

Mi az a PCR?

MARINKOV Jelena biológia szakos egyetemi hallgató összeállítása

PCR (Polymerase Chain Reaction) a molekuláris biológia egyik legfontosabb technológiája, mely a DNS fragmentumainak megsokszorozását teszi lehetővé.

Kary Mullis 1983-ban fejlesztette ki a PCR technológiát, és felfedezéséért 1993-ben megkapta a Nobel-díjat. A PCR-t a DNS-szál egy rövid, jól definiált szakaszának amplifikálására használják. Ez vonatkozhat egyetlen génre, vagy csak egy génnek a részére.

A PCR reakció kivitelezéséhez néhány komponensre van szükség:

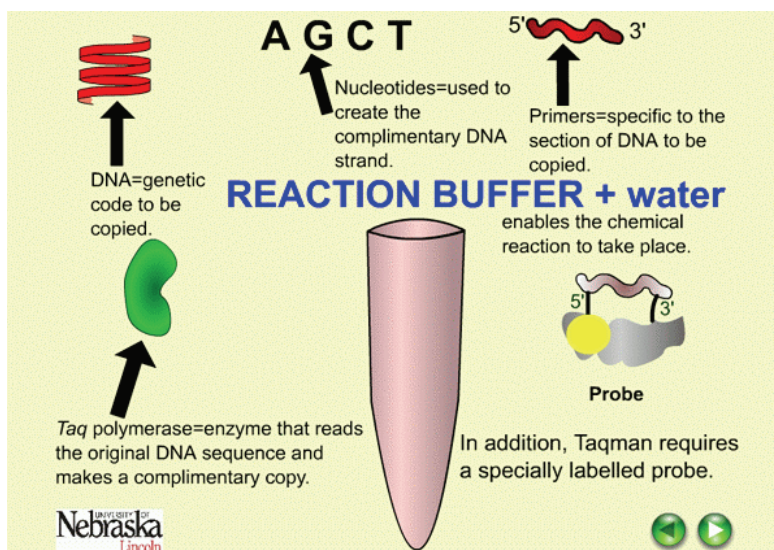
DNS-templát (DNA template) – az a DNS, mely tartalmazza a gént vagy génrész, amit amplifikálni/megsokszorozni szeretnénk.

Két primer (primers) – rövid RNS vagy DNS fragmentum, ami meghatározza az amplifikáló DNS-rész elejét és végét. Ez a RNS/DNS fragmentum komplementer az amplifikáló DNS rész elejével.

DNS polimeráz (DNA polymerase) – enzim, ami sokszorosítja az amplifikáló DNS részét.

Nukleotidok – ezeket használja fel a DNS polimeráz, hogy felépítse az amplifikáló DNS új másolatát.

Puffer – ami biztosítja a DNS polimeráz enzim működéséhez szükséges kémiai környezetet.



PCR komponensek

A primer megtalálja az amplifikáló DNS részének az elejét, és lekötődik ahhoz. Ettől a pillanattól kezdve a DNS polimeráz az ott lévő szabad nukleotidokat felhasználva szintetizálja továbbá az új DNS láncot, miközben a DNS templátot használja mintaként (matricaként).

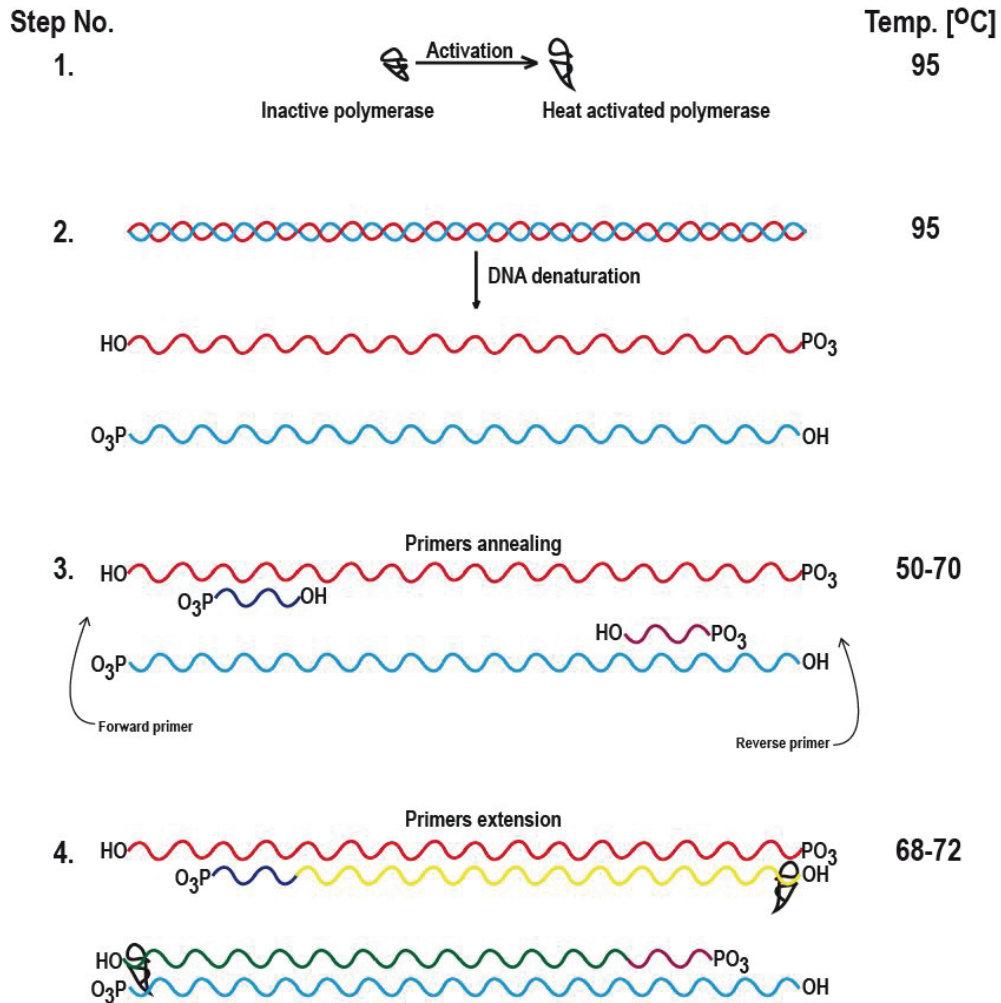
A PCR folyamat elvégzéséhez megfelelő kémiai környezetre van szükség, amit az ott lévő puffer biztosít. Emellett megfelelő hőmérsékletet kell biztosítani.

Mindezen feltételek mellett a PCR három lépésből áll:

Denaturálás: Először 96°C-on a két láncból álló DNS két külön lánccra hullik szét.

Kapcsolódási fázis: 45-60°C hőmérsékleten a primerek kötődnek a denaturált DNS lánchoz. Ha a hőmérséklet nem megfelelő, akkor a primerek egyáltalán nem kötődnek a DNS-hez, vagy bárhová kötődnek, csak nem oda, ahová kellene (nem kötődnek a komplementer DNS fragmentumhoz).

Meghosszabbítás: Ebben a lépésben a hőmérséklet 68-72°C, a DNS polimeráz végre szintetizálja a hiányzó DNS láncot, miközben a létező denaturált láncot matricaként használja.



A PCR technológia lépési

A PCR nagyon érzékeny reakció, ezért meg kell tenni a megfelelő óvintézkedéseket, hogy elkerüljük a szennyeződést, amelyet a laboratóriumi környezetben előforduló más DNS lánc okozhat (baktériumból, vírustól vagy a vizsgálatot végző személyből származik).



PCR készülék

Ennek a technológiának sokféle felhasználása van. Felfedezésével lehetővé vált egy bizonyos DNS fragmentum igen rövid idő alatt történő sokszorosítása (amplifikációja). A tudomány fejlődésével többféle módosított PCR verzió alakult ki, de mindegyiknek megegyezik az alapja.