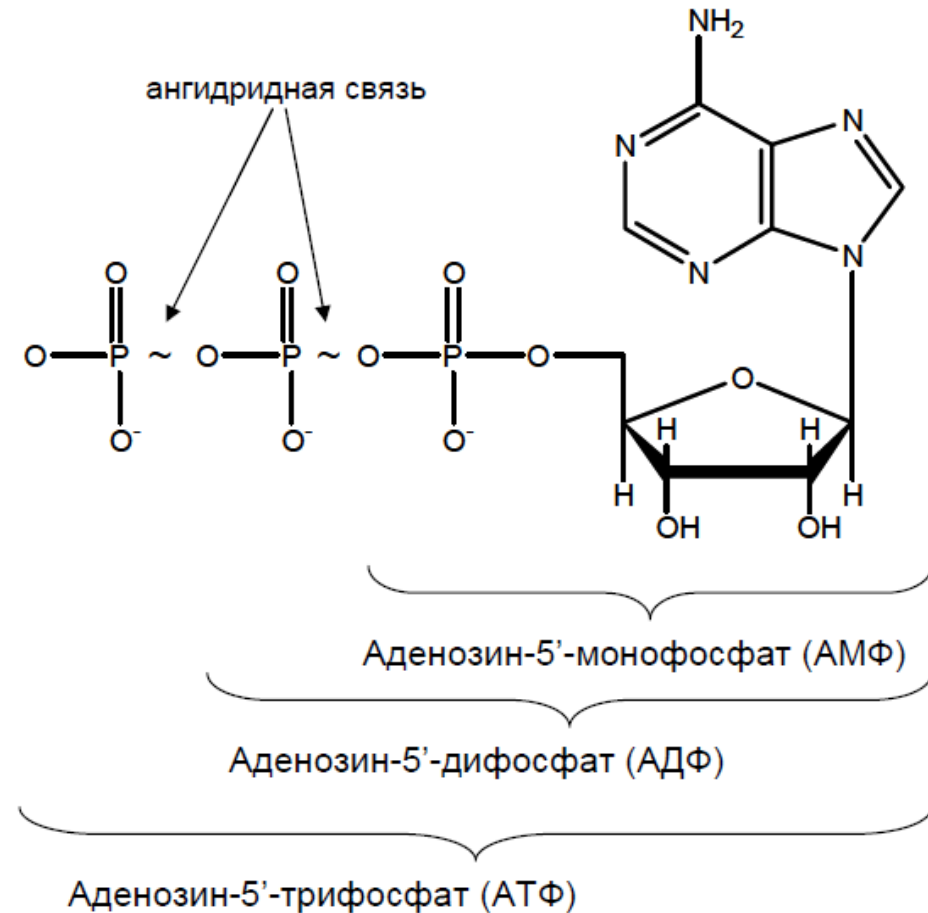
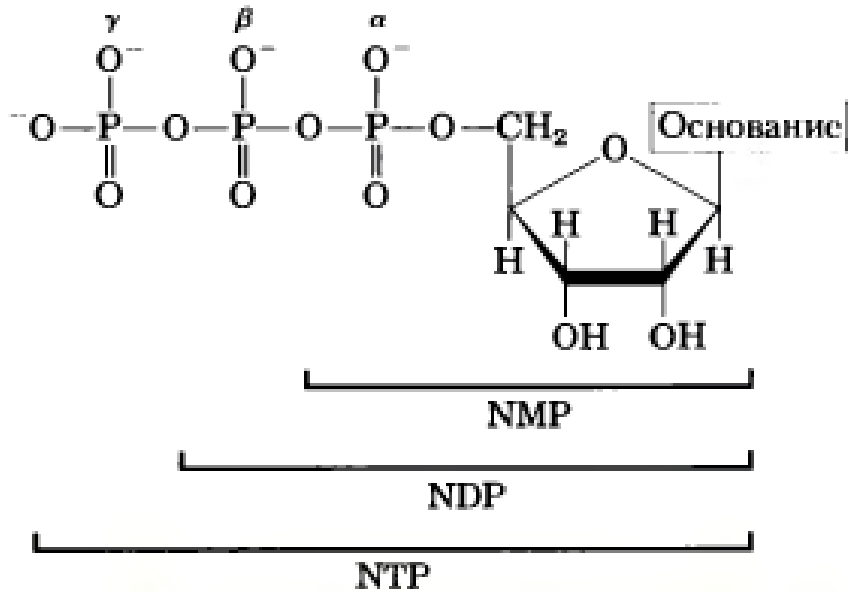


Цитидилат (цитидин-5'-монофосфат)

C, CMP

Нуклеотиды-макроэрги (нуклеозидди- и трифосфаты)

Основные **промежуточные формы энергии** для живых клеток.

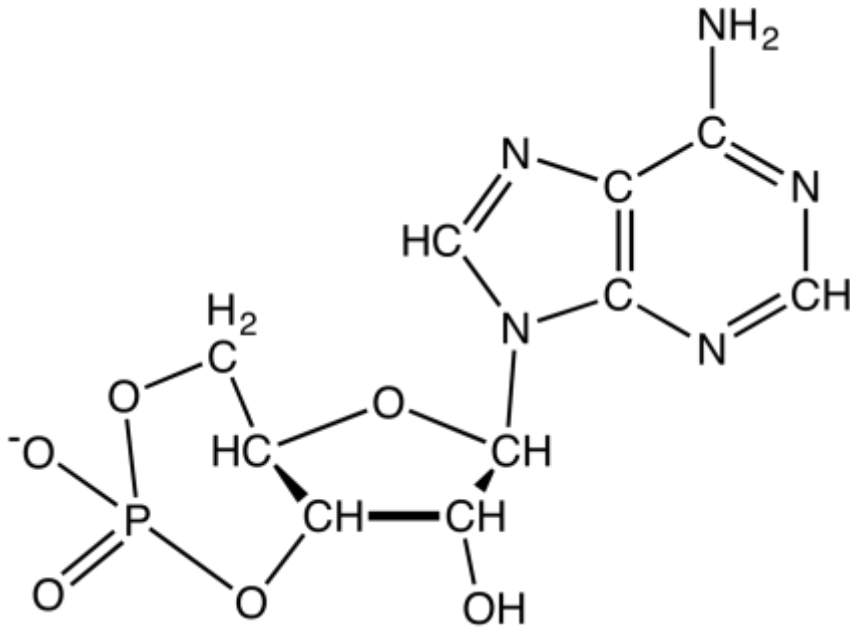


Формула АТФ

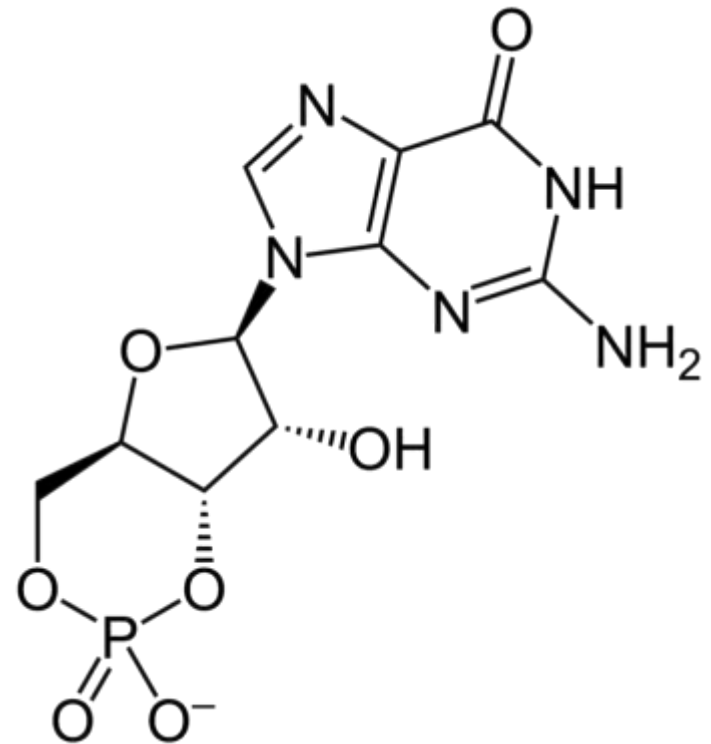
При гидролизе фосфоангидридной связи выделяется ~ 30 кДж/моль.

Циклические нуклеотиды

Являются вторичными мессенджерами (приводят к внутриклеточным изменениям в ответ на сигнал раздражителя).



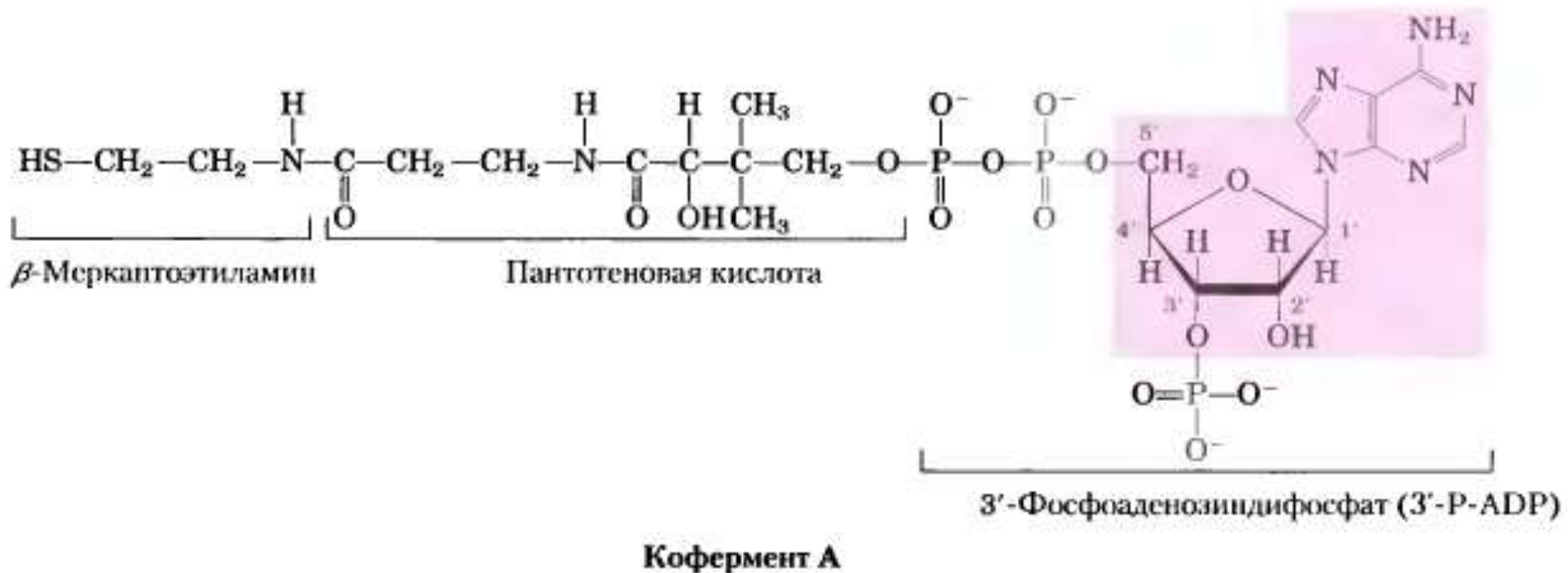
Аденозин-3',5'-циклофосфат (цАМФ), образуется из АТФ под действием аденилатциклазы. Он обладает регуляторными функциями практически в каждой клетке.



Гуанозин-3',5'-циклофосфат (цГМФ) встречается во многих клетках и также обладает регуляторными функциями.

Нуклеотиды особого состава

Нуклеотиды, в состав которых входят некоторые витамины, являются **кофакторами** некоторых сложных ферментов.

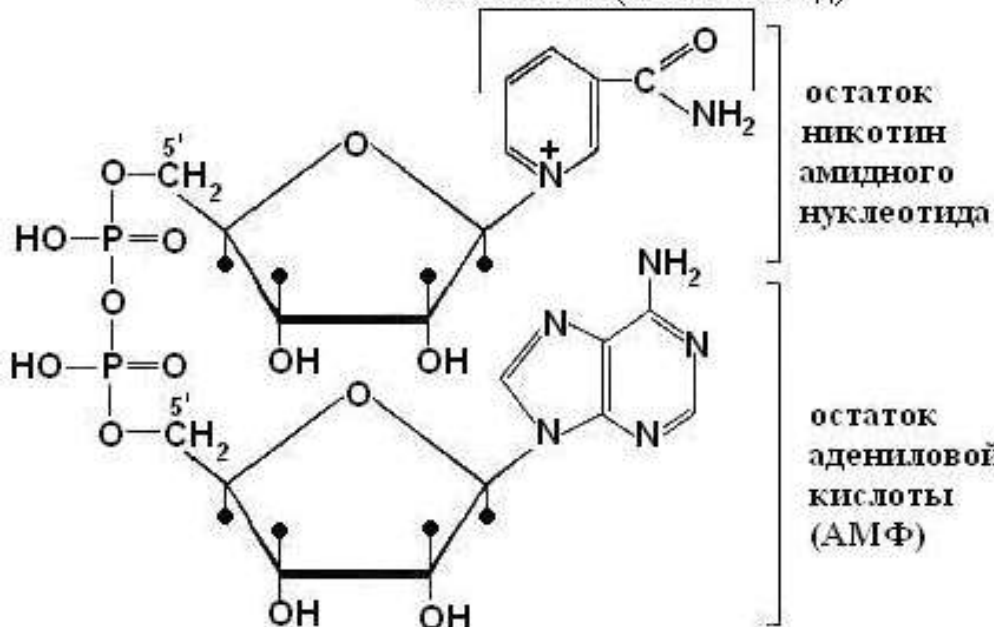


Переносчик ацильных групп.

Связывание с ацильными группами происходит за счет тиоэфирной связи с β-меркаптоэтиламиновым фрагментом

Кофакторы НАД и ФАД

Витамин РР (Никотинамид)

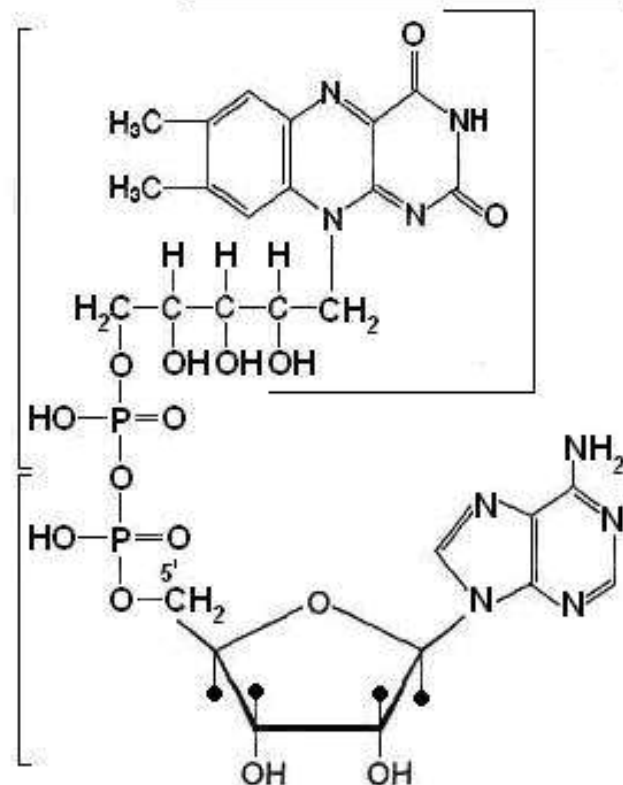


НАД (НикотинамидАденинДинуклеотид)

Витамин рибофлавин (В₂)

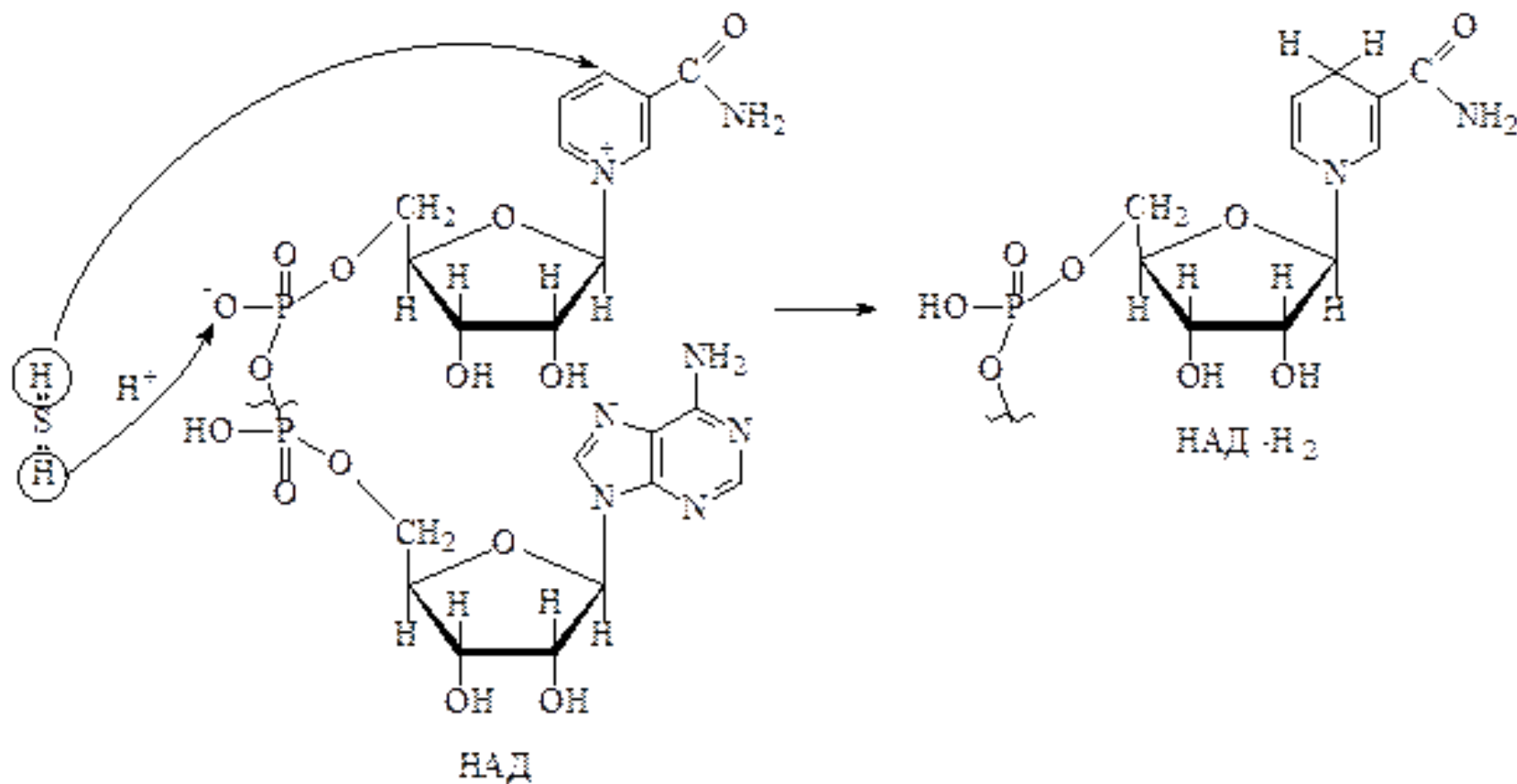
остаток
флавинового (с
витамином В₂)
нуклеотида

остаток
аденилловой
кислоты
(АМФ)

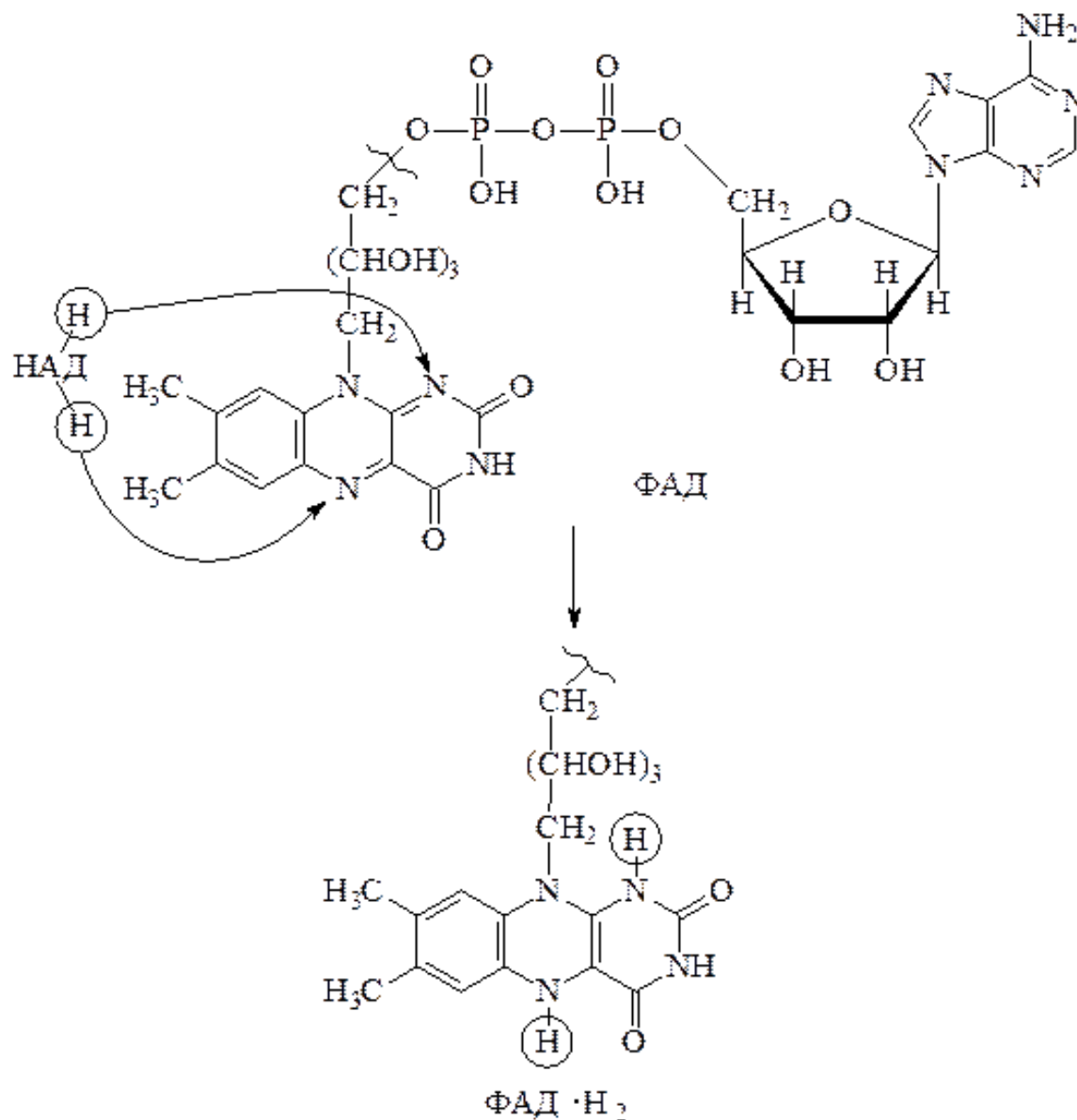


ФАД - ФлавинАденинДинуклеотид

Восстановление НАД



Восстановление ФАД



Синтетические аналоги азотистых оснований и нуклеозидов. Лекарственные средства

Структурные аналоги оснований, нуклеозидов и нуклеотидов.

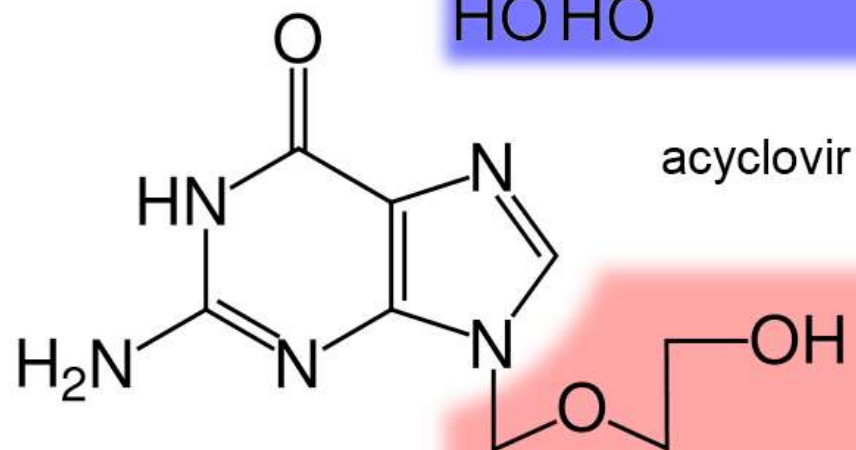
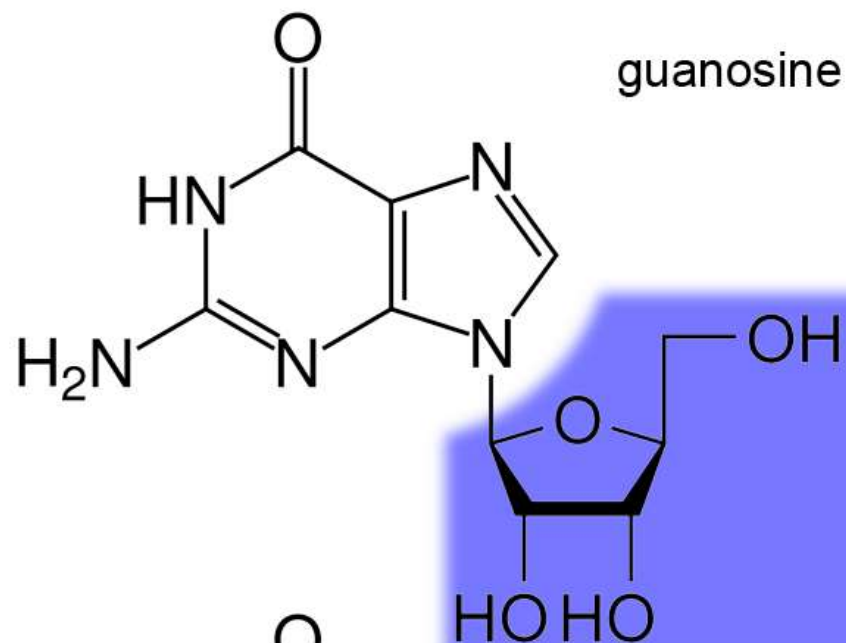
После фосфорилирования включаются в НК при репликации вируса или генома опухолевых клеток.

Чаще всего ингибиторы РНК и ДНК полимераз.

Противовирусные препараты.

Химиотерапия онкологических заболеваний.

Синтетические аналоги оснований и нуклеозидов лекарственные средства



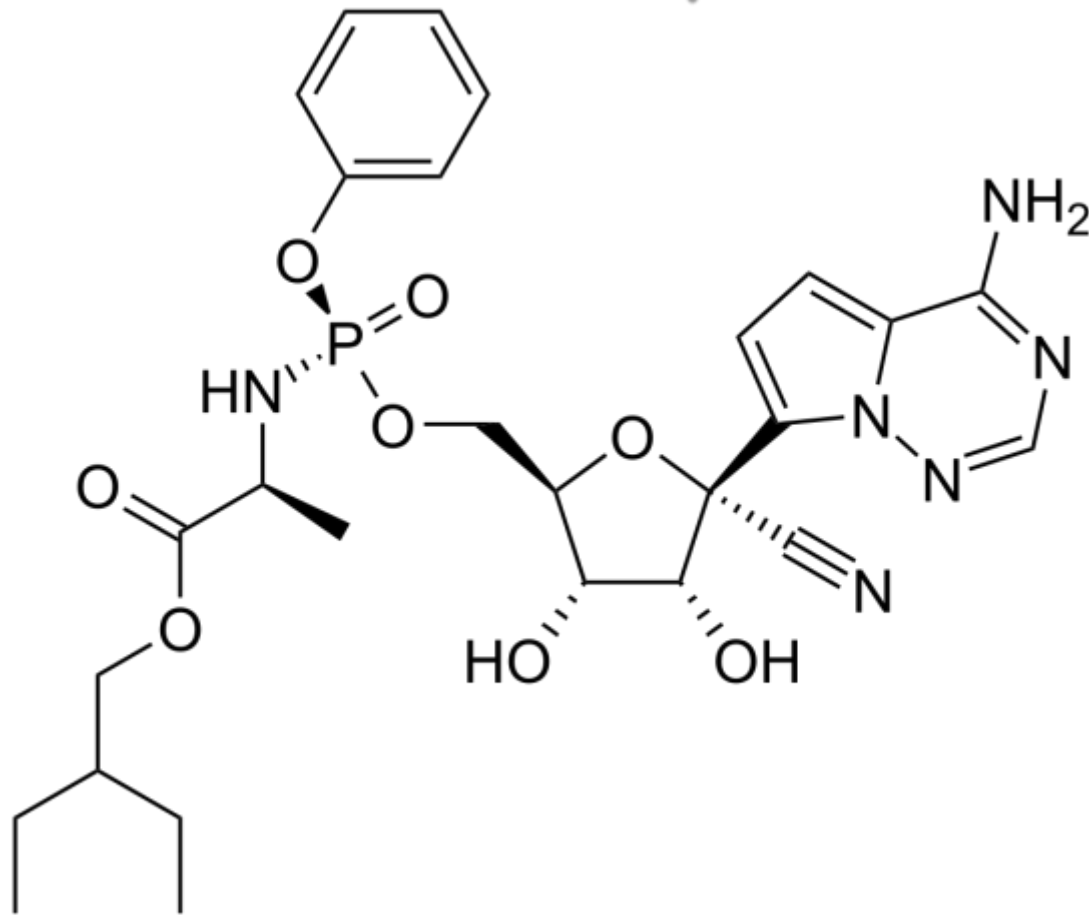
Синтетические аналоги оснований и нуклеозидов лекарственные средства

Ремдисивир

Аналог АТФ.

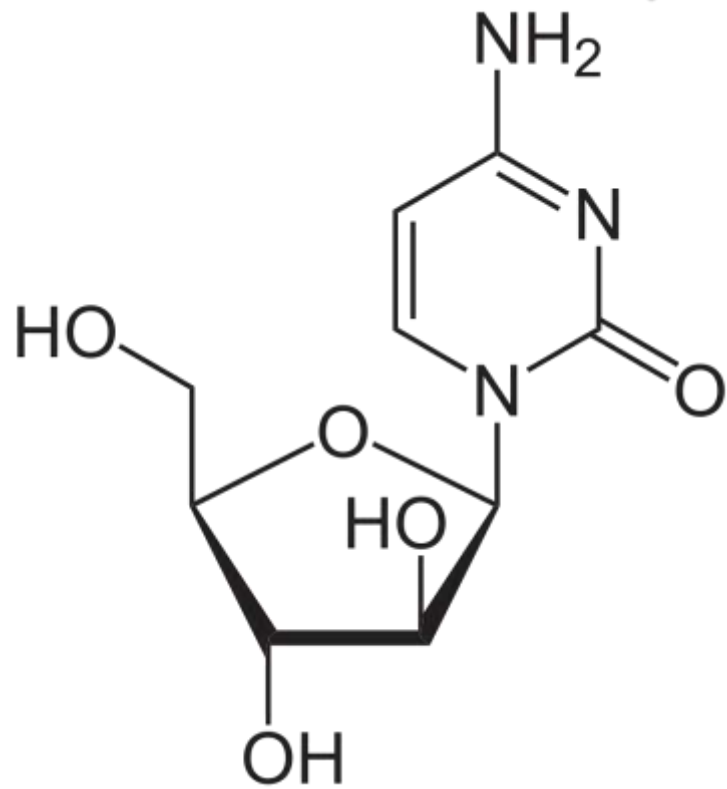
ингибирует РНК-зависимую
РНК-полимеразу,

ssRNA вирусы:
вирус Эбола, вирус
Марбург, респираторно-
синцитиальный вирус
человека, вирус Джунина,
вирус лихорадки Ласса,
вирус Нипах, вирус Хендра
и коронавирусы



2-этилбутил-(2S)-2-{(2R,3S,4R,5R)-[5-(4-
Аминопирроло[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил)-5-циано-
3,4-дигидрокси-тетрагидрофуран-2-
илметокси]фенокси-(S)-
фосфиламино} пропионат

Синтетические аналоги оснований и нуклеозидов лекарственные средства



Цитарабин

Аналог цитидина.

ингибирует ДНК-
зависимую ДНК-
полимеразу

Острые миелоидные
лейкозы, бластный криз
хронического миелолейкоза,
лимфогранулематоз,
эритромиелоз,
нейролейкемия,
неходжкинские лимфомы.

2-этилбутил-(2S)-2-{(2R,3S,4R,5R)-[5-(4-
Аминопирроло[2,1-f][1,2,4]триазин-7-ил)-5-циано-
3,4-дигидрокси-тетрагидрофуран-2-
илметокси]фенокси-(S)-
фосфиламино} пропионат

Синтетические аналоги оснований и нуклеозидов Альтернативные системы кодирования генетической информации

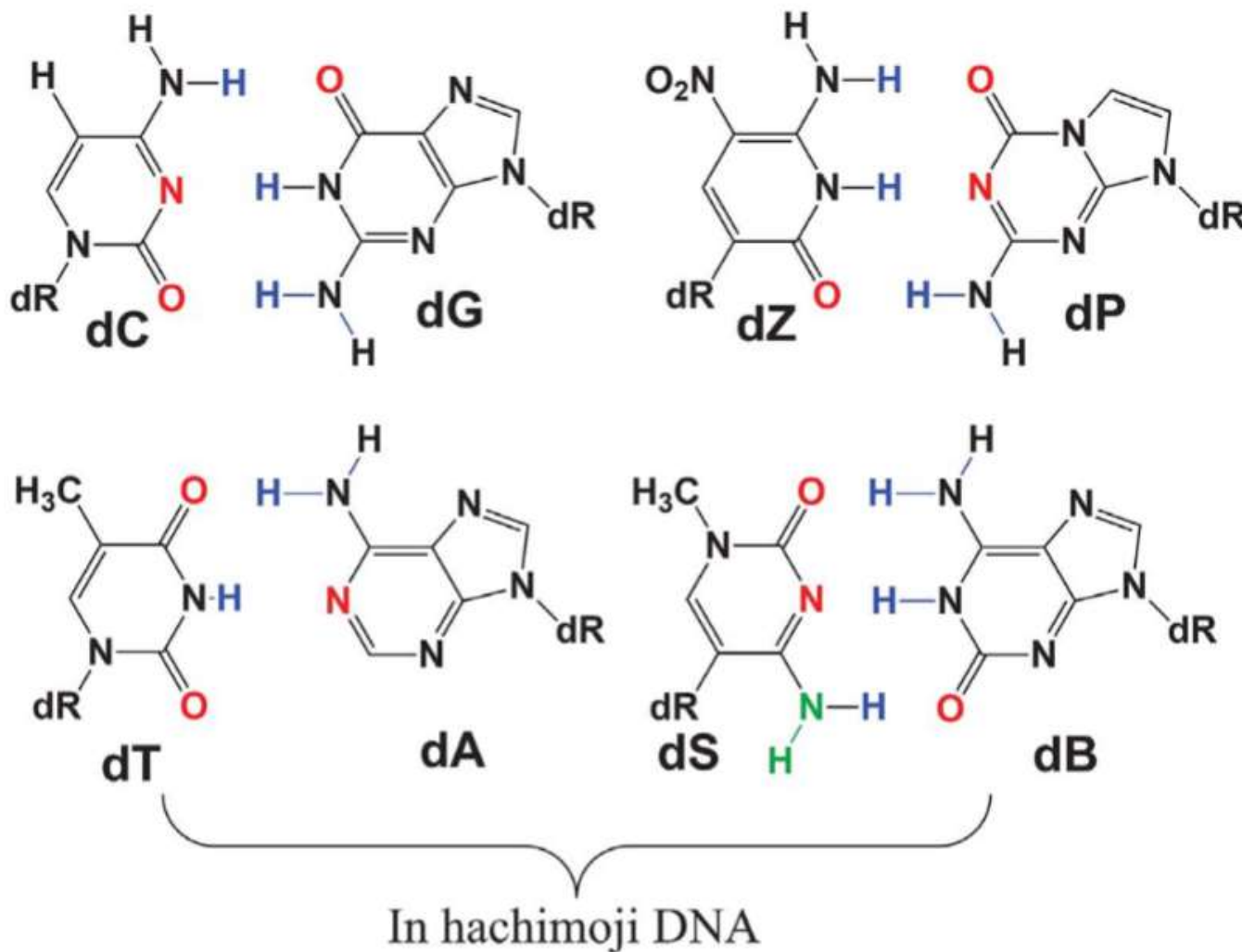
8-буквенный код.

Показали возможность синтеза 8-буквенной РНК с 8-буквенной ДНК с помощью модифицированных ферментов.

Hachimoji DNA and RNA: A genetic system with eight building blocks. Hoshika et al., Science 363, 884–887 (2019) 22 February 2019

Синтетические аналоги оснований и нуклеозидов

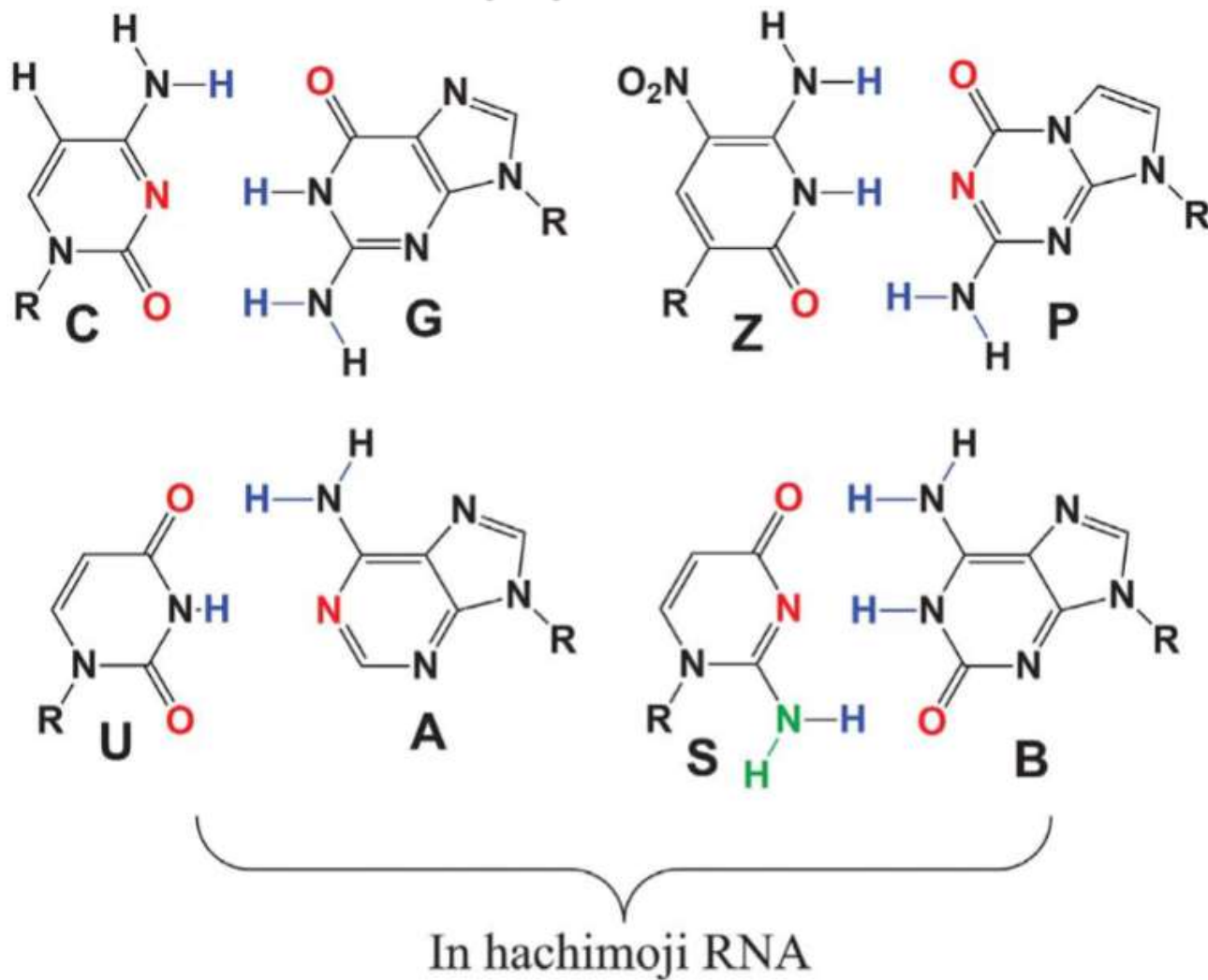
Альтернативные системы кодирования генетической информации



Hachimoji DNA and RNA: A genetic system with eight building blocks. Hoshika et al., Science 363, 884–887 (2019) 22 February 2019 (спрям Steven A. Benner, USA)

Синтетические аналоги оснований и нуклеозидов

Альтернативные системы кодирования генетической информации



Hachimoji DNA and RNA: A genetic system with eight building blocks. Hoshika et al., Science 363, 884–887 (2019) 22 February 2019

Роль нуклеотидов и нуклеозидов

Нуклеотиды – блоки для построения молекул нуклеиновых кислот

Нуклеотиды-макроэррги – источники энергии для клеток:

АТФ – универсальный макроэрг

ГТФ – макроэрг цикла Кребса

УТФ – специфический макроэрг обмена углеводов

ЦТФ – специфический макроэрг обмена липидов

Циклические нуклеотиды – специализированные регуляторы в клетках

Нуклеотиды особого состава – кофакторы сложных ферментов

Нуклеозиды – антибиотики (вырабатываются микроорганизмами).

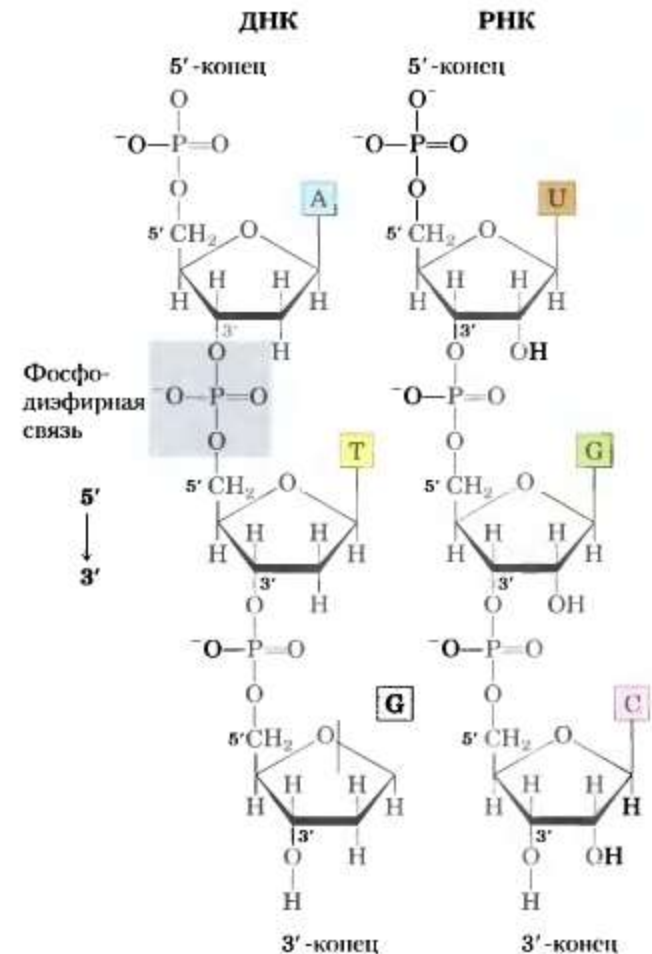
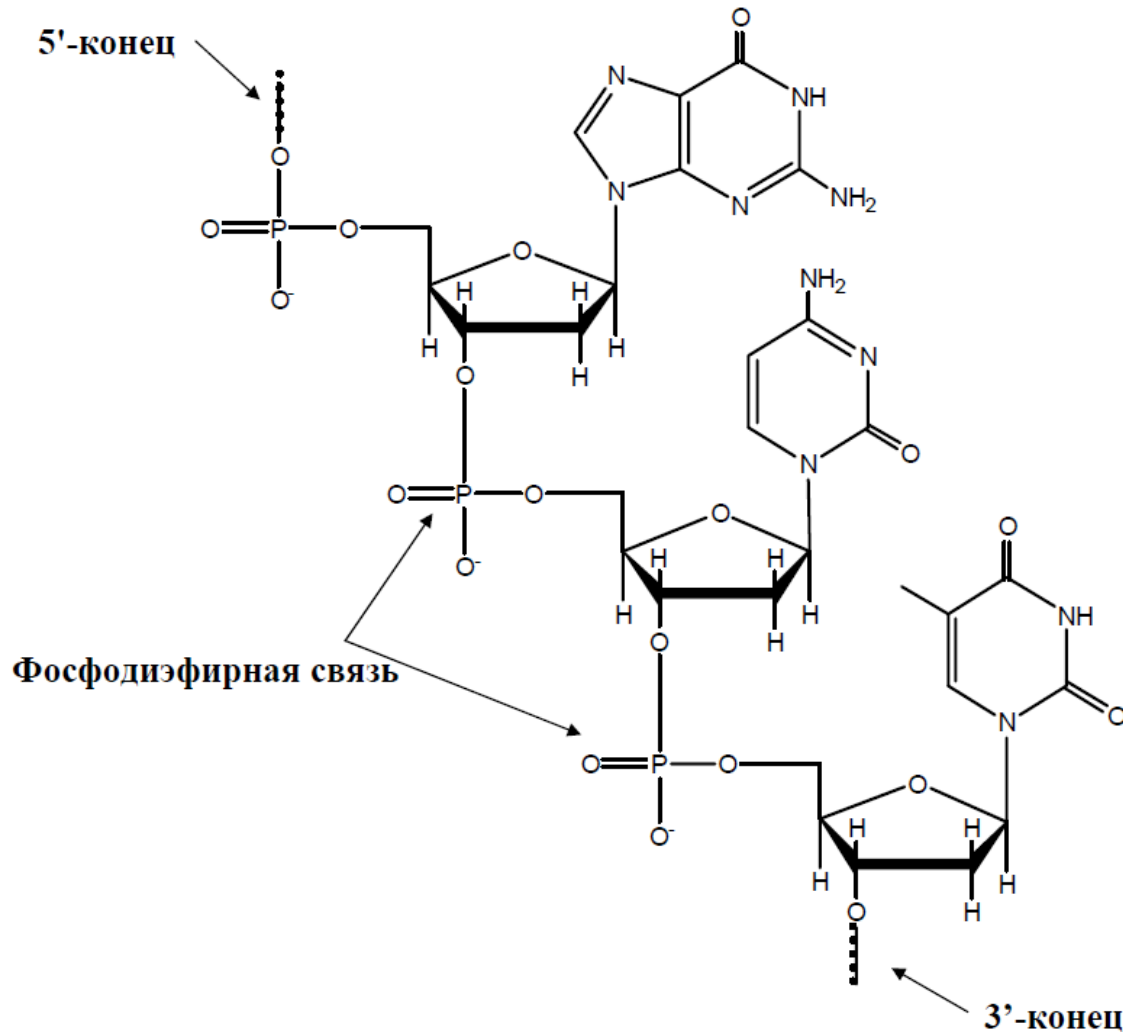
Нуклеиновые кислоты

-это биополимеры, состоящие из нуклеотидов, соединенных фосфодиэфирной связью.

Основная часть **ДНК находится в ядре клетки – в составе хроматина**; небольшое количество ДНК имеется **в митохондриях** (0,2% от всей клеточной). РНК обнаруживается во всех частях клетки

Нуклеиновые кислоты

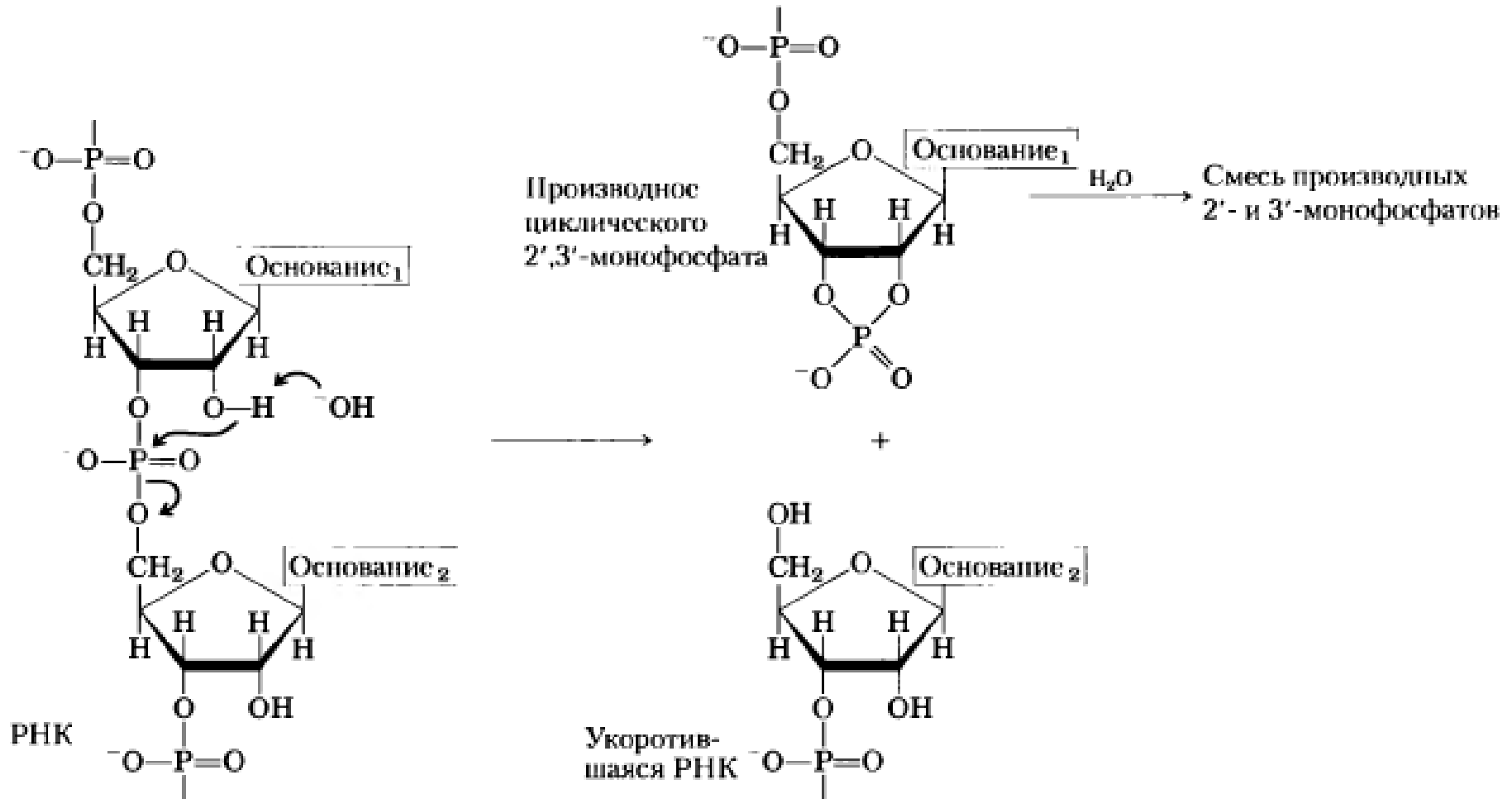
Нуклеиновые кислоты — биополимеры, состоящие из нуклеотидов, соединенных между собой фосфодиэфирной связью.



Сравнительная характеристика ДНК и РНК

Признаки сравнения	ДНК	РНК
Строение нуклеотидов	Азотистые основания: аденин, тимин, гуанин, цитозин; Пентоза: дезоксирибоза; фосфат	Азотистые основания: аденин, урацил, гуанин, цитозин, Пентоза: рибоза; фосфат
Строение полинуклеотидной цепи	Две полинуклеотидные цепочки право-закрученные относительно друг друга (кроме некоторых вирусов и бактерий)	Одноцепочечная полинуклеотидная цепь
Локализация в клетке	99% находятся в хромосомах клеточного ядра, а также в митохондриях и хлоропластах	Входит в состав ядрышек, рибосом, митохондрий, пластид, цитоплазмы.
Выполняемая роль в биосинтезе белка	Содержит наследственную информацию о строении белка	Кодирует информацию с участка ДНК и переносит ее к месту сборки белка, присоединяет и переносит аминокислоты к месту сборки белка

Стабильность РНК и ДНК

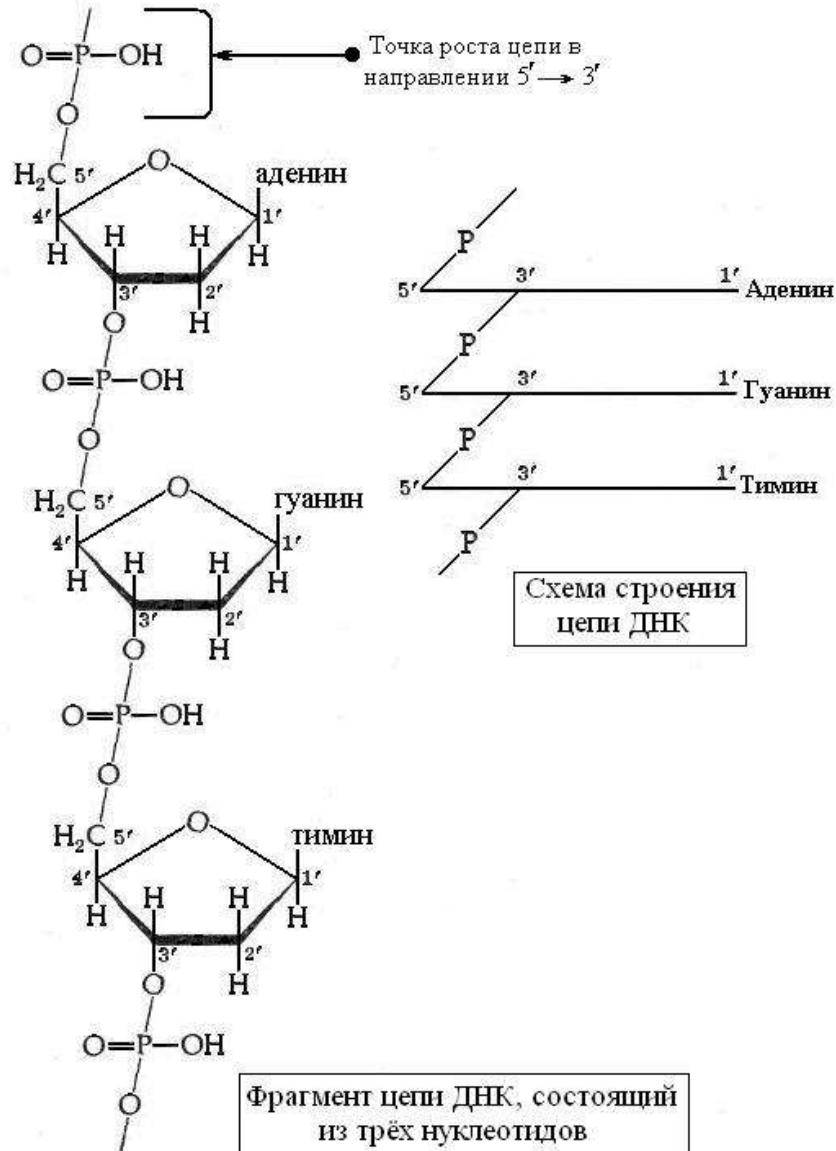


2'- Гидроксильная группа выступает в качестве нуклеофила при внутримолекулярном смещении электронной плотности. 2',3'-Производное циклического монофосфата гидролизуеться до смеси 2',-и 3'-монофосфатов (**особенно в щелочной среде**). В ДНК отсутствует 2'-гидроксильная группа, в аналогичных условиях стабильна.

ДНК

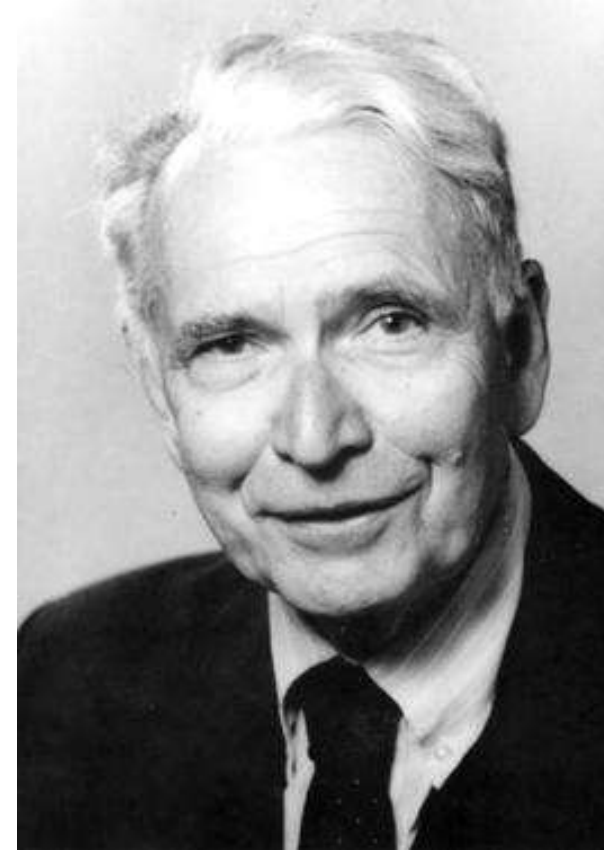
Первичная структура ДНК:

Последовательность отдельных нуклеотидов в полинуклеотидной цепи начиная от 5'-3'концу.



Правила Чаргаффа

1. Содержание оснований в ДНК разных видов, как правило различается.
2. Образцы ДНК, выделенные из разных тканей организмов одного вида, имеют одинаковый состав оснований.
3. Состав оснований ДНК конкретного вида не зависит от возраста, питания, окружающей среды.
4. Во всех клеточных ДНК вне зависимости от вида организма, число остатков аденозина равно числу остатков тимидина ($A=T$), а число остатков гуанозина равно числу остатков цитидина ($G=C$). Таким образом, $A+G=T+C$.
5. Число пуринов = числу пиримидинов



Erwin Chargaff

Вторичная структура ДНК

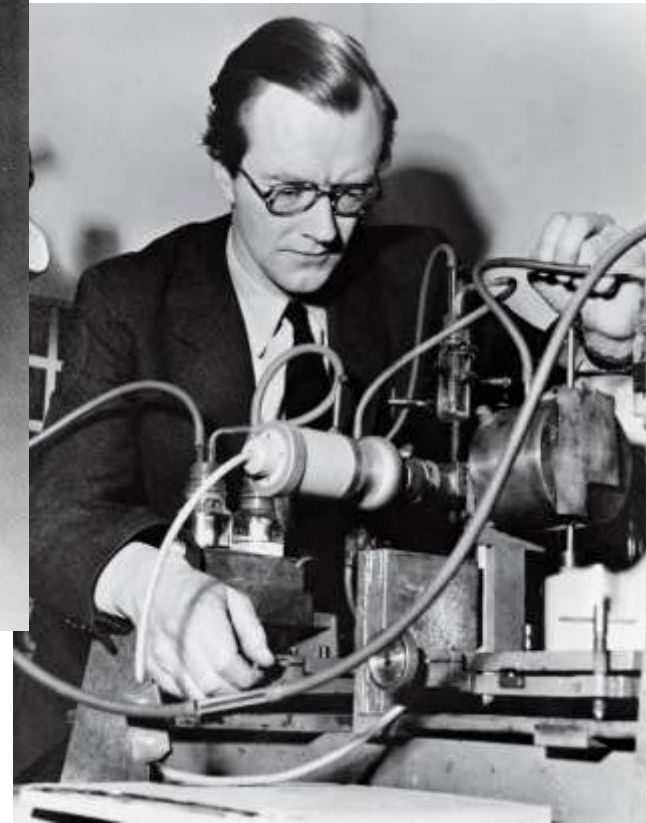


Francis Crick
James Dewey Watson

Rosalind Franklin



Maurice Wilkins



Вторичная структура ДНК

Nature, 1953. Четыре статьи.

модель Уотсона и Крика:

2-я спираль с основаниями внутри,
роль структуры ДНК в репликации;

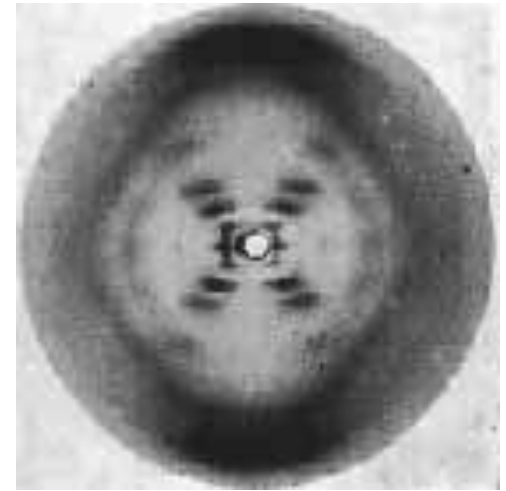
данные группы Уилкинса по А-форме

данные Франклин и её помощника Р. Гослинга по В-форме

Франклин и Гослинг - доказательства двуспиральности ДНК

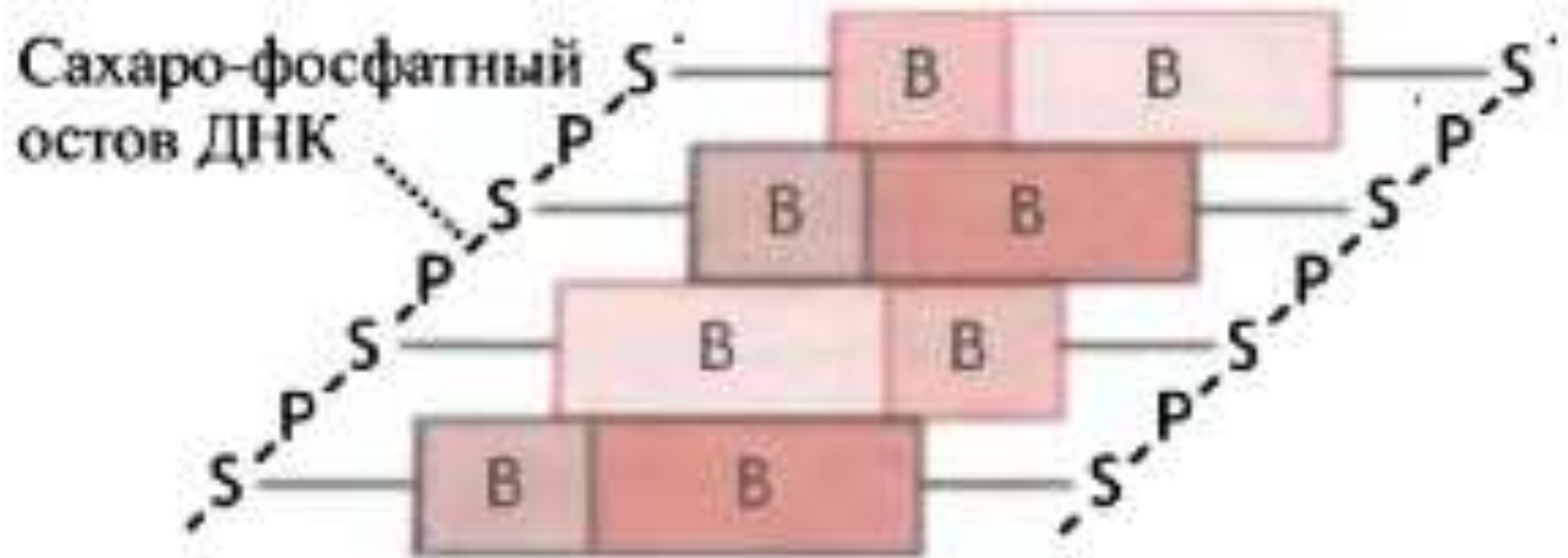
Watson, Crick and Maurice Wilkins were awarded the 1962
Nobel Prize in Physiology or Medicine

"for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material".



Фотография 51

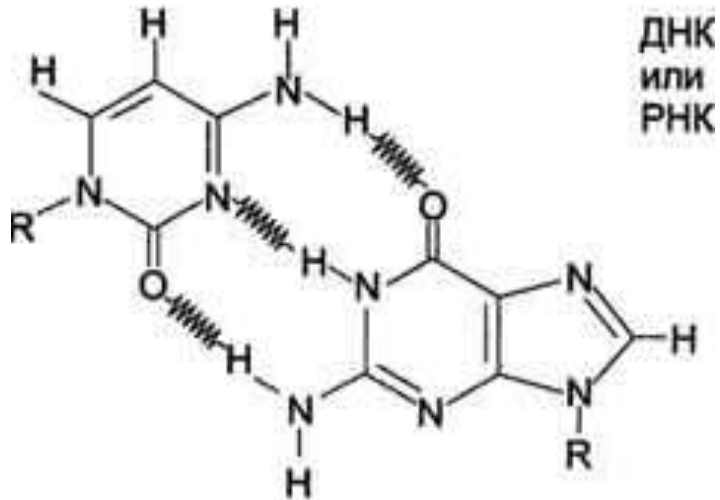
Вторичная структура ДНК



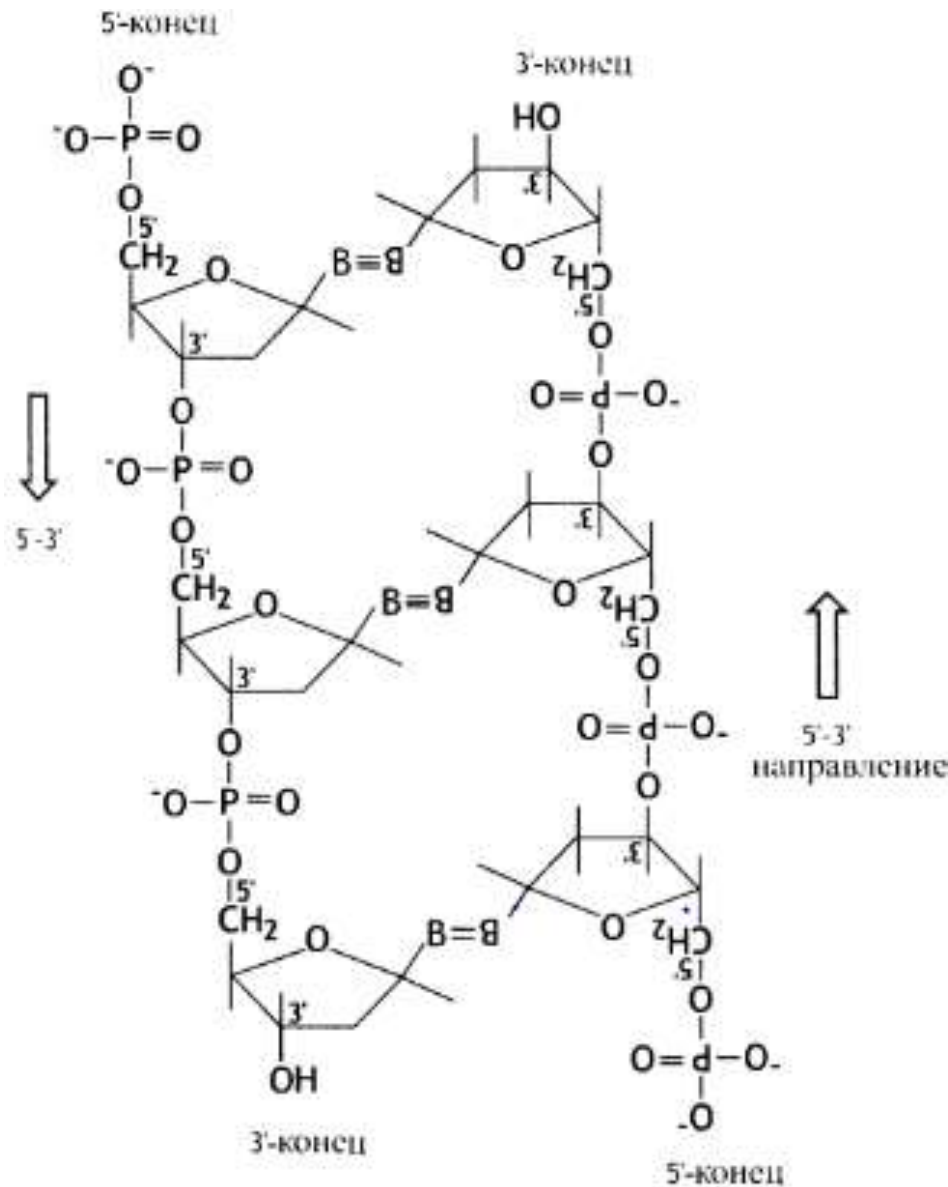
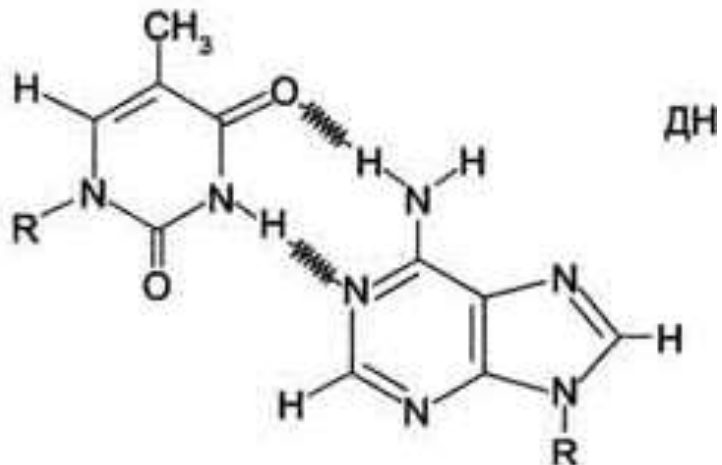
Соединенные вместе пары оснований,
минимально взаимодействующие
своими гидрофобными поверхностями с водой

Вторичная структура ДНК

Цитозин ::: Гуанин
(три водородные связи)



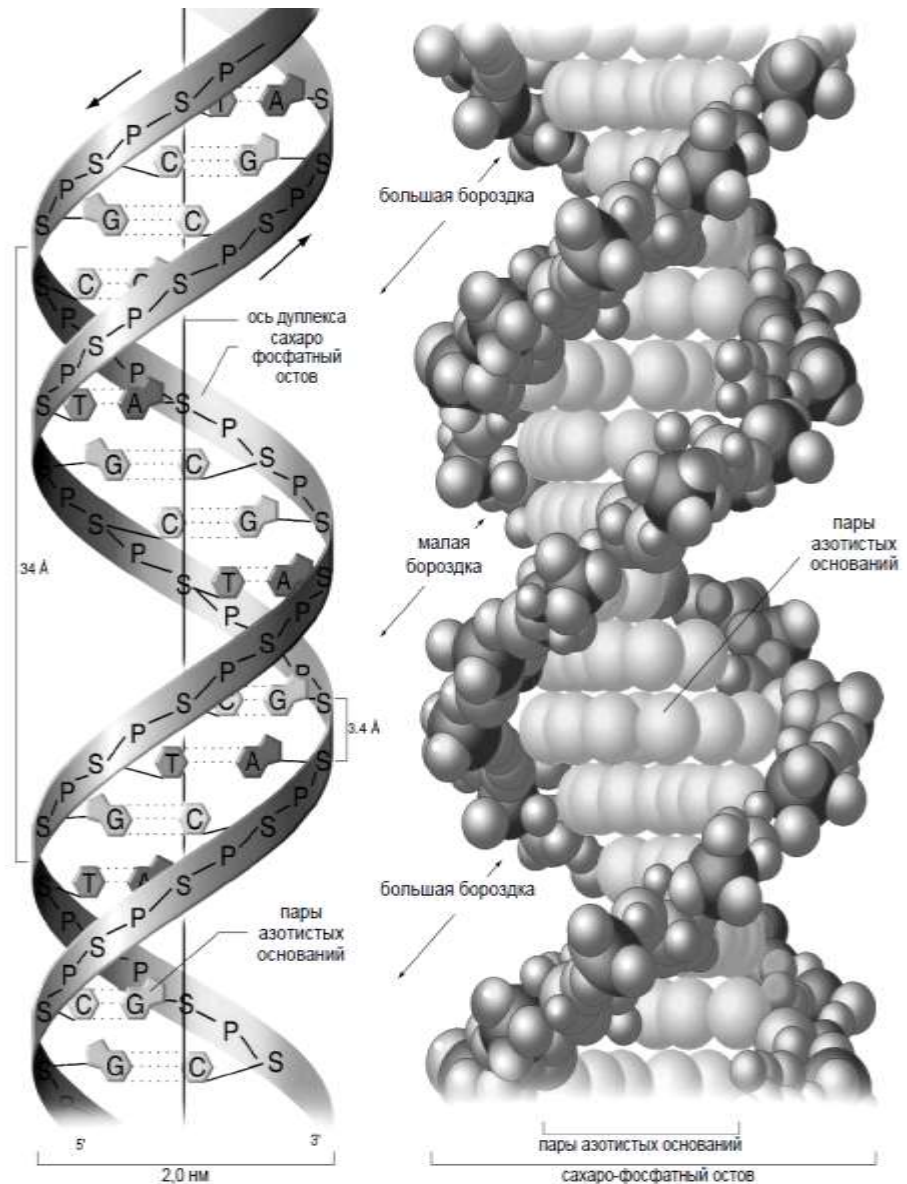
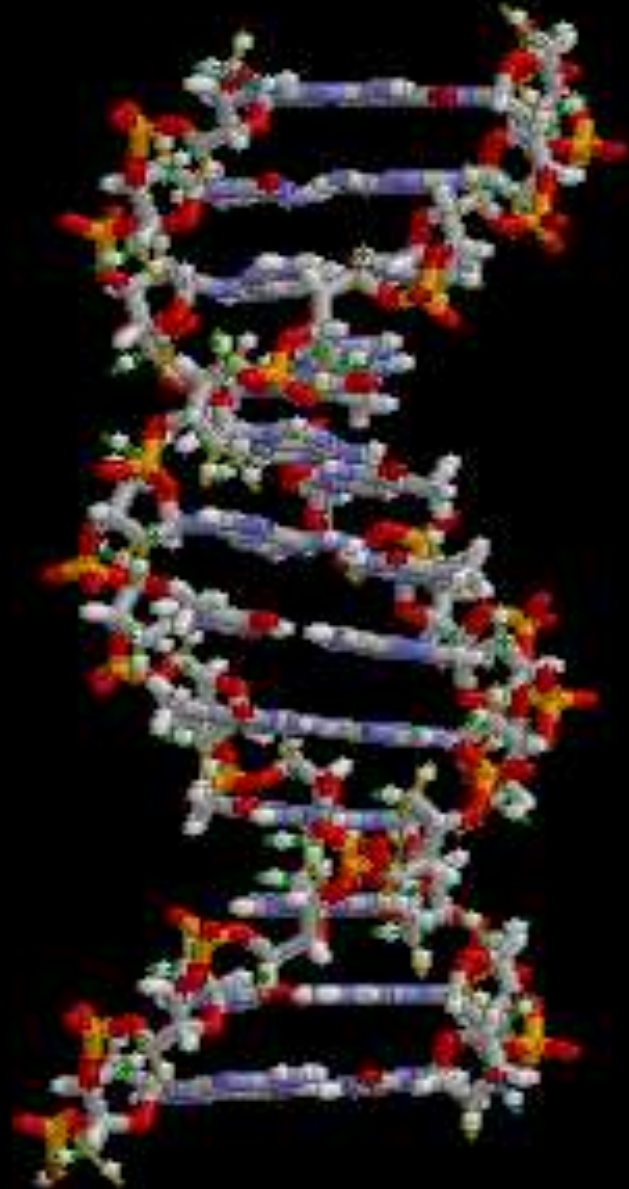
Тимин ::: Аденин
(две водородные связи)



Антипараллельные цепи

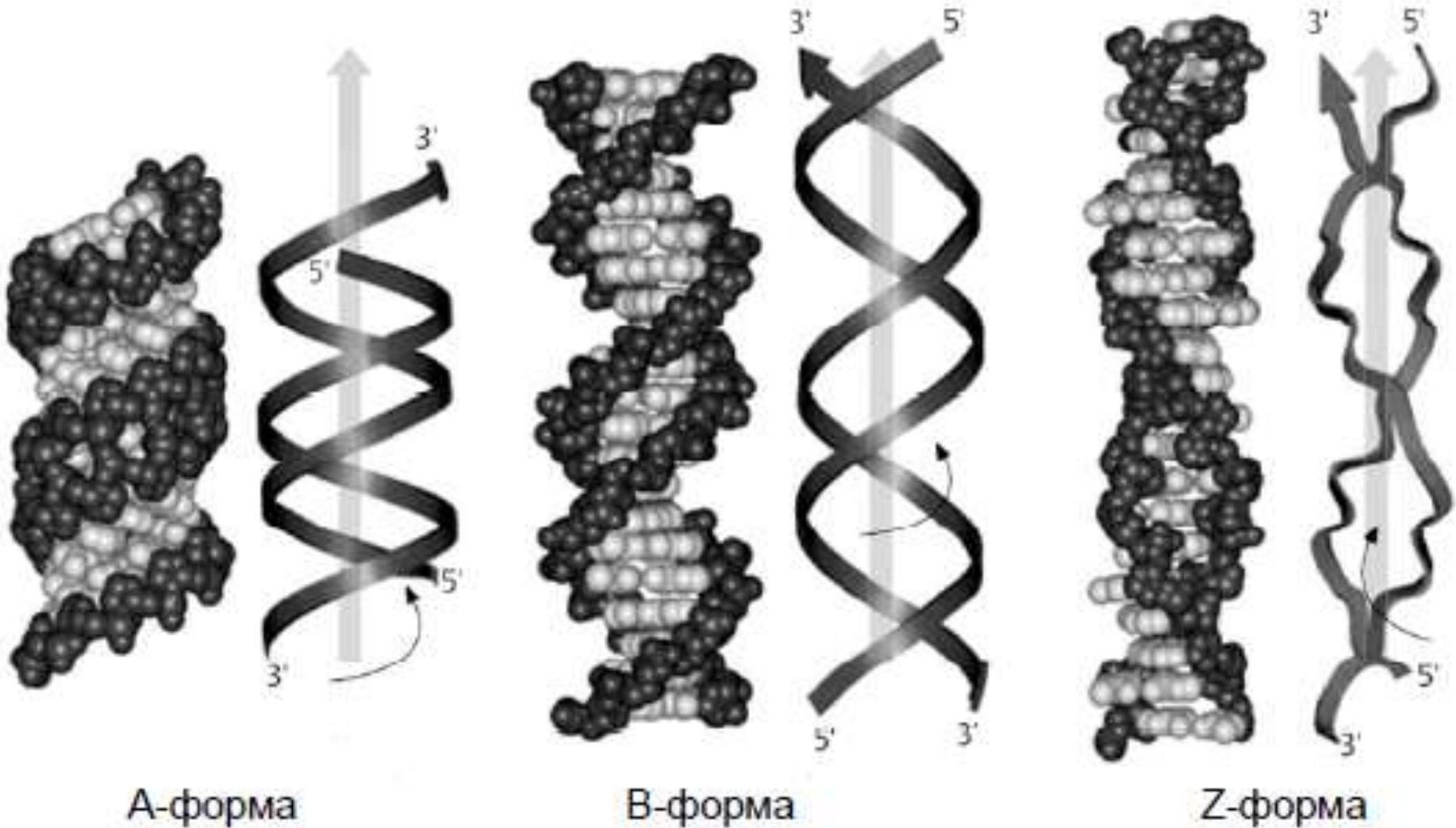
Пары оснований Уотсона-Крика

Вторичная структура ДНК



Двойная пираль ДНК

Конформации ДНК



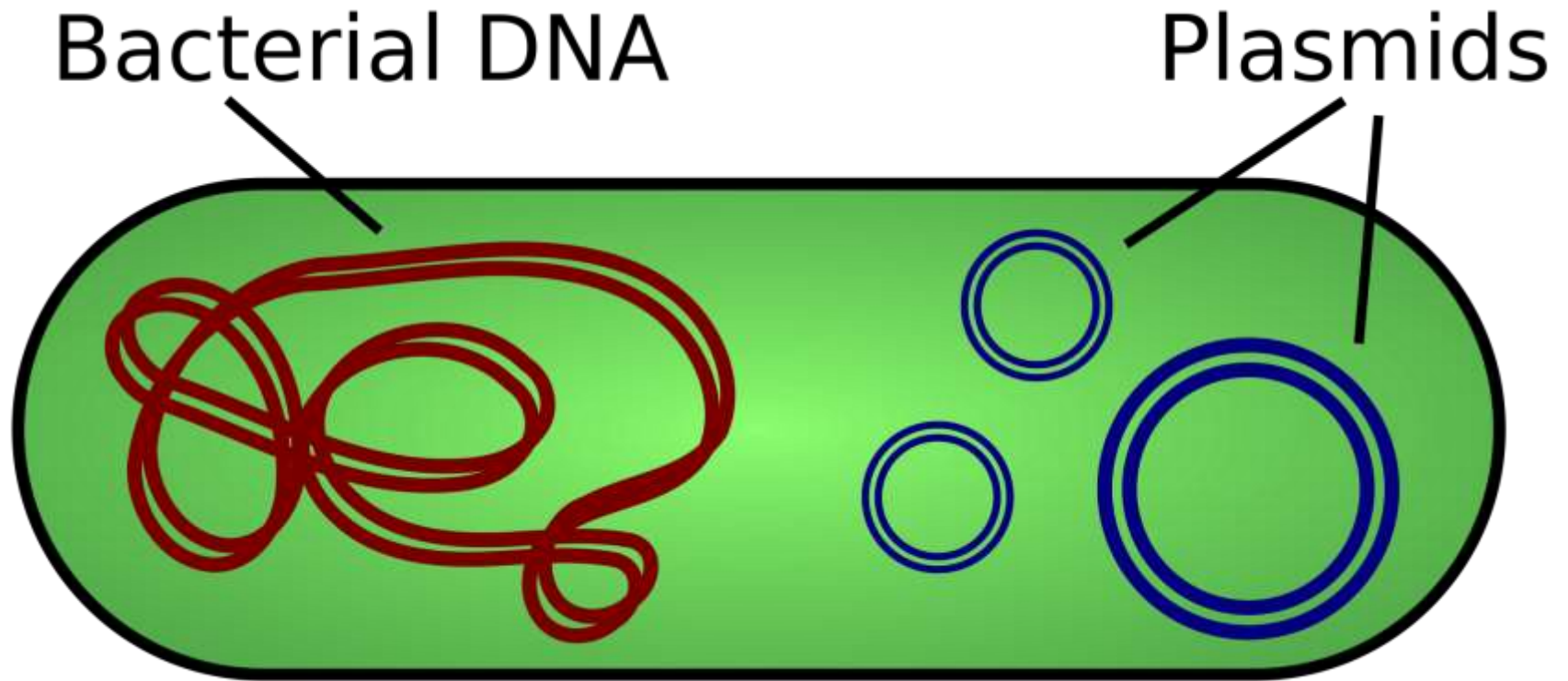
В В-форме ДНК находится обычно в клетке.

В А-форме ДНК встречается в спорах.

В Z-форме ДНК встречается в условиях высокой ионной силы раствора.

Упаковка ДНК (бактерии)

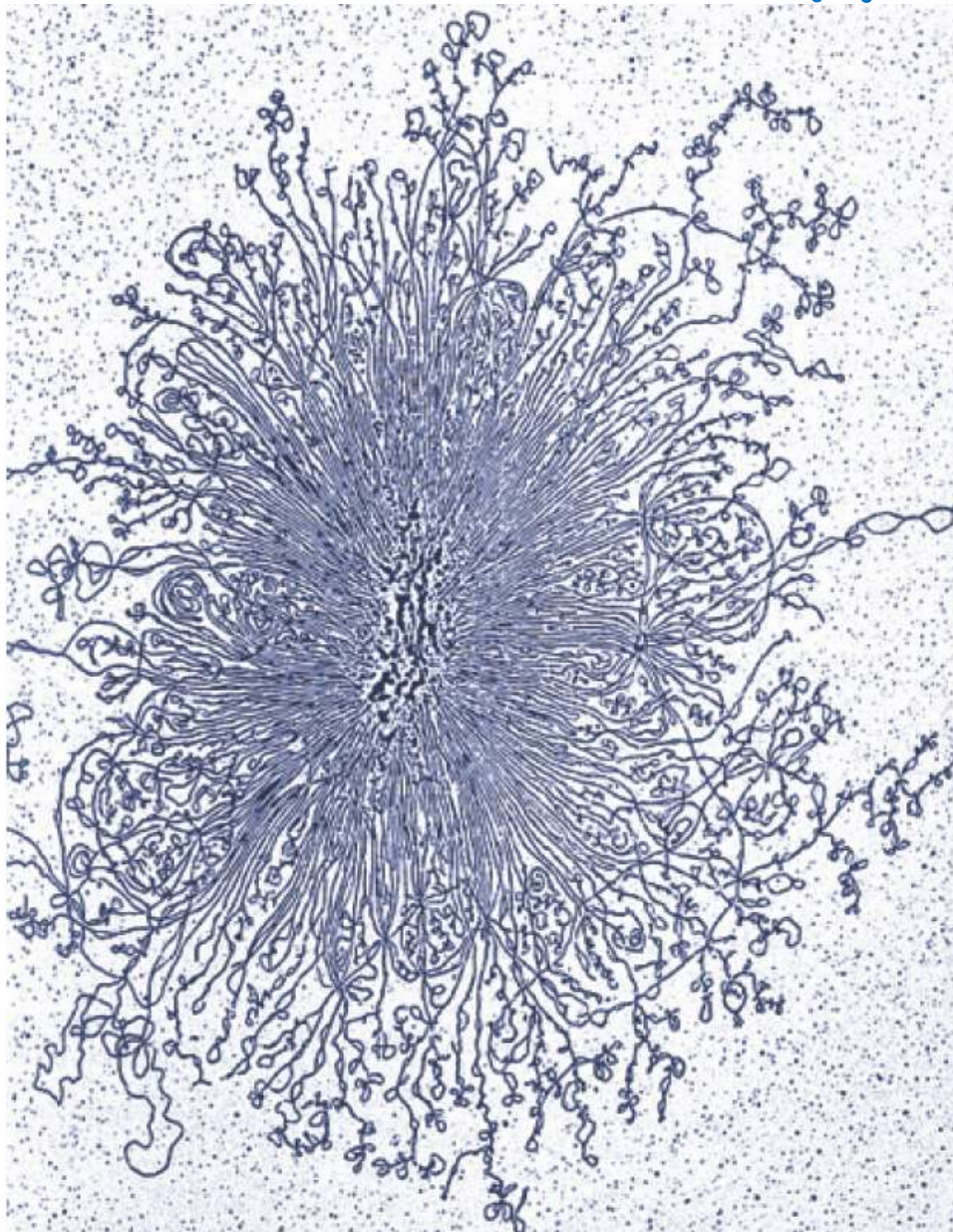
упрощенное представление в прошлом



Упаковка ДНК (бактерии)



Упаковка ДНК (бактерии)



A gently isolated *E. coli* nucleoid bound by cytochrome C, spread on an electron microscope grid, stained with uranyl acetate and visualized by transmission electron microscopy. The length of *E. coli* and *B. subtilis* cells is 2–5 μm , whereas the nucleoid is approximately 20 μm in length.

Most bacteria contain a single circular chromosome of **2–8 Mb**.

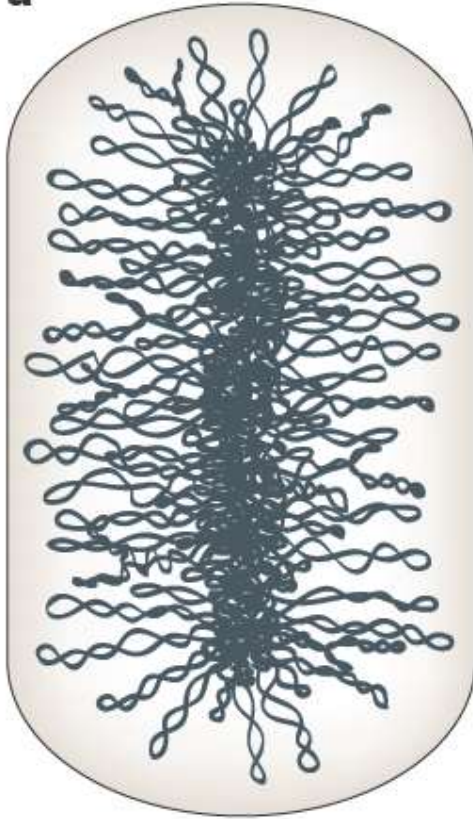
If stretched out, this DNA molecule would be **>1 mm** in length, whereas the space occupied by the nucleoid is <1 μm in diameter.

Accordingly, the chromosome must be linearly **compacted more than 1,000--fold** to fit inside the bacterial cell.

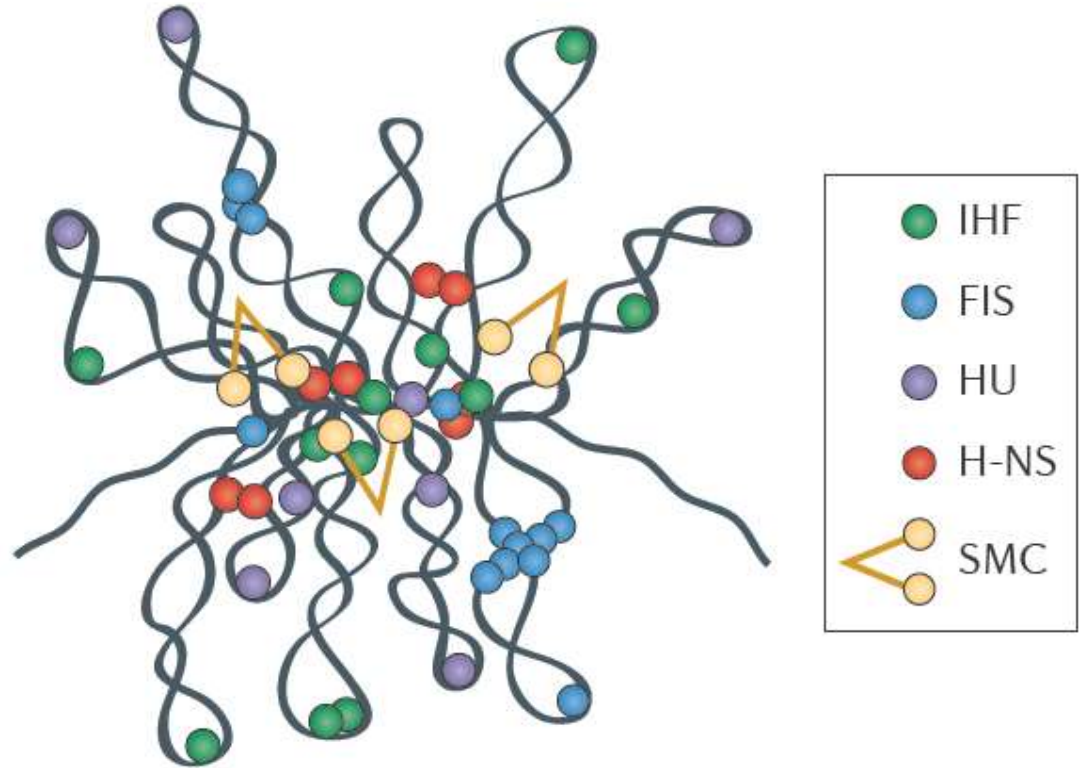
Xindan Wang, Paula Montero Llopis and David Z. Rudner Organization and segregation of bacterial chromosomes. NATURE REVIEWS, GENETICS Vol 14, March, 2013

Упаковка ДНК (бактерии)

a



b Nucleoid-associated proteins and SMC complexes

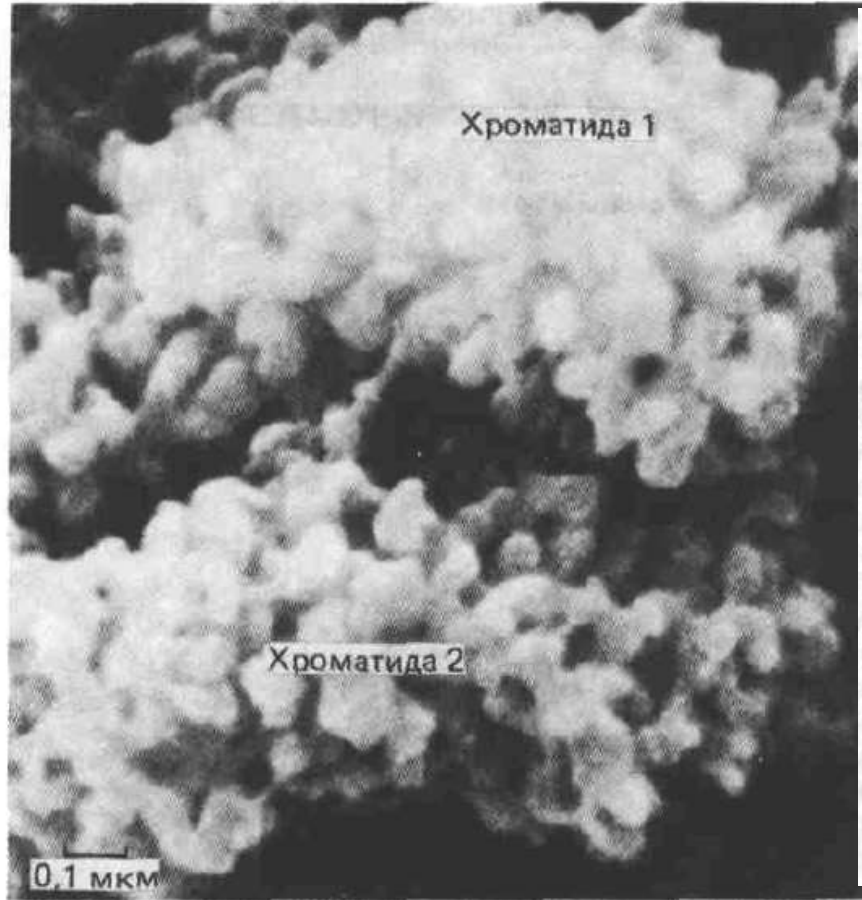


Supercoiled domains

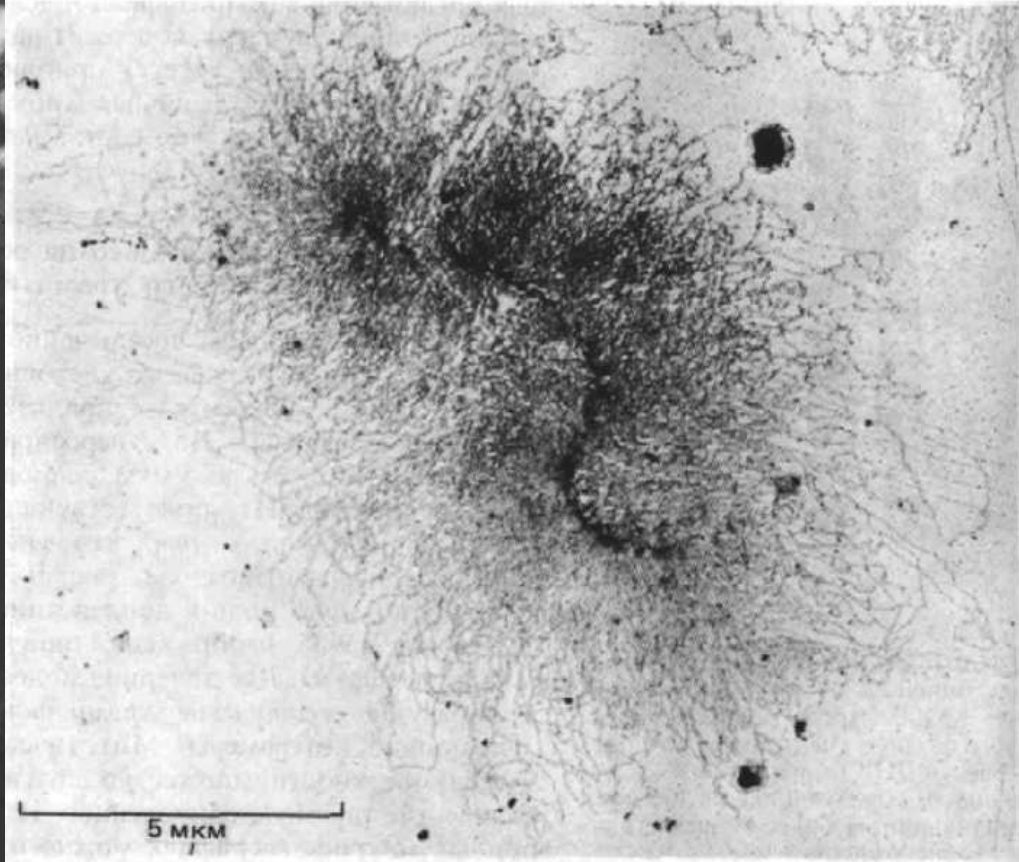
SMC - small nucleoid-associated proteins structural maintenance of chromosome
histone-like proteins are HU, IHF, Fis and H-NS.

Xindan Wang, Paula Montero Llopis and David Z. Rudner Organization and segregation of bacterial chromosomes. NATURE REVIEWS, GENETICS Vol 14, March, 2013

Упаковка ДНК в ядре



Микрофотография участка типичной высококонденсированной митотической хромосомы, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа.



Электронная микрофотография одиночной хроматиды митотической хромосомы насекомого

Упаковка ДНК в ядре

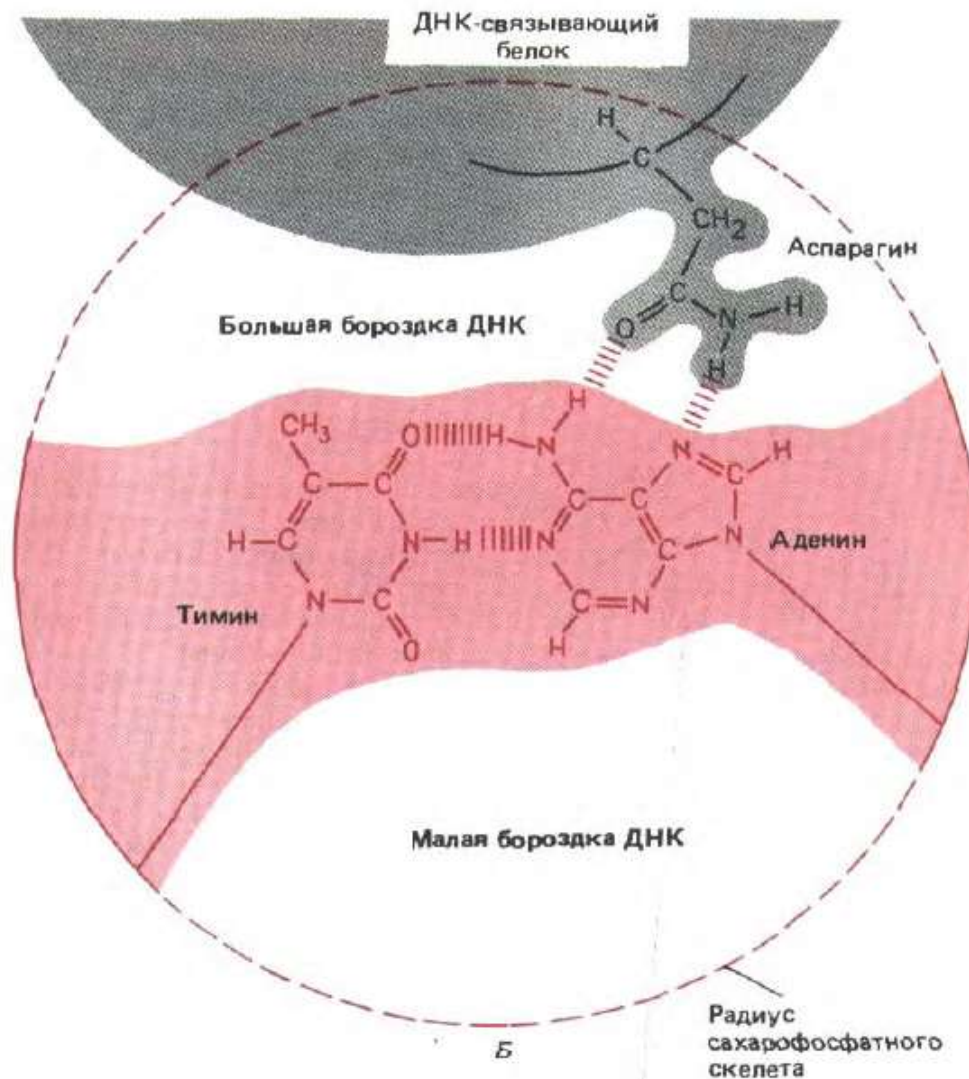
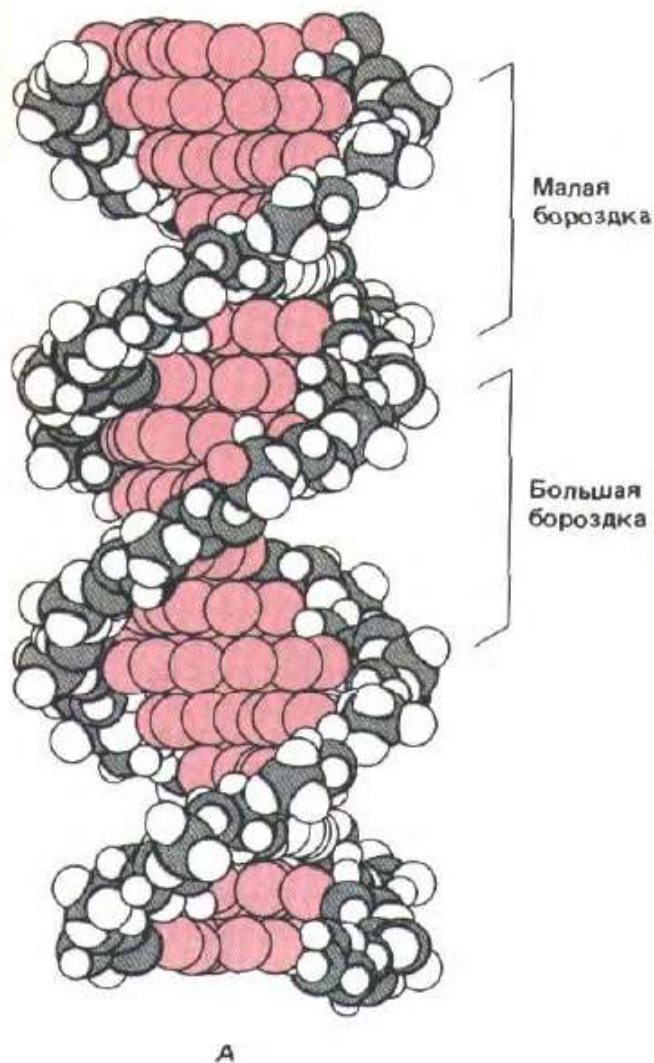
Геном человека представлен 6×10^9 парами нуклеотидов, распределенных в 46 хромосомах.

В ДНК 1 млн. «букв» (нуклеотидов) уместается на отрезке прямой, длина которого равна $3,4 \times 10^5$ нм,

т.е человеческий геном примерно **2,04 м**

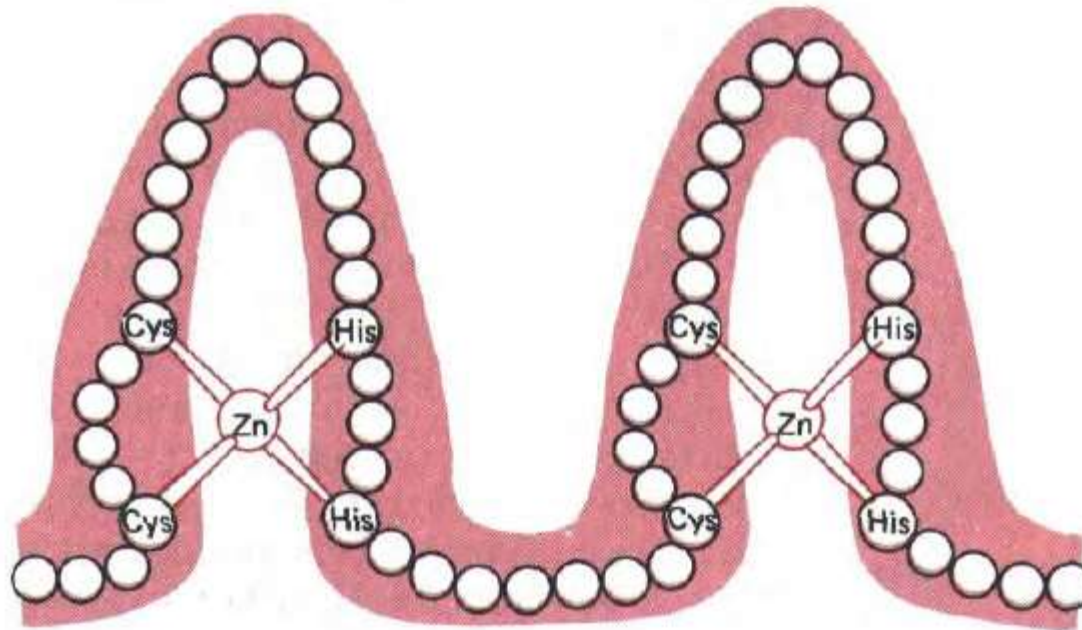
Упаковка ДНК в ядре

ДНК-связывающие белки

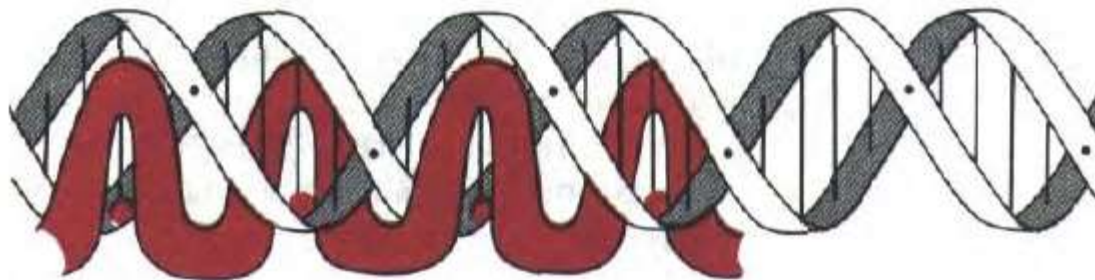


Упаковка ДНК в ядре

ДНК-связывающие белки



А

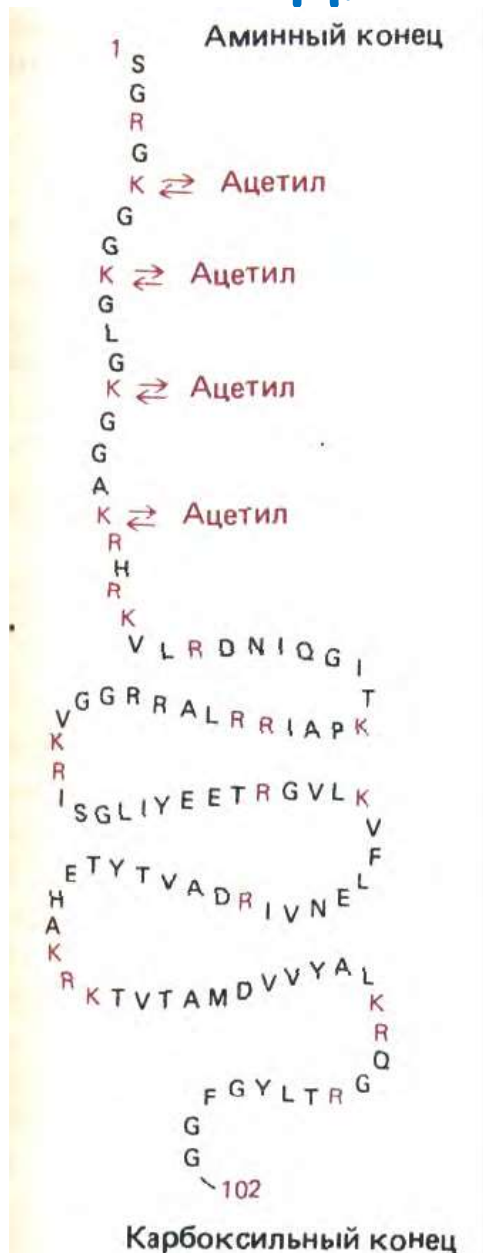


Б

Семейство сайт-специфических ДНК-связывающих белков типа «цинковые пальцы» **РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИИ и РЕПЛИКАЦИИ**

Упаковка ДНК в ядре

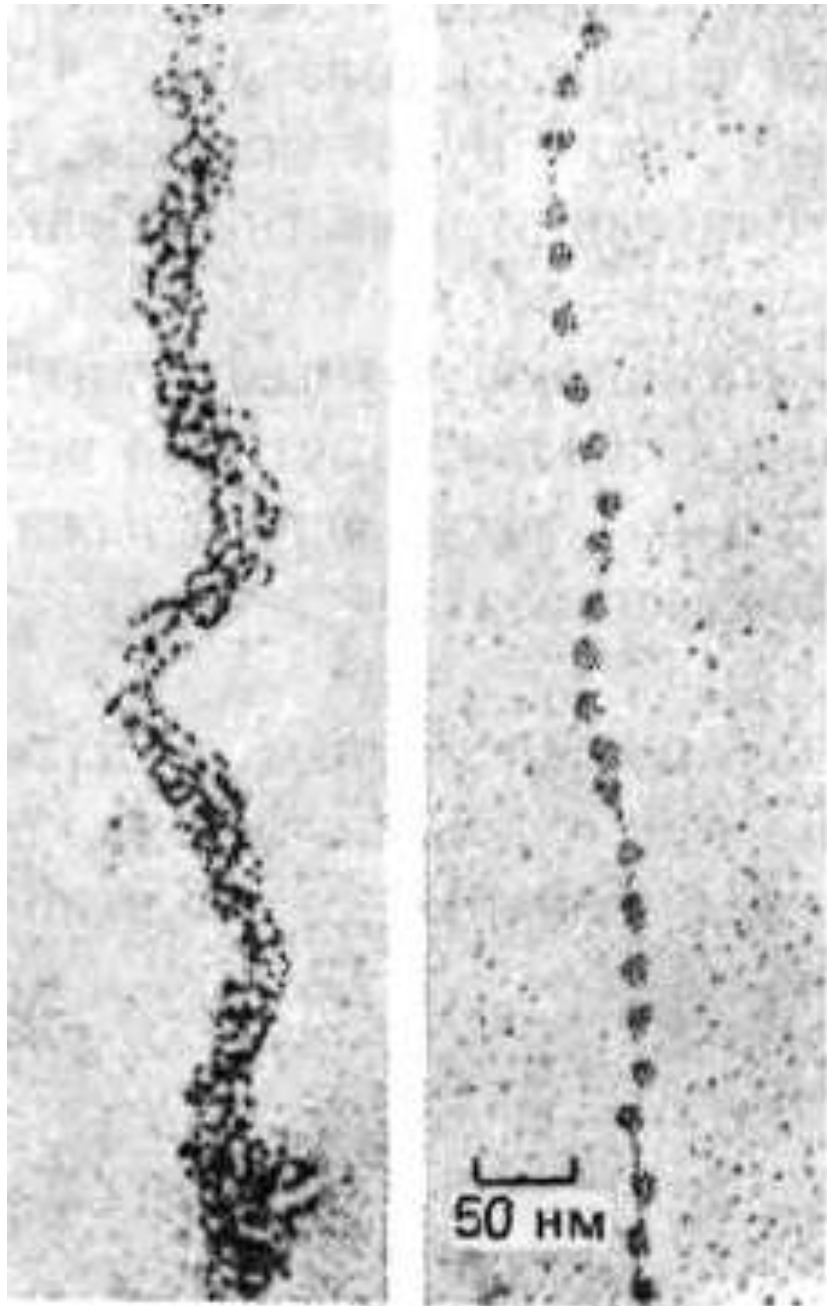
ДНК-связывающие белки. Гистоны.



высокое содержание положительно заряженных аминокислот (лизина и аргинина).

Суммарный положительный заряд позволяет им прочно связываться с ДНК независимо от ее нуклеотидного состава.

Упаковка ДНК в ядре



А) Нуклеосома

Б) Нуклеосома с
линкерными
участками ДНК

В) нить хроматина 30
нм толщиной

Г) Петли этой нити,
прикрепленные к
центральному
поддерживающему
белку.

Упаковка ДНК в ядре



Строение нуклеосом.
Нуклеосомные частицы состоят из двух полных витков ДНК (83 нуклеотидных пары на виток), закрученных вокруг ко́ра, представляющего собой гистоновый октамер (2х4 гистона), и соединяются между собой линкерной ДНК.

Упаковка ДНК в ядре

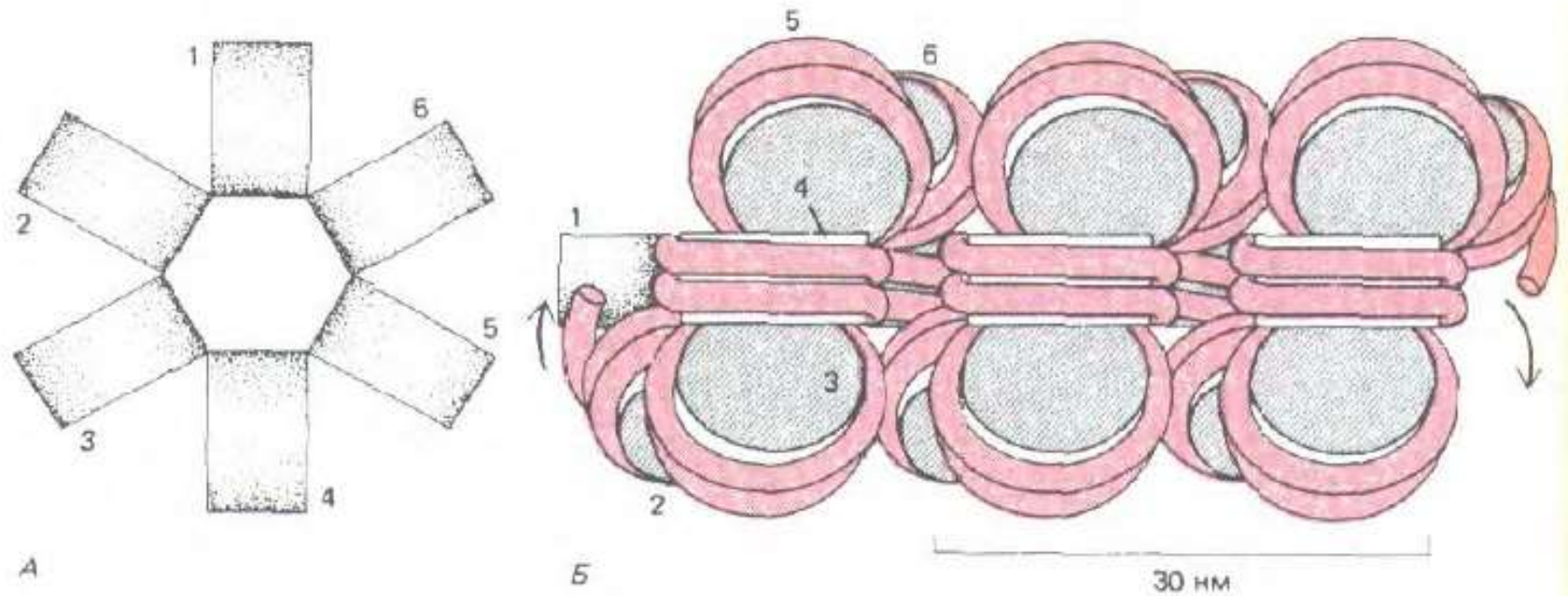


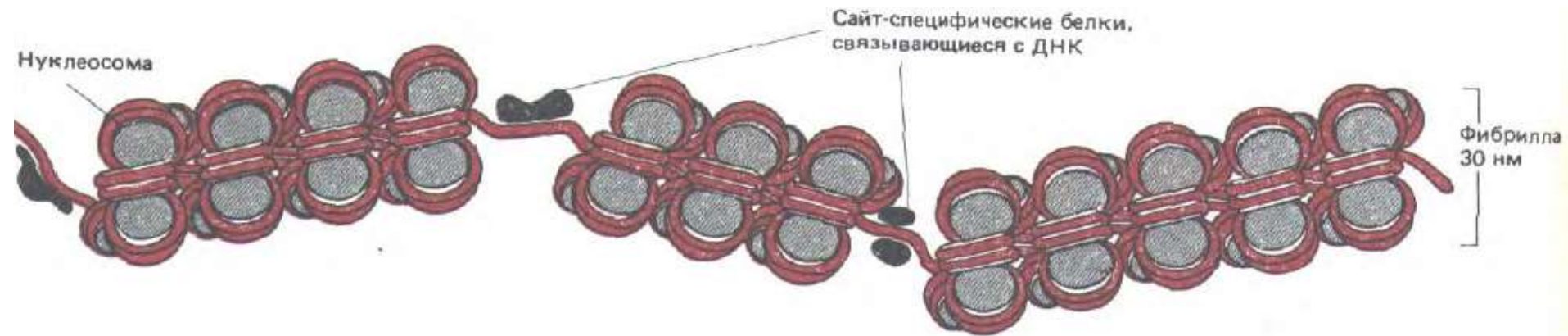
Рис. 9-26. Модель, предложенная для объяснения упаковки нуклеосомной нити в составе 30 нм-фибриллы, наблюда

Упаковка ДНК в ядре

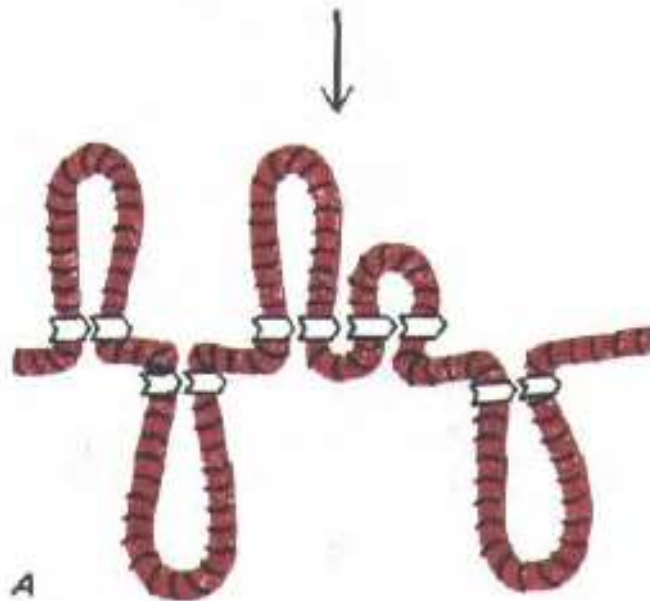
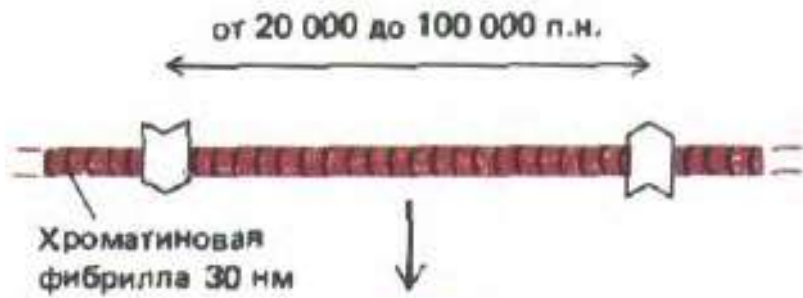
Глобулярная часть Н1И связывается с каждой нуклеосомой вблизи сайта, в котором спираль ДНК входит и выходит с гистонового октамера.



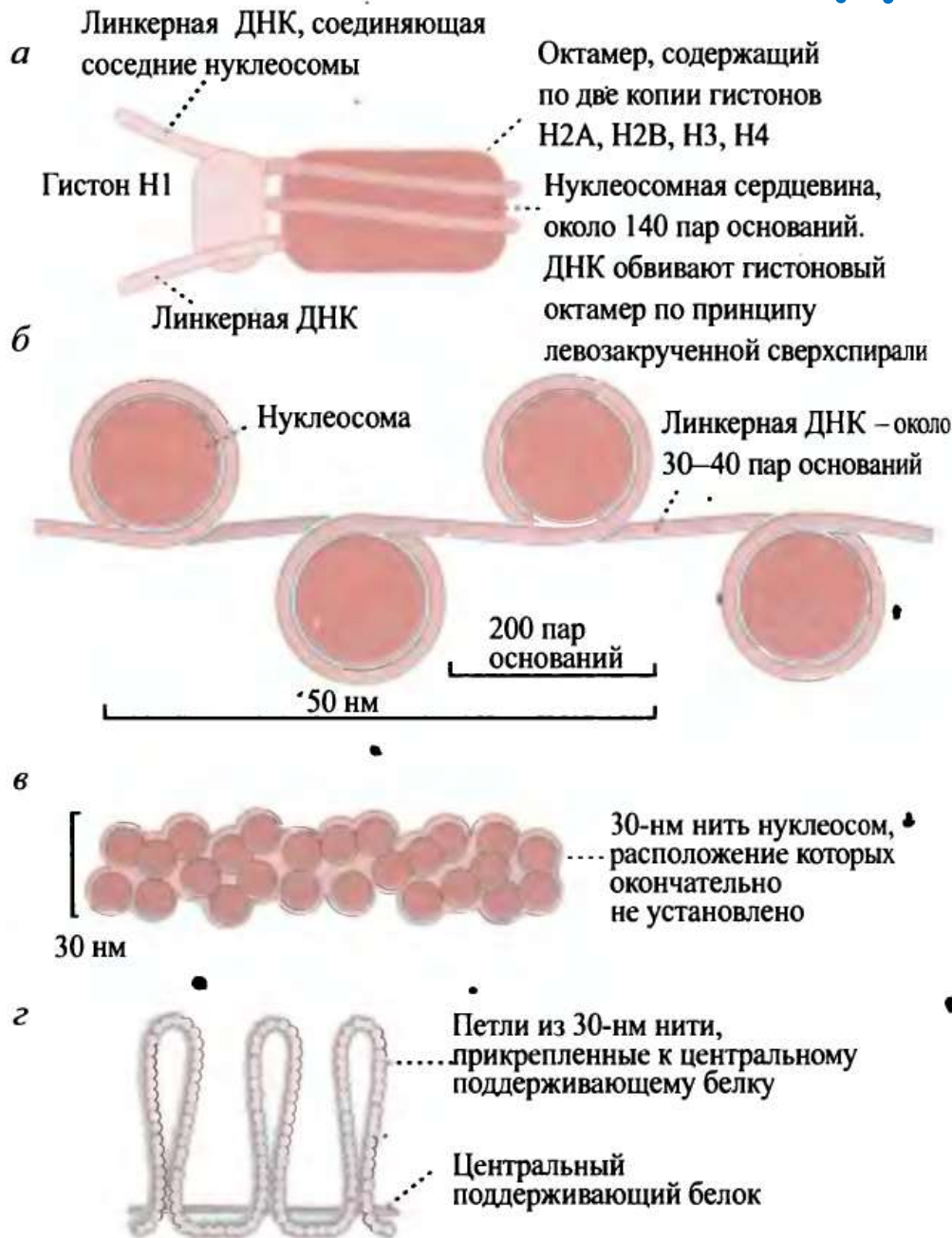
Упаковка ДНК в ядре



Упаковка ДНК в ядре



Упаковка ДНК в ядре



А)Нуклеосома

Б) Нуклеосома с
линкерными

участками ДНК

В) нить хроматина 30
нм толщиной

Г) Петли этой нити,
прикрепленные к
центральному
поддерживающему
белку.

Упаковка ДНК в ядре

Короткий участок
двойной спирали ДНК



Хроматин в форме
"бусин на нити"



Хроматиновая фибрилла
30 нм, состоящая из
упакованных нуклеосом



Часть хромосомы
в растянутом виде



Конденсированный
участок метафазной
хромосомы



Целая метафазная
хромосома



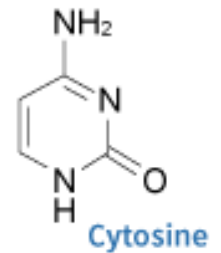
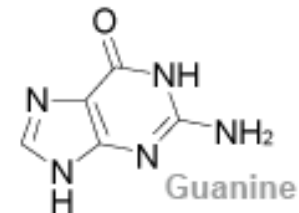
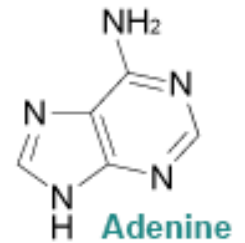
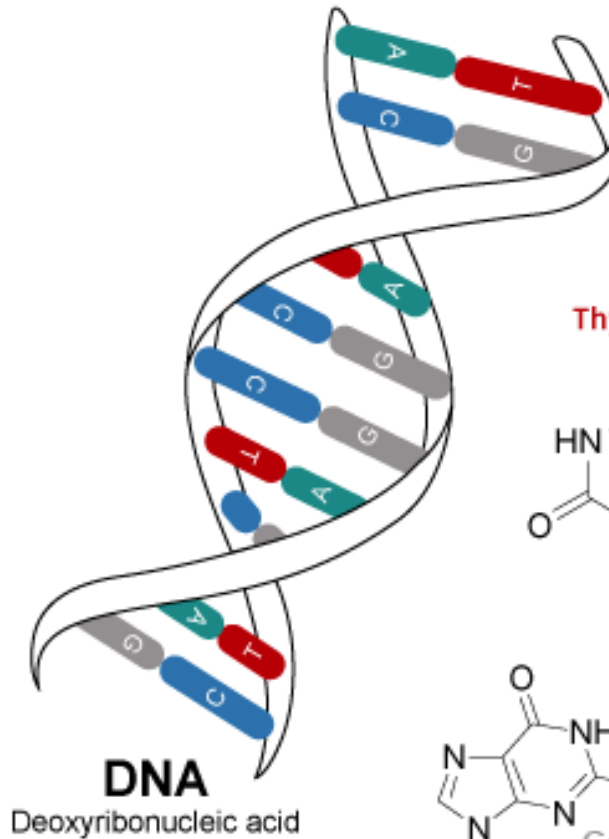
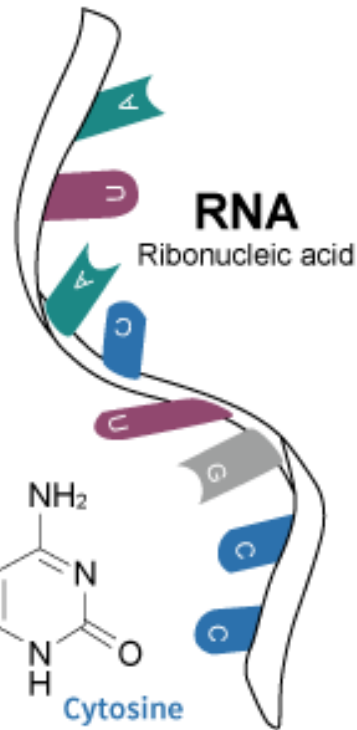
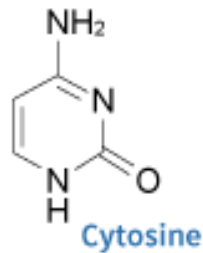
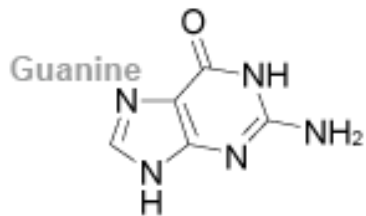
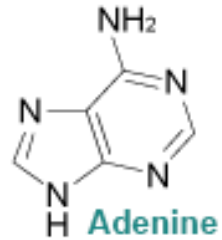
Роль ДНК

- 1.Хранение наследственной информации и её передача из поколения в поколение.
- 2.Является матрицей в реализации генетической информации, регулирует во времени и пространстве биосинтез компонентов клетки.
- 3.Определяет деятельность клетки и организма в течение жизненного цикла.
- 4.Обеспечивает индивидуальность данного организма.

Дополнительно

DNA animation (2002-2014) by Drew
Berry and Etsuko Uno wehi.tv
#ScienceArt - YouTube

Рибонуклеиновая кислота



Рибонуклеиновая кислота

Информационная РНК / mRNA

Рибосомальная РНК / rRNA (16S, 18S, 30S)

Транспортная РНК / tRNA,

Регуляторные РНК:

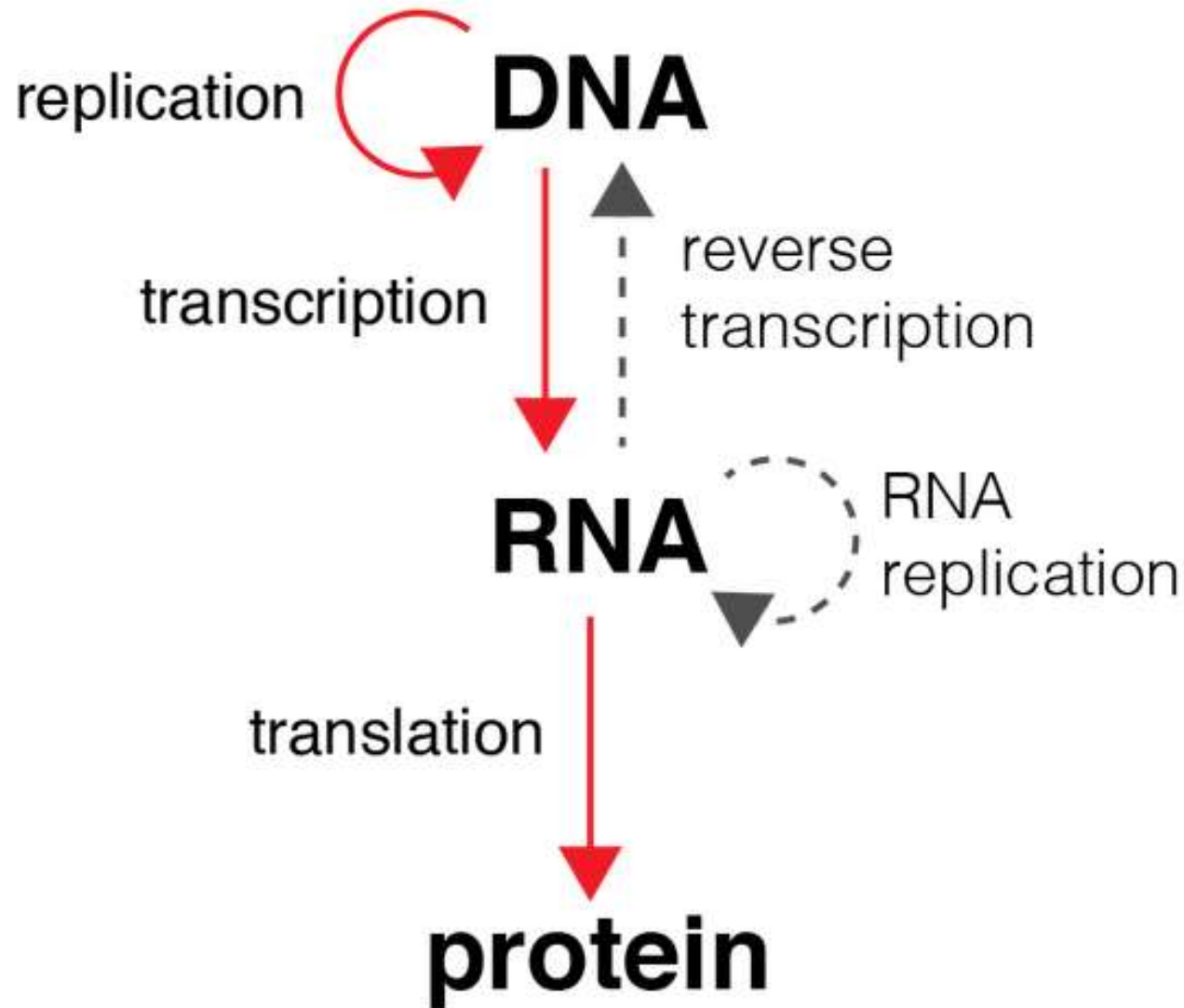
Small interfering RNA (siRNA) они же short interfering RNA or silencing RNA – связываются с mRNA и индуцируют ее гидролиз - предотвращают трансляцию.

MicroRNA (miRNA) – связываются с mRNA и блокируют трансляцию

А так же несколько семейств некодирующих РНК, регулирующих экспрессию генов, метилирование и другие процессы в геноме.

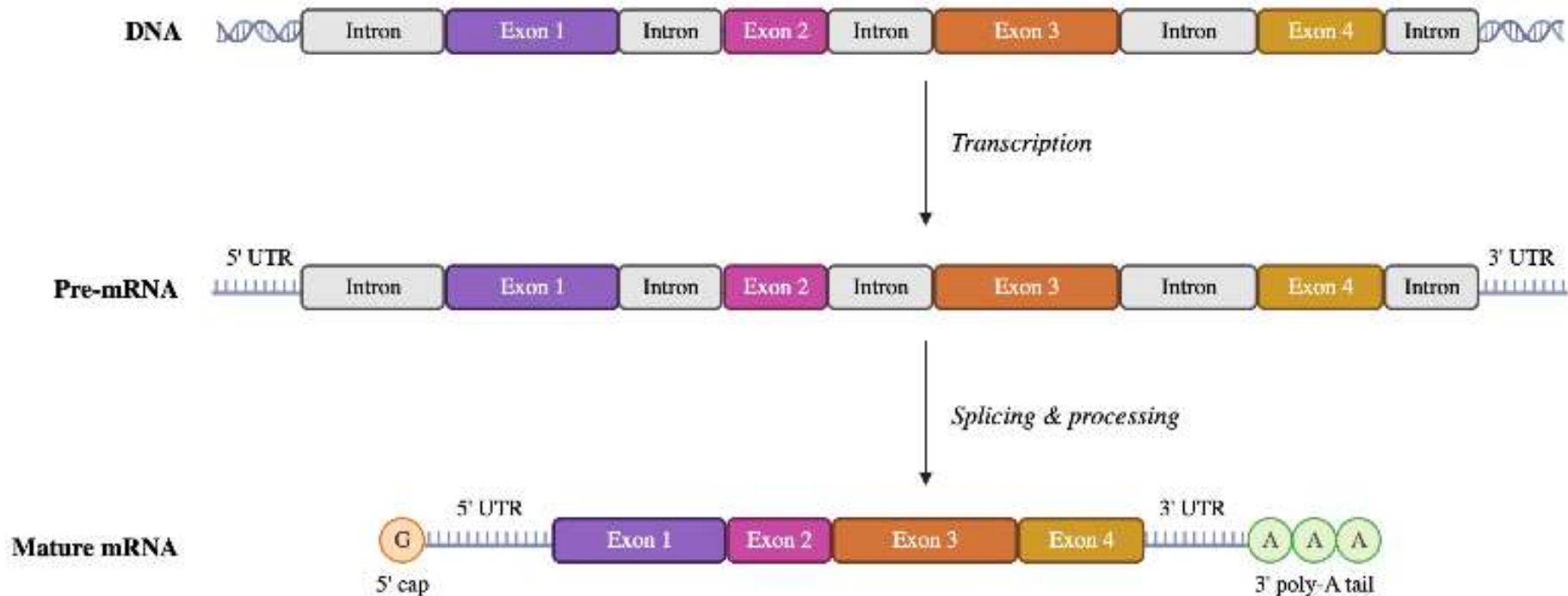
Информационная РНК / mRNA

Центральная догма молекулярной биологии.



Информационная РНК / mRNA

RNA Processing in Eukaryotes

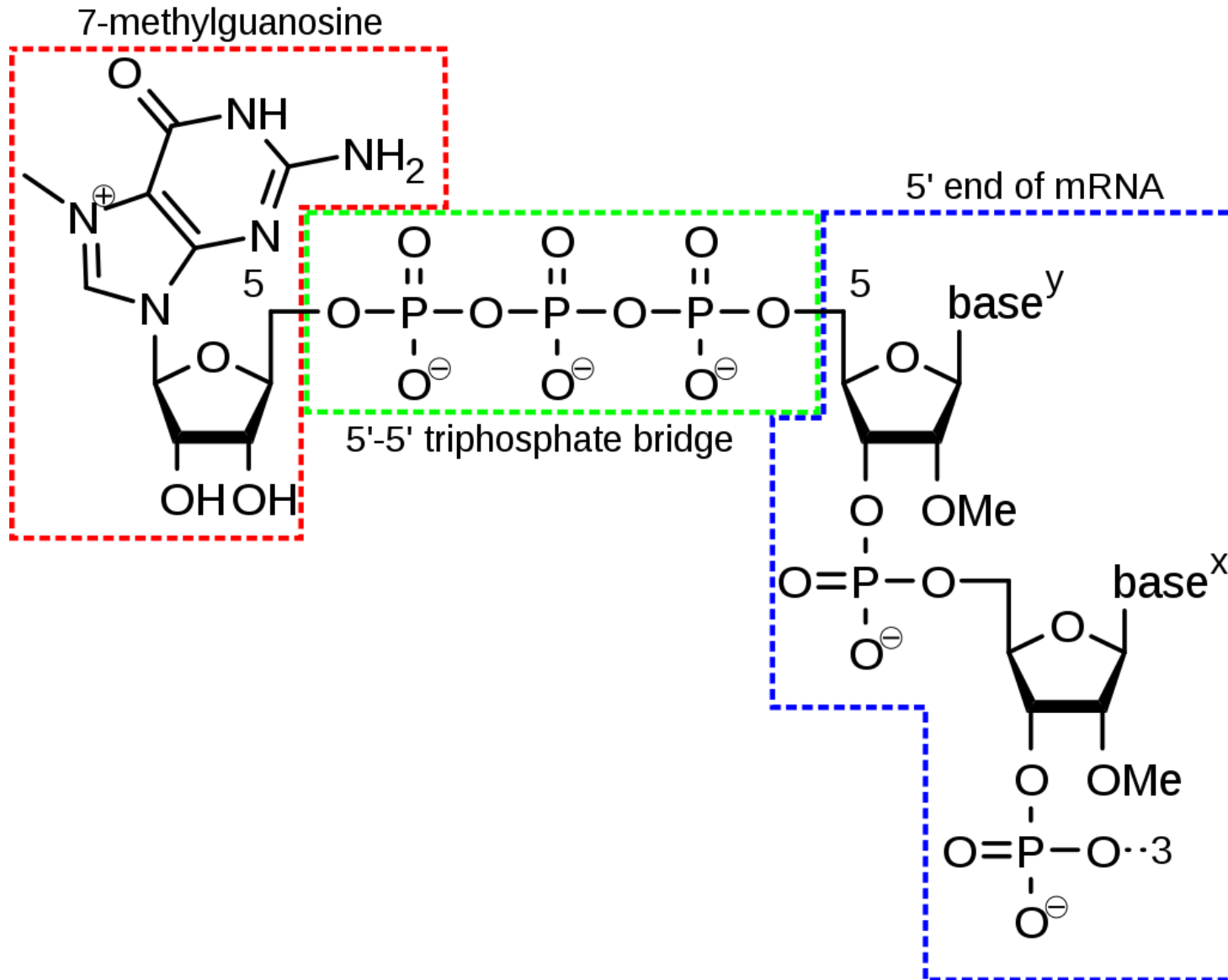


Регуляторные последовательности

5' untranslated region (also known as **5' UTR**, **leader sequence**, **transcript leader**, or **leader RNA**)

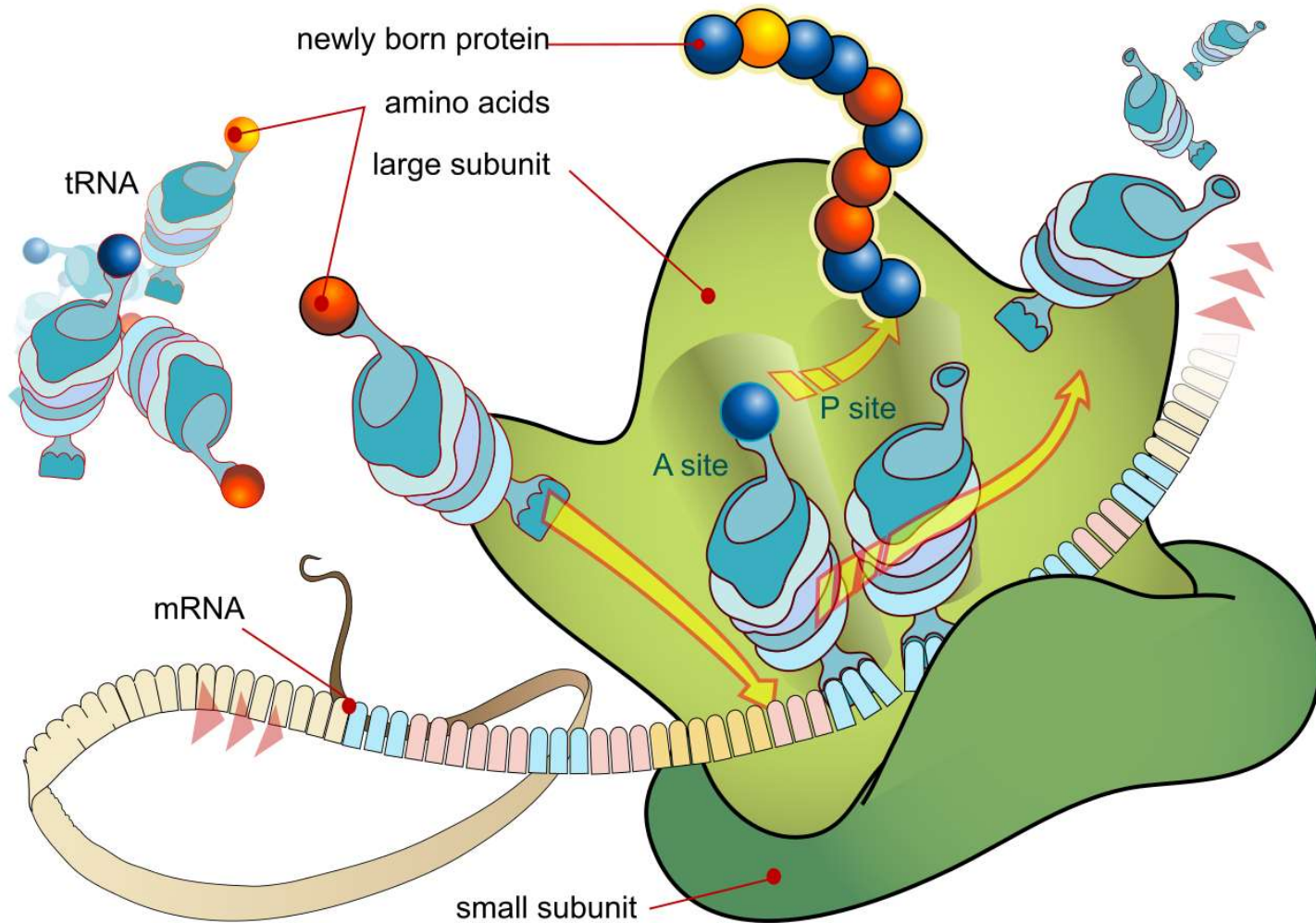
the **three prime untranslated region (3'-UTR)**

Информационная РНК / mRNA



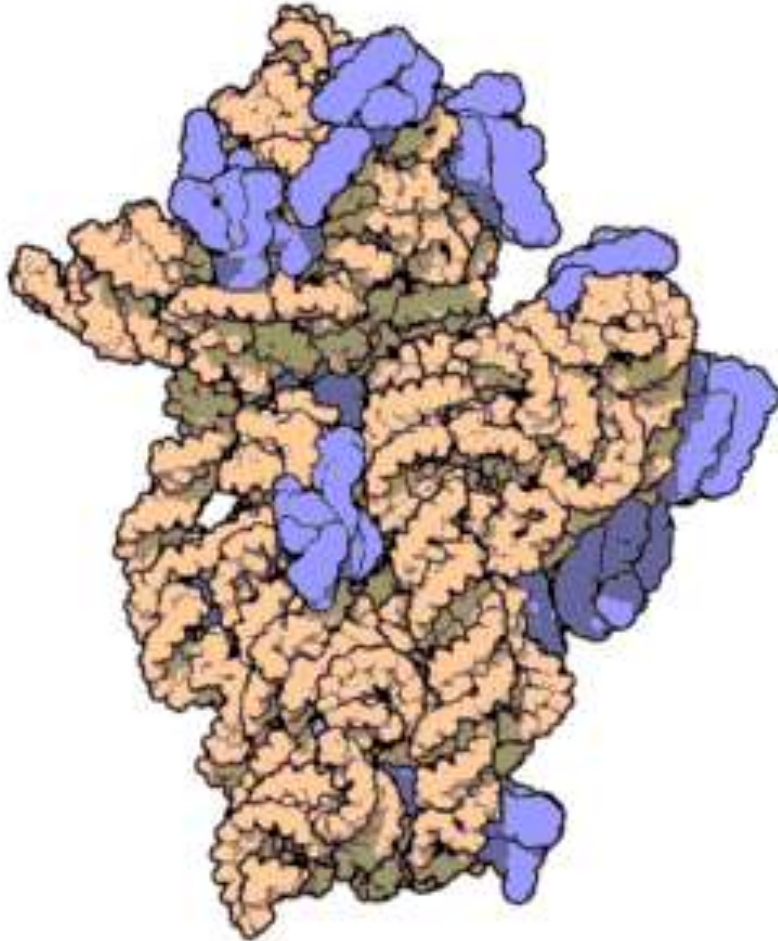


Рибосомальная РНК / rRNA



Рибосома – 2 субъединицы (большая и малая)

Рибосомальная РНК / rRNA



Роль скелета, вокруг которого собираются белки рибосомы.

An example of a fully-assembled small subunit of ribosomal RNA in prokaryotes, specifically *Thermus thermophilus*. The actual ribosomal RNA (16S) is shown coiled in orange with ribosomal proteins attaching in blue.

Каталитическая активность

Связывание с иРНК, старт трансляции

Рибосомальная РНК / rRNA

Прокариоты: 16S – малая субъединица,
23S, 5S - большая

Дрожжи: 18S - малая,
25S, 5S, 5.8S - большая

Многоклеточные эукариоты:
18S - малая,
28S, 5S, 5.8S – большая

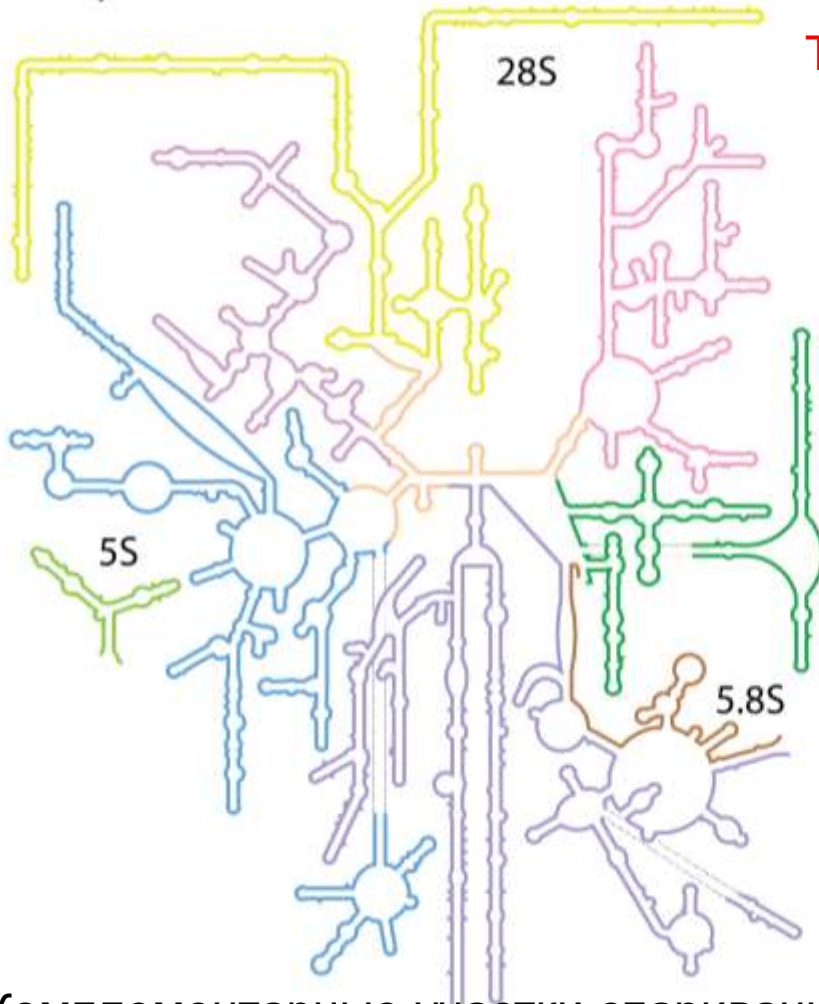
Митохондриальные рибосомы:
12S – малая;
16S – большая

S – Swedberg, единица коэффициента седиментации ($s=V/a$)

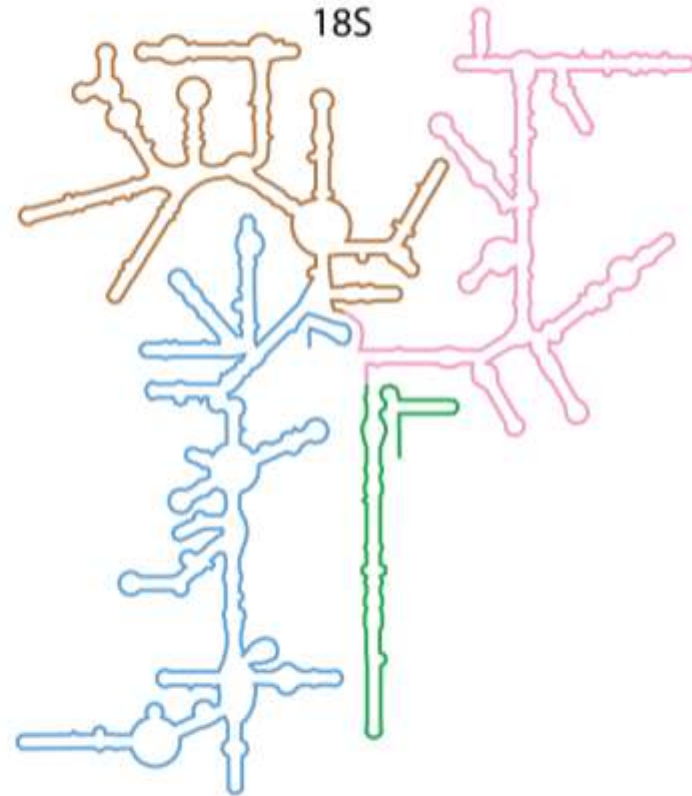
Рибосомальная РНК / rRNA

H. sapiens LSU

H. sapiens SSU



Третичная структура РНК – шпильки и петли.



Комплементарные участки спаривания.

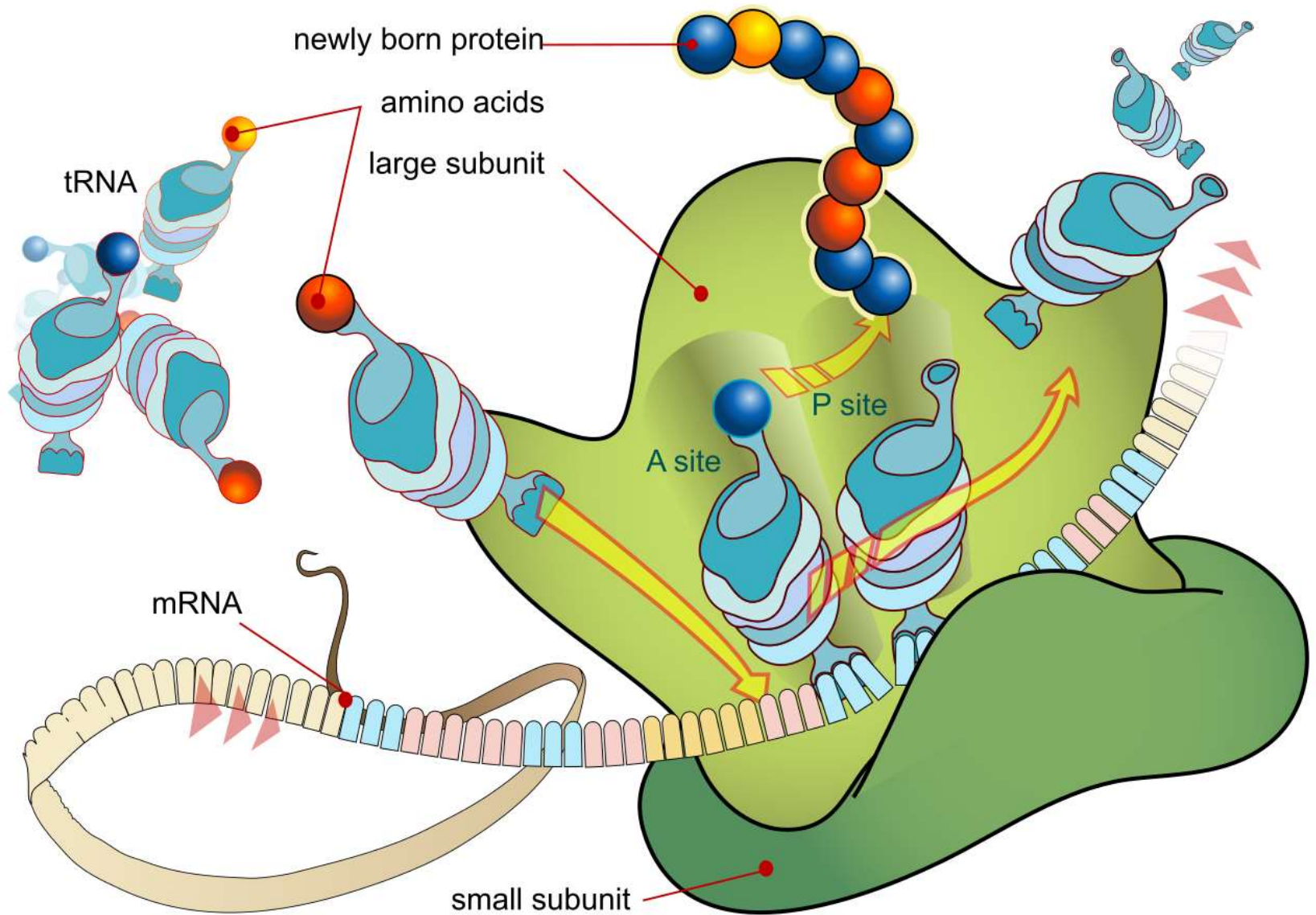
Топологические сложности образования двуспиральной РНК (хотя такие есть у вирусов).

Вероятность встречи соседних нуклеотидов выше.

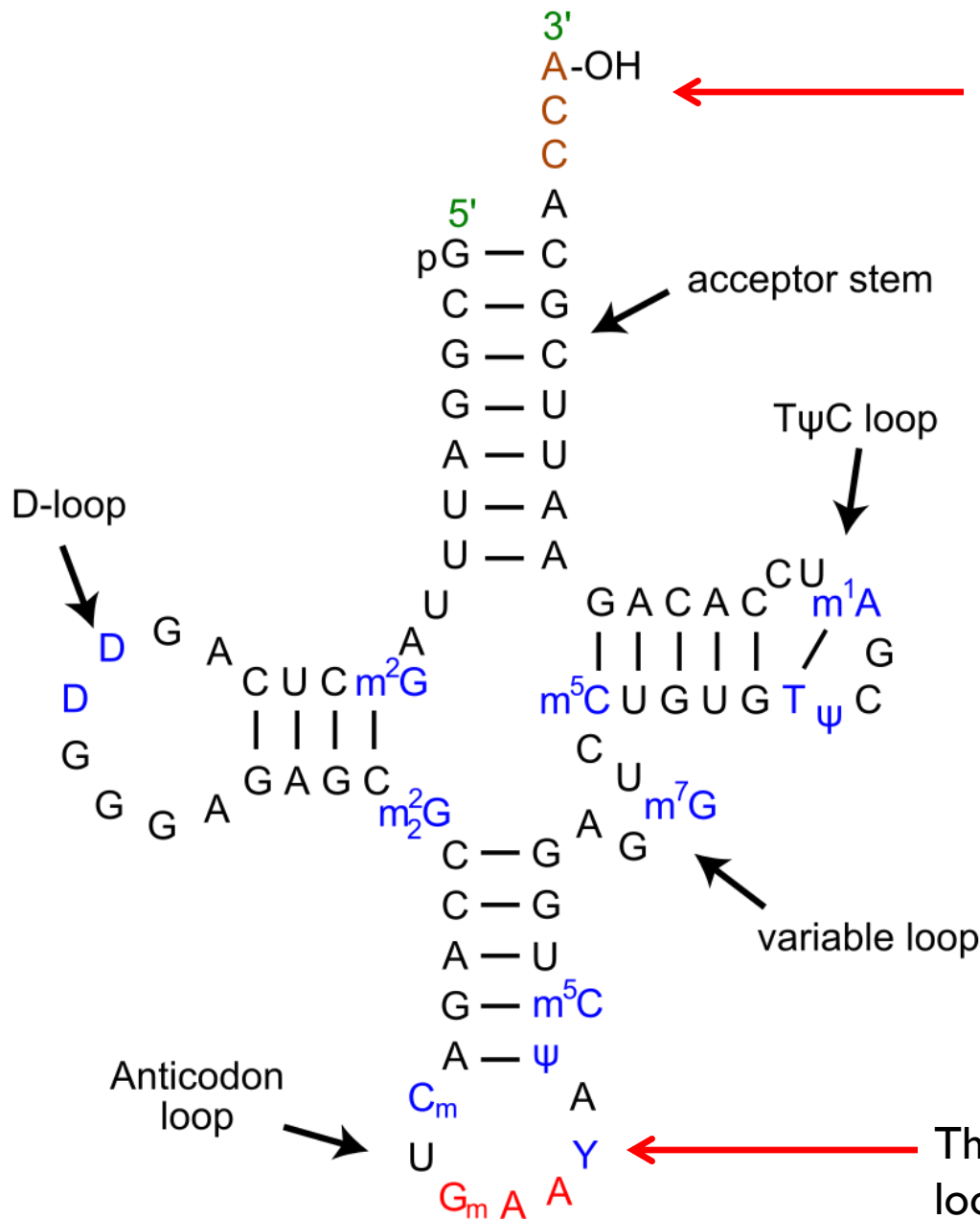
Термодинамически шпильки выгоднее больших петель.

Четвертичная структура – комплексы с белками

Транспортная РНК / tRNA



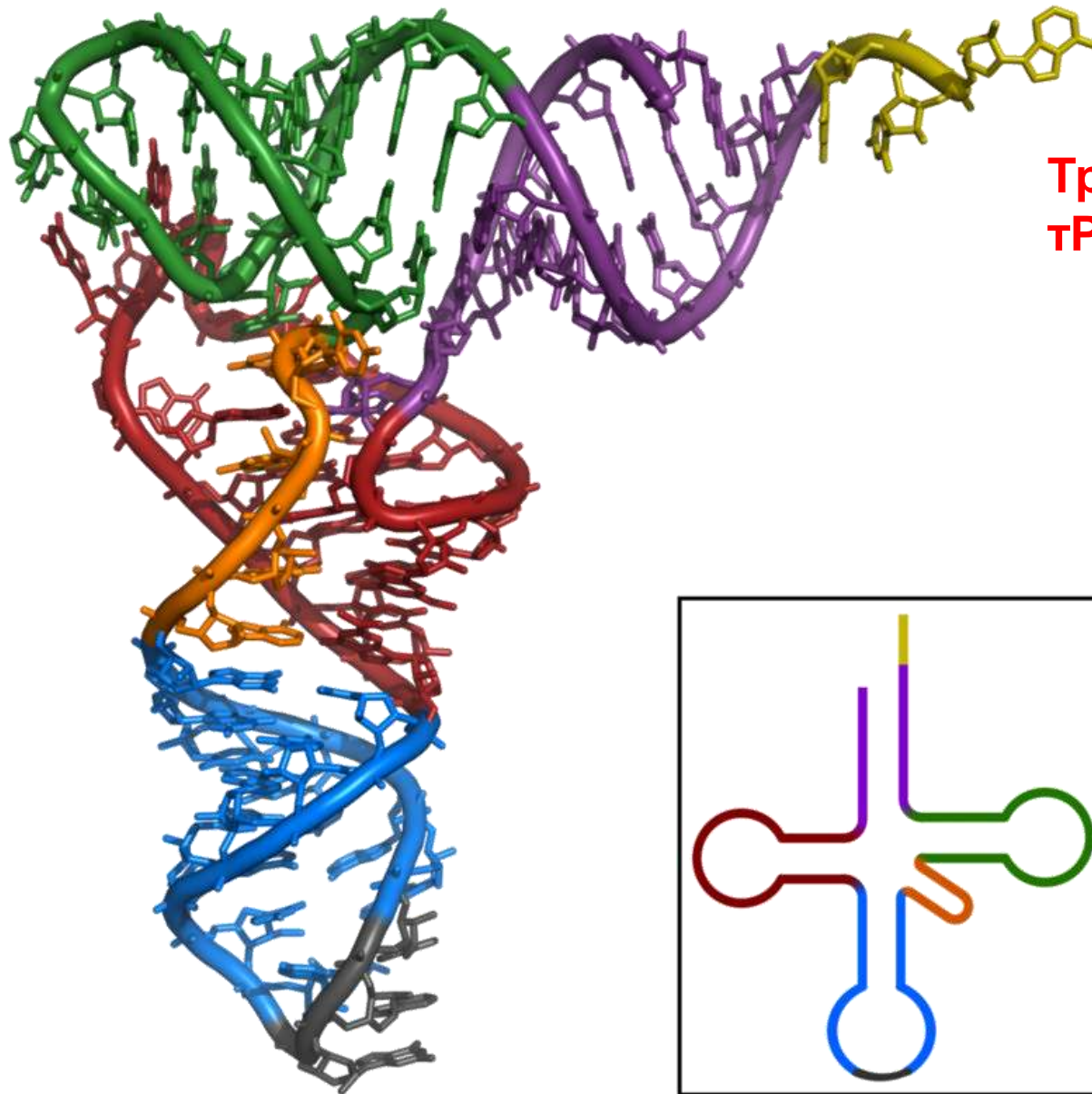
Транспортная (тРНК) / Transfer RNA (tRNA)



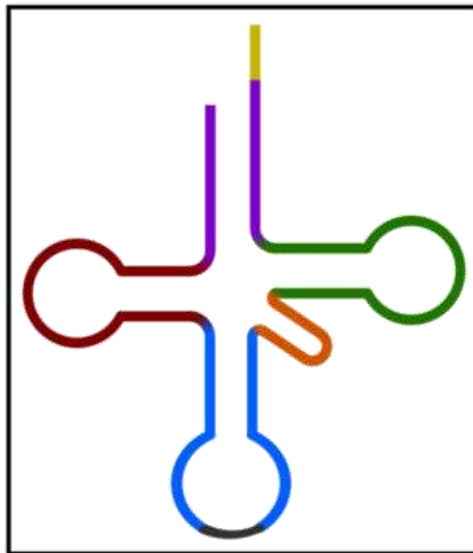
The amino acid loaded onto the tRNA by [aminoacyl tRNA synthetases](#), to form [aminoacyl-tRNA](#), is covalently bonded to the 3'-hydroxyl group on the CCA tail

The **anticodon loop** is a 5-bp stem whose loop contains the [anticodon](#).

Транспортная (тРНК) / Transfer RNA (tRNA)



Третичная структура
тРНК



Рибонуклеиновая кислота

Самостоятельно

Регуляторные РНК:

Small interfering RNA (siRNA) они же short interfering RNA or silencing RNA – связываются с mRNA и индуцируют ее гидролиз - предотвращают трансляцию.

MicroRNA (miRNA) – связываются с mRNA и блокируют трансляцию

А так же несколько семейств некодирующих РНК, регулирующих экспрессию генов, метилирование и другие процессы в геноме.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)



Kary Banks Mullis	December 28, 1944 Lenoir, North Carolina , U.S.
Died	August 7, 2019 (aged 74) Newport Beach, California , U.S.
Alma mater	Georgia Institute of Technology (BS) University of California, Berkeley (PhD)
Awards	William Allan Award (1990) Robert Koch Prize (1992) Nobel Prize in Chemistry (1993) Japan Prize (1993) ^[1]

[The New York Times](#) as "highly original and significant, virtually dividing biology into the two epochs of before PCR and after PCR."

ПЦР. Состав реакционной смеси (простейший вариант).

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* (Taq-полимераза), *Pyrococcus furiosus* (Pfu-полимераза), *Pyrococcus woesei* (Pwo-полимераза), *Thermus thermophilus* (Tth-полимераза) и другие.

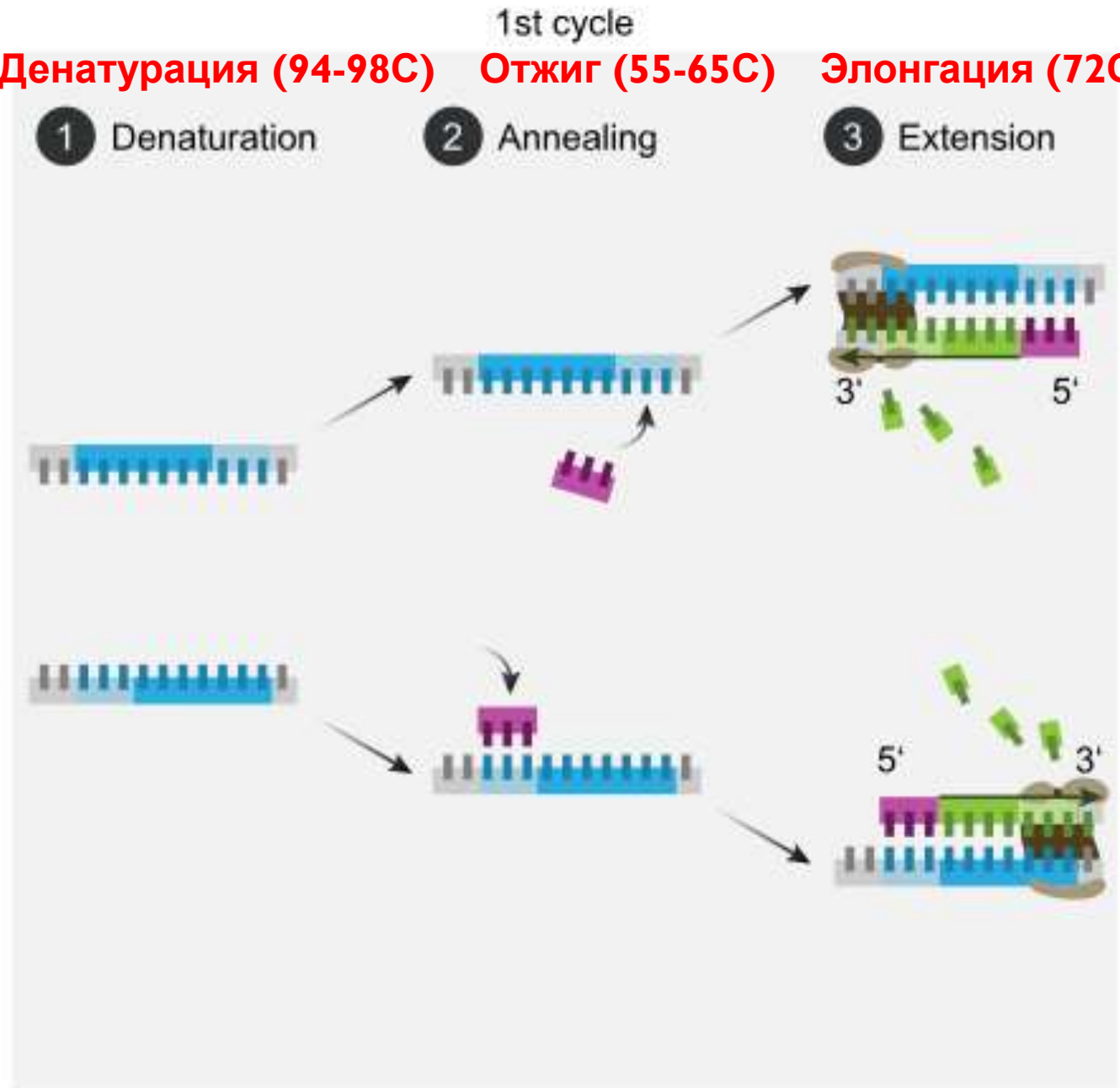
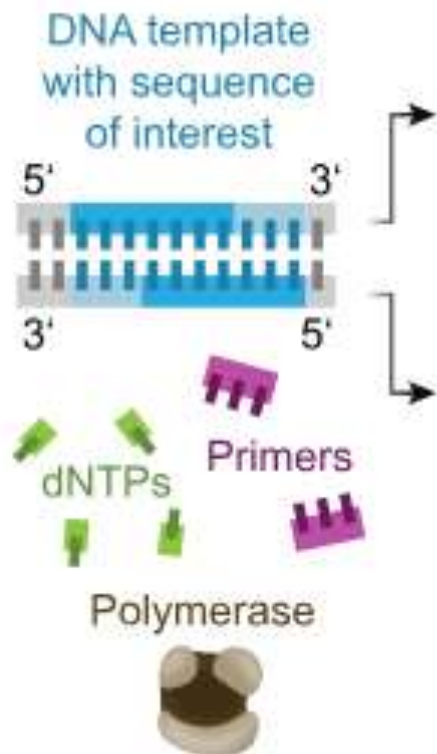
Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (dATP, dGTP, dCTP, dTTP).

Ионы Mg^{2+} , необходимые для работы полимеразы.

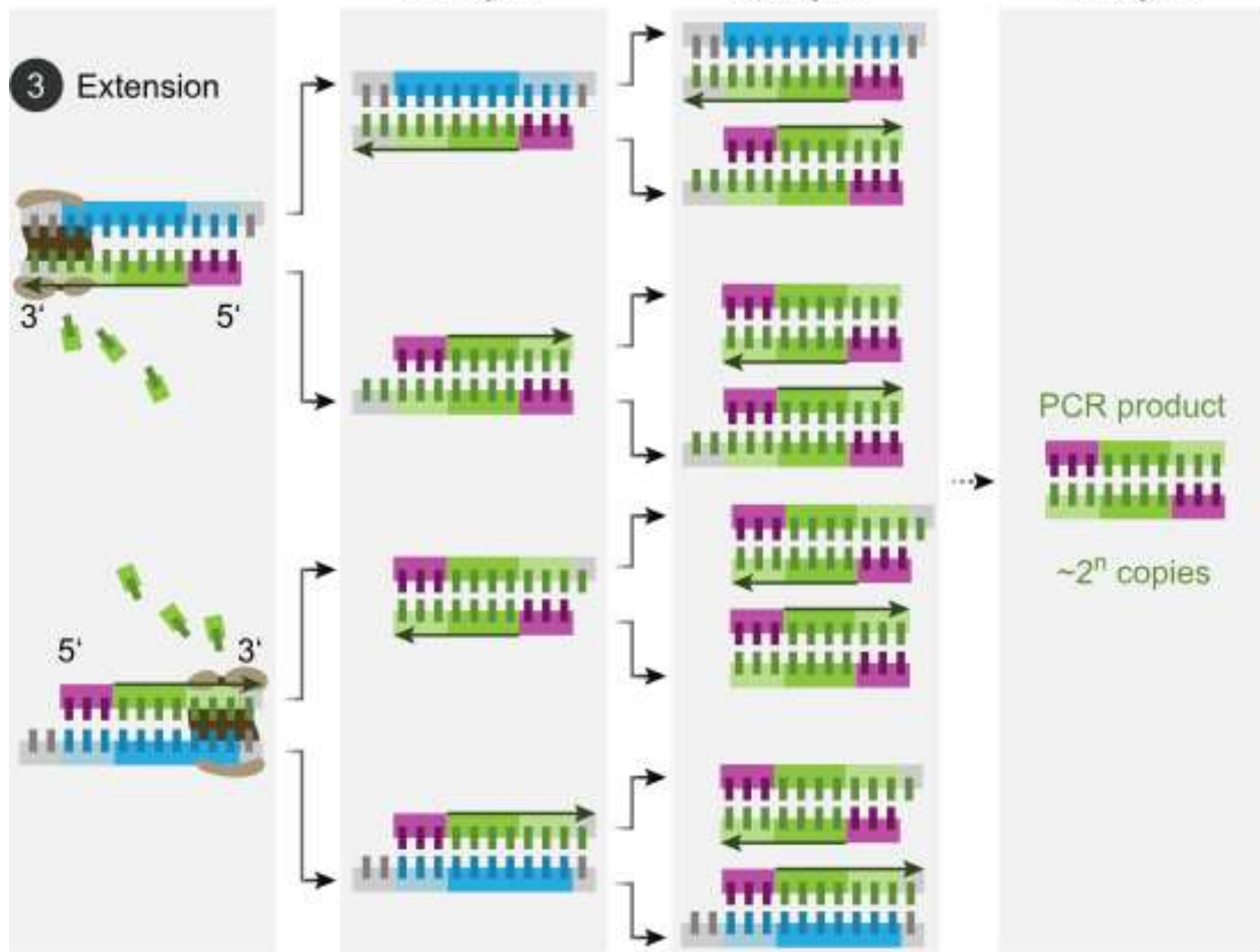
Буферный раствор, обеспечивающий необходимые условия реакции — pH, ионную силу раствора. Содержит соли, бычий сывороточный альбумин.

ПЦР Схема.

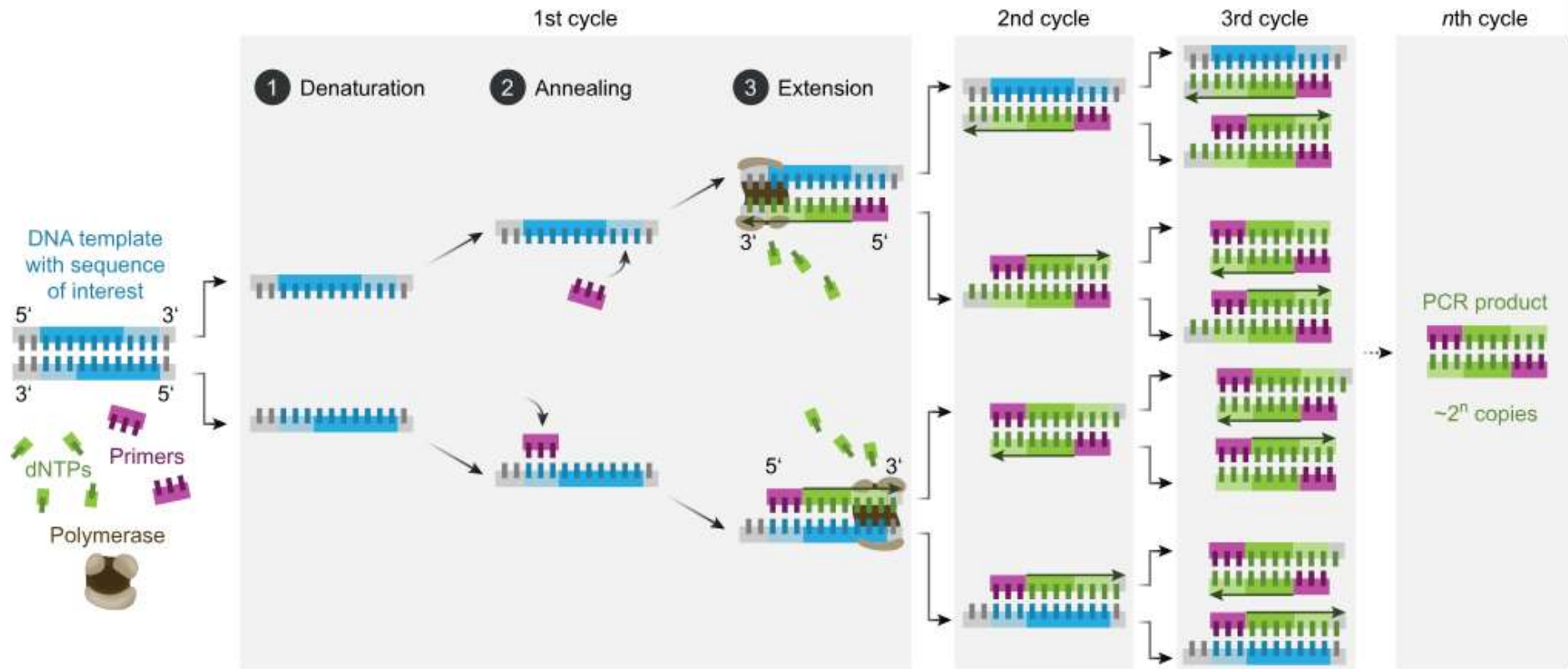
1st cycle
Денатурация (94-98C) Отжиг (55-65C) Элонгация (72C)



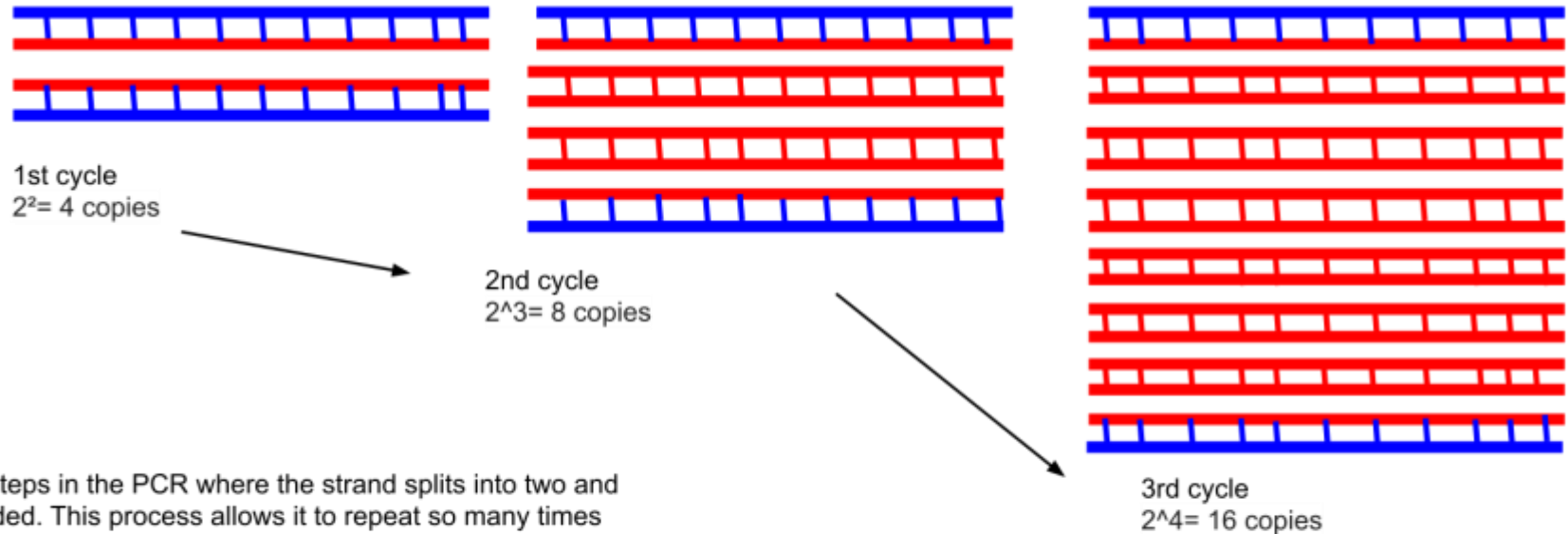
ПЦР Схема.



ПЦР Схема.



ПЦР Схема.



So after the 3 steps in the PCR where the strand splits into two and primers are added. This process allows it to repeat so many times exponentially setting it in motion of a chain reaction, which is the interest of the region.

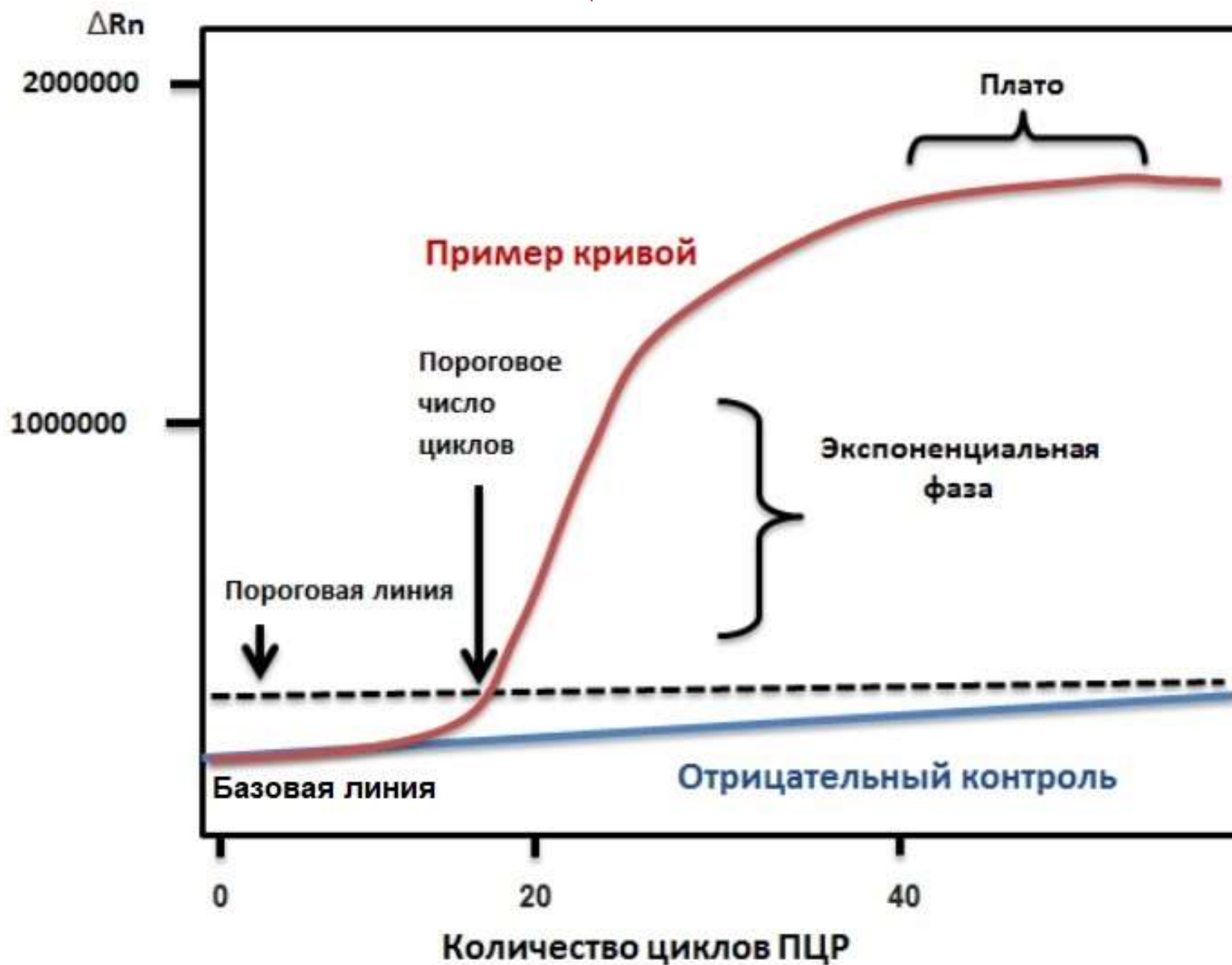
Exponential Amplification

After 30 cycles, a single copy of DNA can be increased up to 1,000,000,000 (one billion) copies.

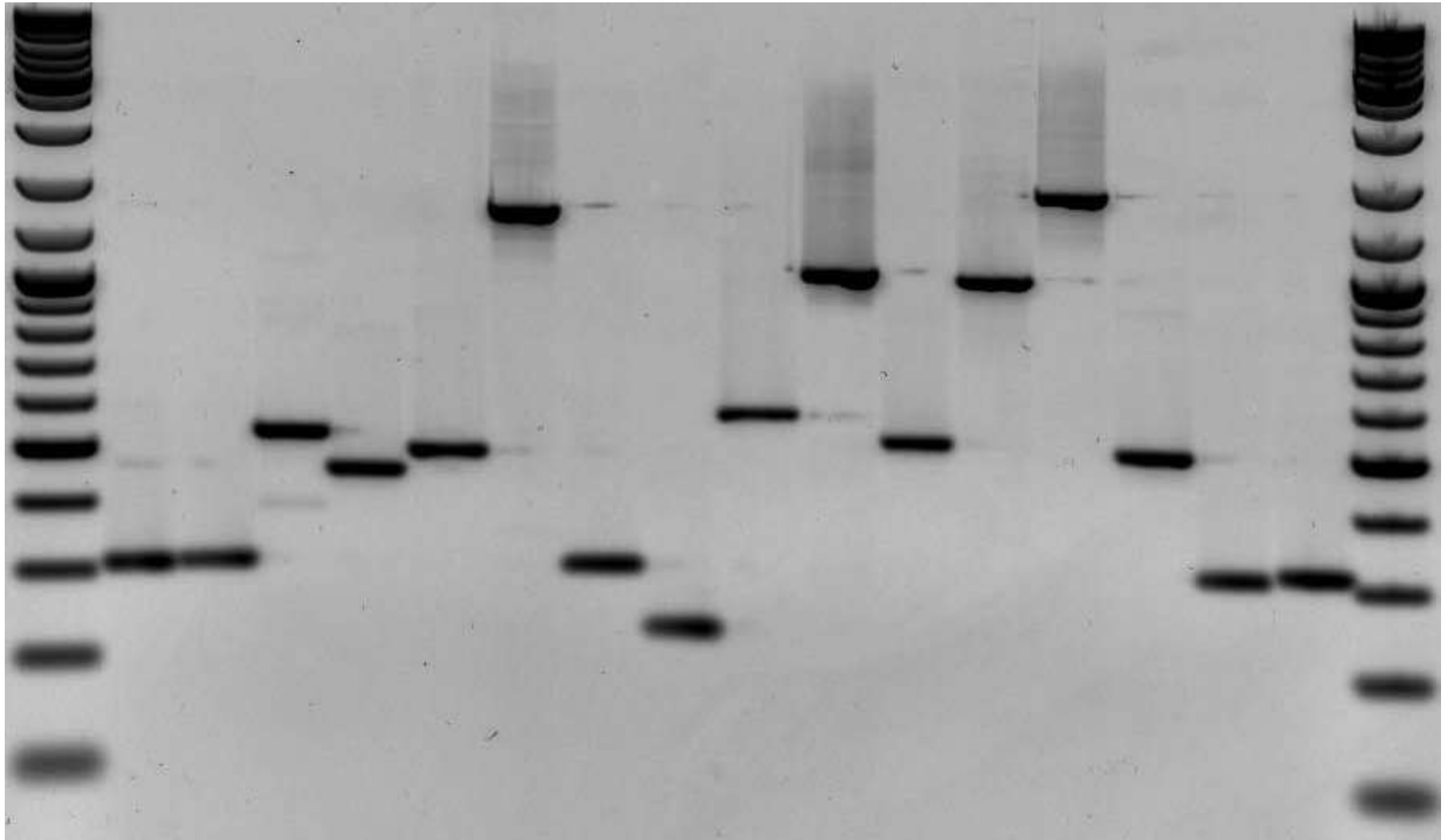
Продукты определенной длины – геометрическая прогрессия

Продукты неопределенной длины – арифметическая прогрессия

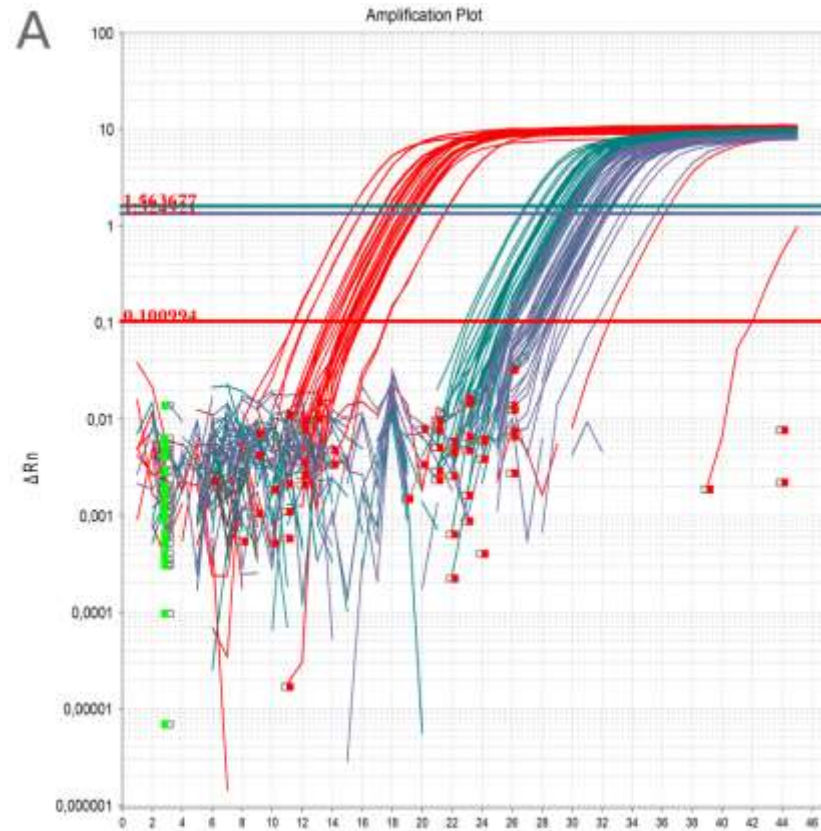
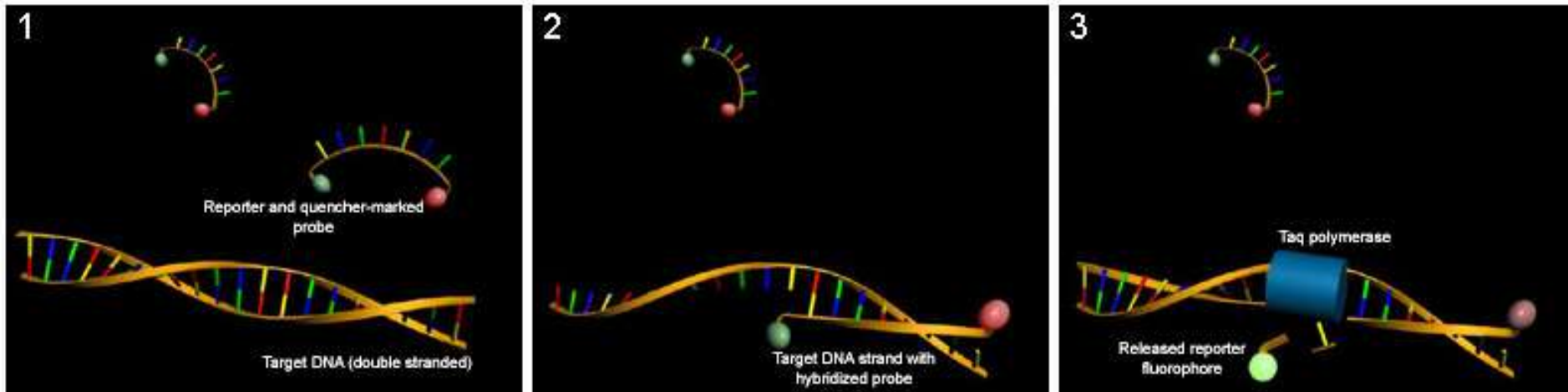
ПЦР. Кинетика.



ПЦР Детекция продуктов. Электрофорез



ПЦР Детекция продуктов. Флуоресцентные зонды.



ПЦР Детекция продуктов. Интекалирующие красители (SibrGreen, EtBr и др).

Модификации ПЦР

С обратной транскрипцией

Вложенная (nested)

Ассиметричная

Количественная

Групп-специфическая

С горячим стартом

И т.д.

Амплификационные тесты

Семейство методов, основанных на
умножении специфических участков НК: