

A PCR-módszer

PCR, azaz polimeráz-láncreakció ((polymerase chain reaction))

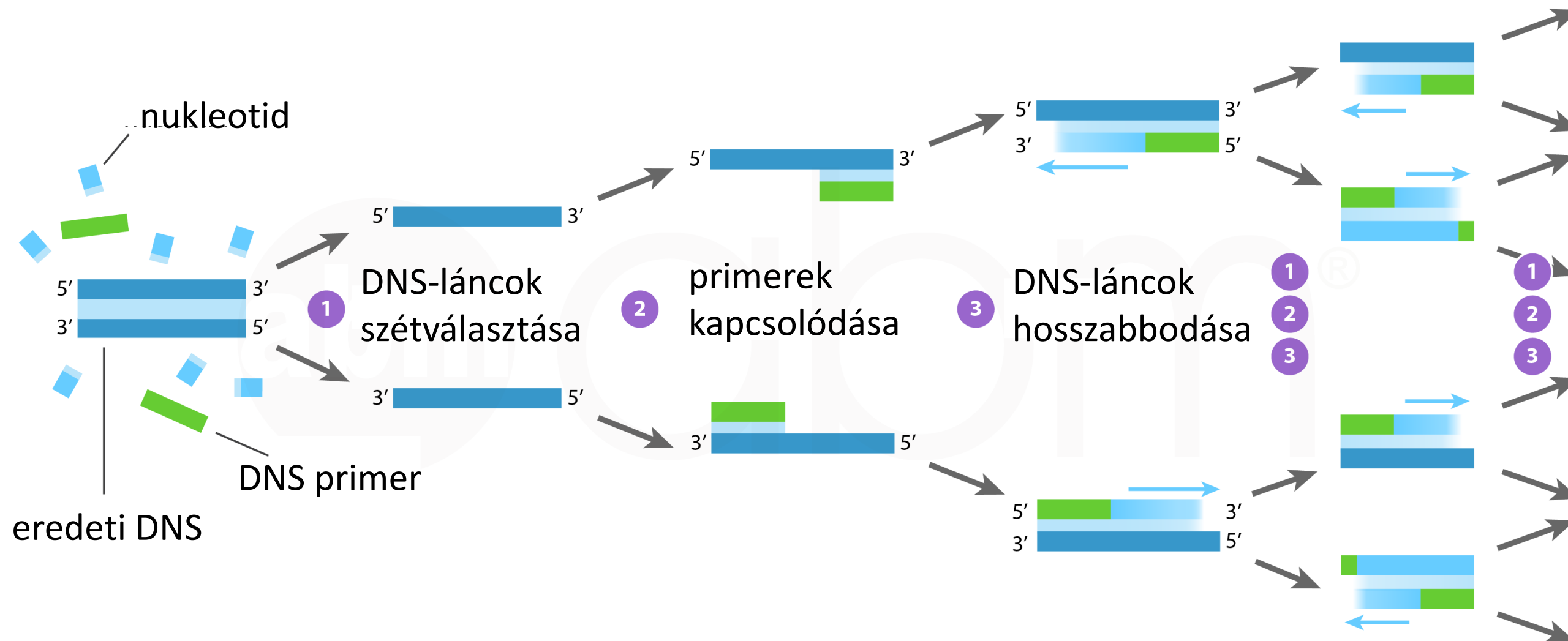
A PCR technológia lehetővé teszi rövid idő alatt a DNS egy kis (kb. 1000-10000 bázispár hosszúságú) darabjának megsokszorozását élőlények nélkül.

Az eljáráshoz hőforrásban élő baktériumból származó DNS-polimeráz enzimet használnak (Taq polimeráz), mert ez a DNS szálak szétválasztásához szükséges 95 °C-on sem denaturálódik.

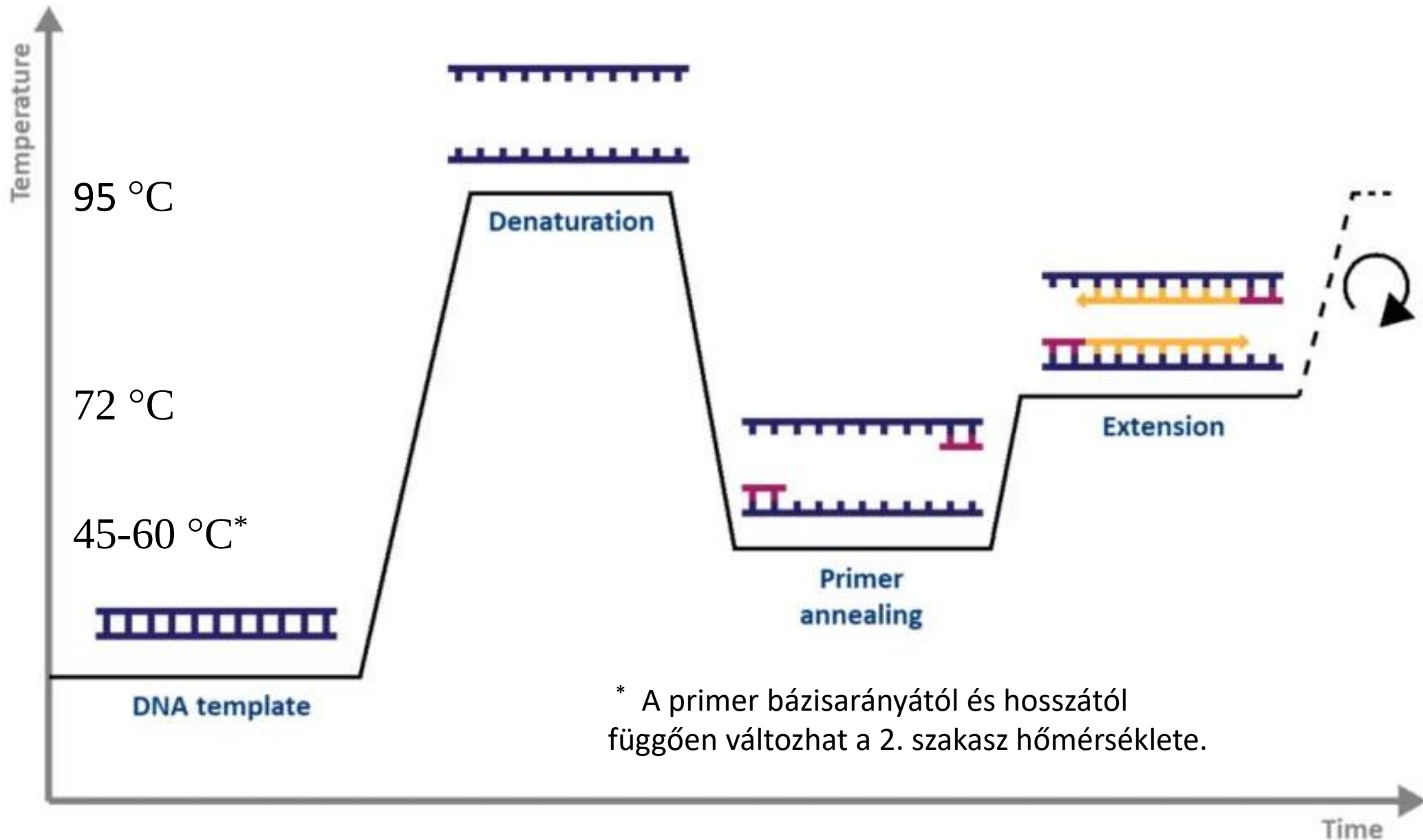
PCR mindegyik ciklusa három lépést tartalmaz:

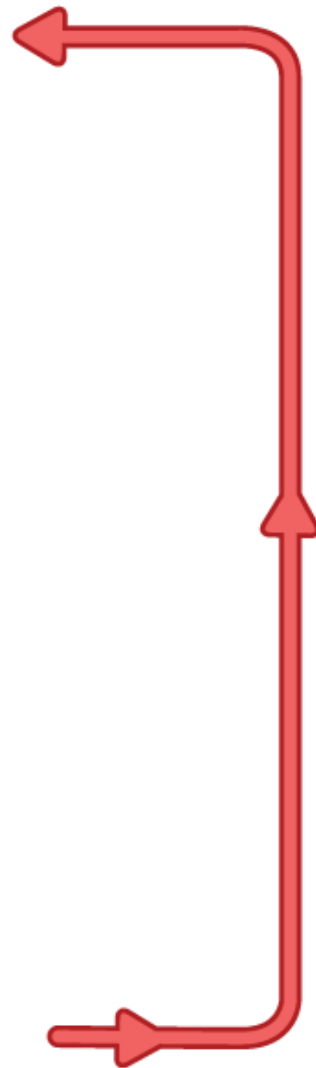
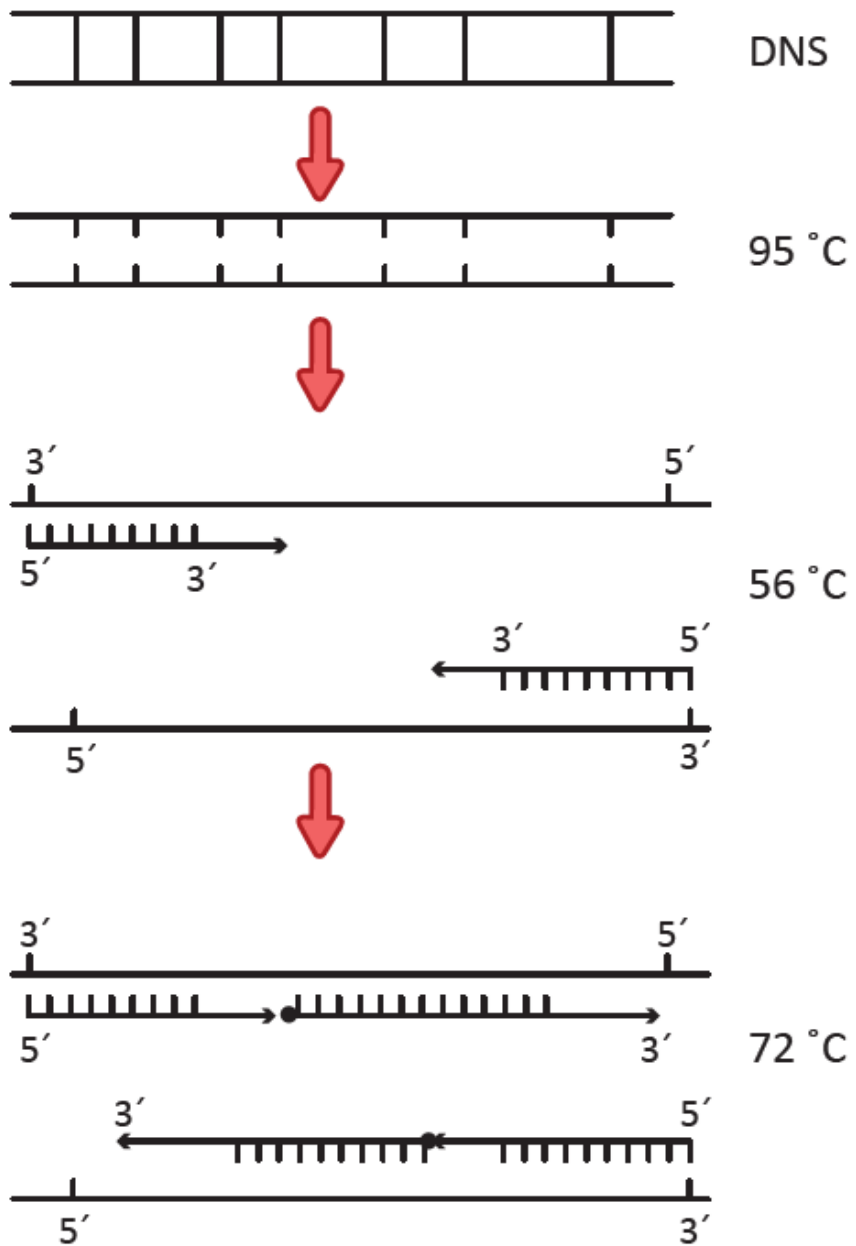
1. A kettős szálú DNS-t $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra melegítik, hogy a szálak szétváljanak.
2. A DNS-szálak elválasztása után a hőmérsékletet annyira csökkentik, hogy a primer hozzá tudjon kapcsolódni a DNS-szálhoz ($45\text{-}60\text{ }^{\circ}\text{C}$).
3. Végül a DNS-polimeráz enzim $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on létrehozza a DNS komplementer szálát a primertől kezdve. (Így már **két** kettős szálú DNS-ünk van.)

A PCR ciklus lépései



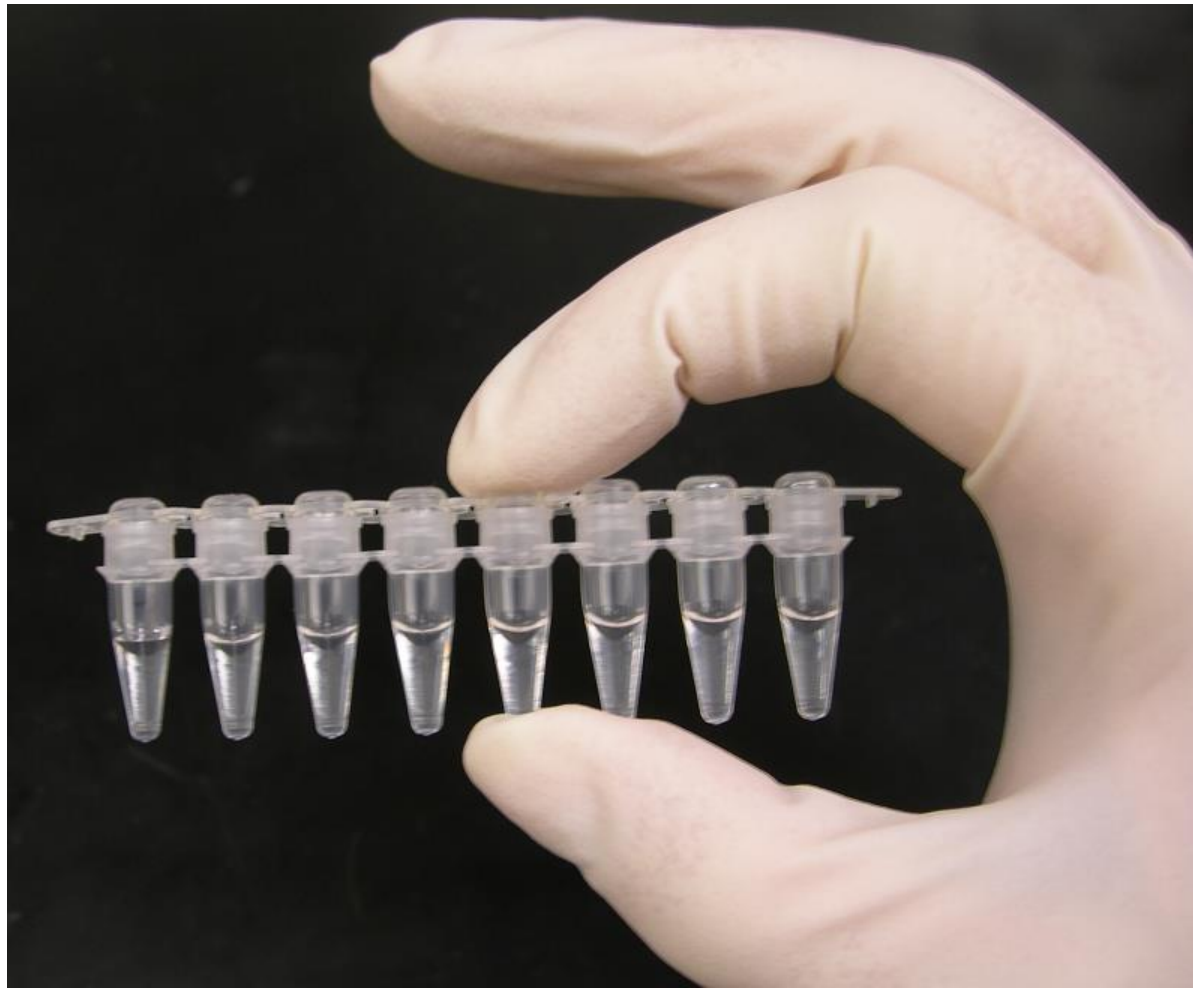
A PCR ciklus hőmérsékleti változásai





A PCR ciklusait 20-30-szor ismétlik, mindig duplázva a DNS molekulák számát.

8 PCR-cső reakcióeleggyel



PCR-csövek behelyezése a készülékbe



A PCR-eljárásban a ***primer*** kb. 15-30 nukleotidból álló mesterséges DNS, amely egy egyedi DNS bázissorendhez tud kapcsolódni, így ettől a helytől a DNS-polimeráz enzim létre tudja hozni a kb. 1000-10000 bázis hosszúságú DNS kiegészítő láncát.

A primereket úgy tervezik, hogy a keresett DNS szakaszt képes legyen felismerni (elején vagy végén található picit részéhez legyen képes kötődni), így csak a keresett DNS-t fogja megsokszorozni a PCR berendezés.

(A megsokszorozás egyúttal a keresett rész kimutatását is jelenti. Hogyha a DNS mintában nincs ott a keresett szakasz, amihez a primer kötődhet, nem történik meg a megsokszorozás.)

A PCR-módszert bemutató 3 perces videó

PCR-eljárás emelt szintű érettségi feladatban:

2024. október, V. feladat
és megoldása

Mire lehet használni a PCR-eljárást?

- Egy bűntett helyszínén vagy ősemberi csontmintában kevés DNS található, ezt PCR-rel megsokszorozva, lehetővé teszi a bázissorrend meghatározását.
- Rákot okozó génváltozatot, vagy a keresett kórokozó örökítőanyagát szaporítják fel a sokféle jelen levő DNS közül. Hogyha megvalósul a megsokszorozás, akkor ez egyúttal ennek a DNS szakasznak a kimutatását is jelenti.
- Orvosdiagnosztikai szerepe: öröklődő betegségek (génmutációk) kimutatása, vagy betegtől vett mintában egy kórokozó (pl. koronavírus) örökítőanyagának kimutatása.

Összeállította:

Gergely Tibor, a Nyíregyházi Krúdy Gyula Gimnázium tanára