

PCR

# PCR

1983 Kary Mullis

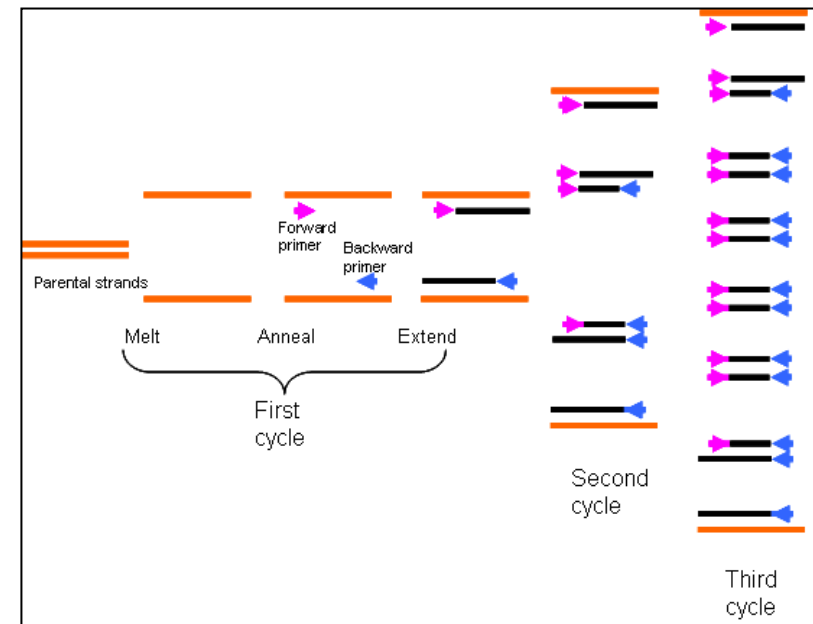
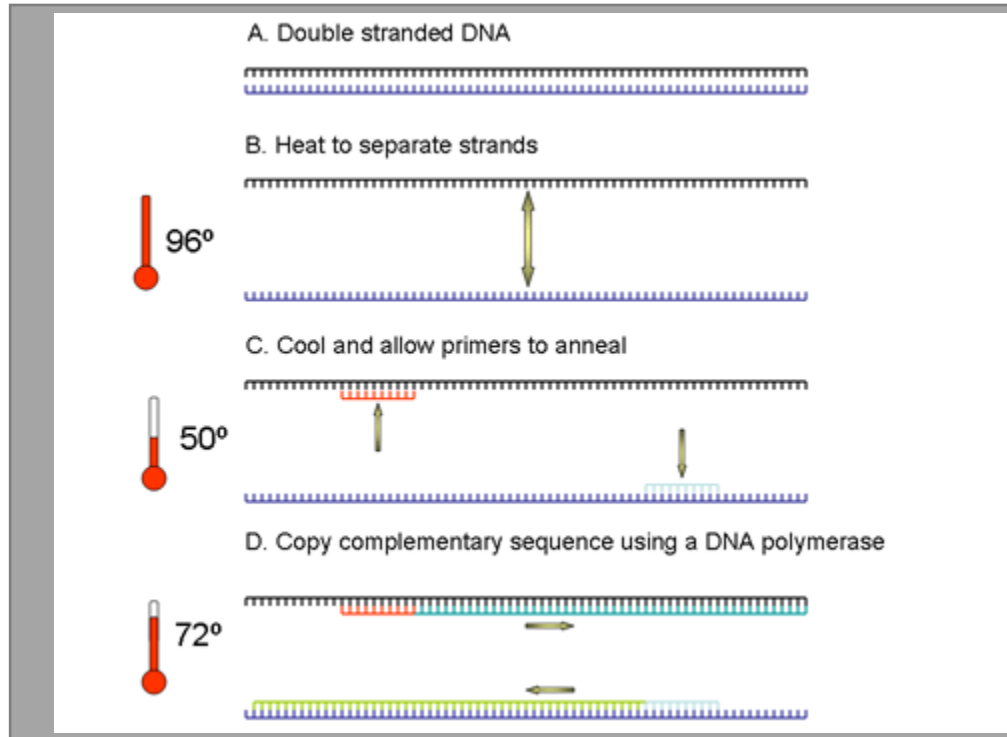
1993 Nobelova cena



# PCR

Cyklické střídání fází denaturace, annealingu a extenze jednoduchou změnou teploty reakční směsi

Polymeráza využívá syntetické primery ohraničující amplifikovaný úsek DNA



# Amplifikace DNA

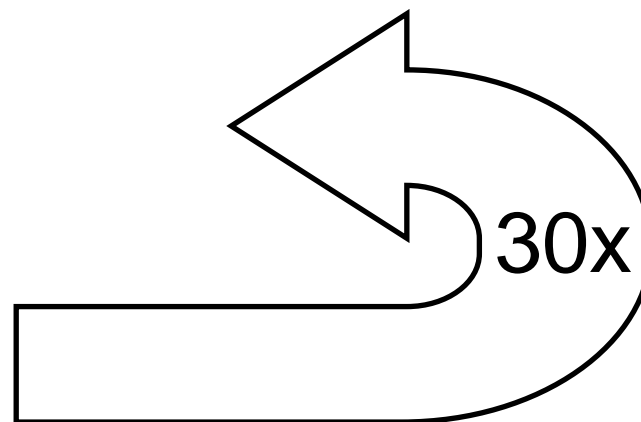


# Základní komponenty reakce

- voda
- pufr
- dNTP (dATP+dTTP+dCTP+dGTP)
- $MgCl_2$
- Taq polymeráza
  
- primers
- templát

# Teplotní režim

- 96°C Iniciální denaturace
- 96°C denaturace
- 40-72°C annealing
- 72°C elongace
- 72°C závěrečná elongace
- 4°C zchlazení



## Konvenční kvantitativní PCR

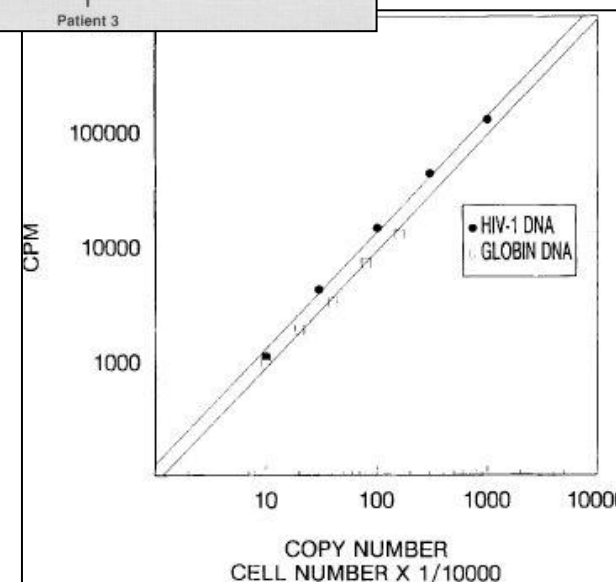
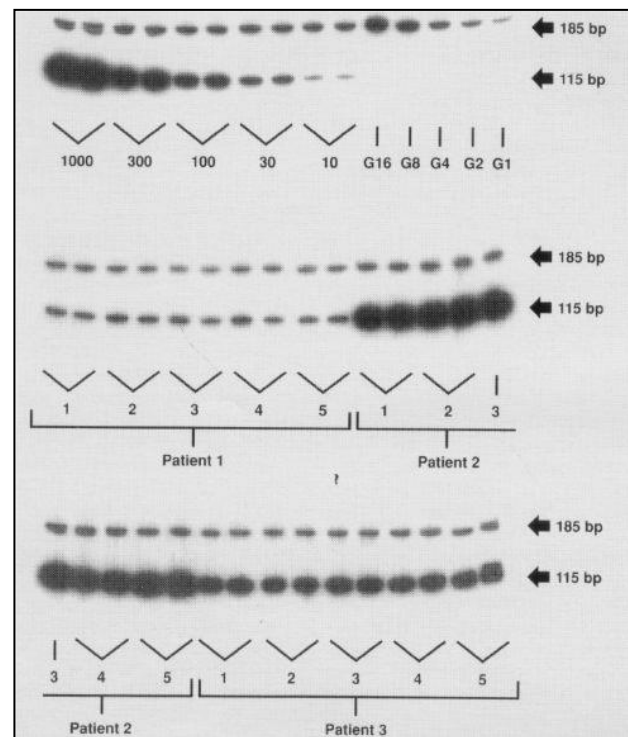
- „End point“ stanovení

- Kvalitativní odpověď YES/NO
- Extenzivní validace, kontroly
- Denzitometrie
- Minimální rozptyl v parametrech reakce má obrovský vliv na množství amplikonu

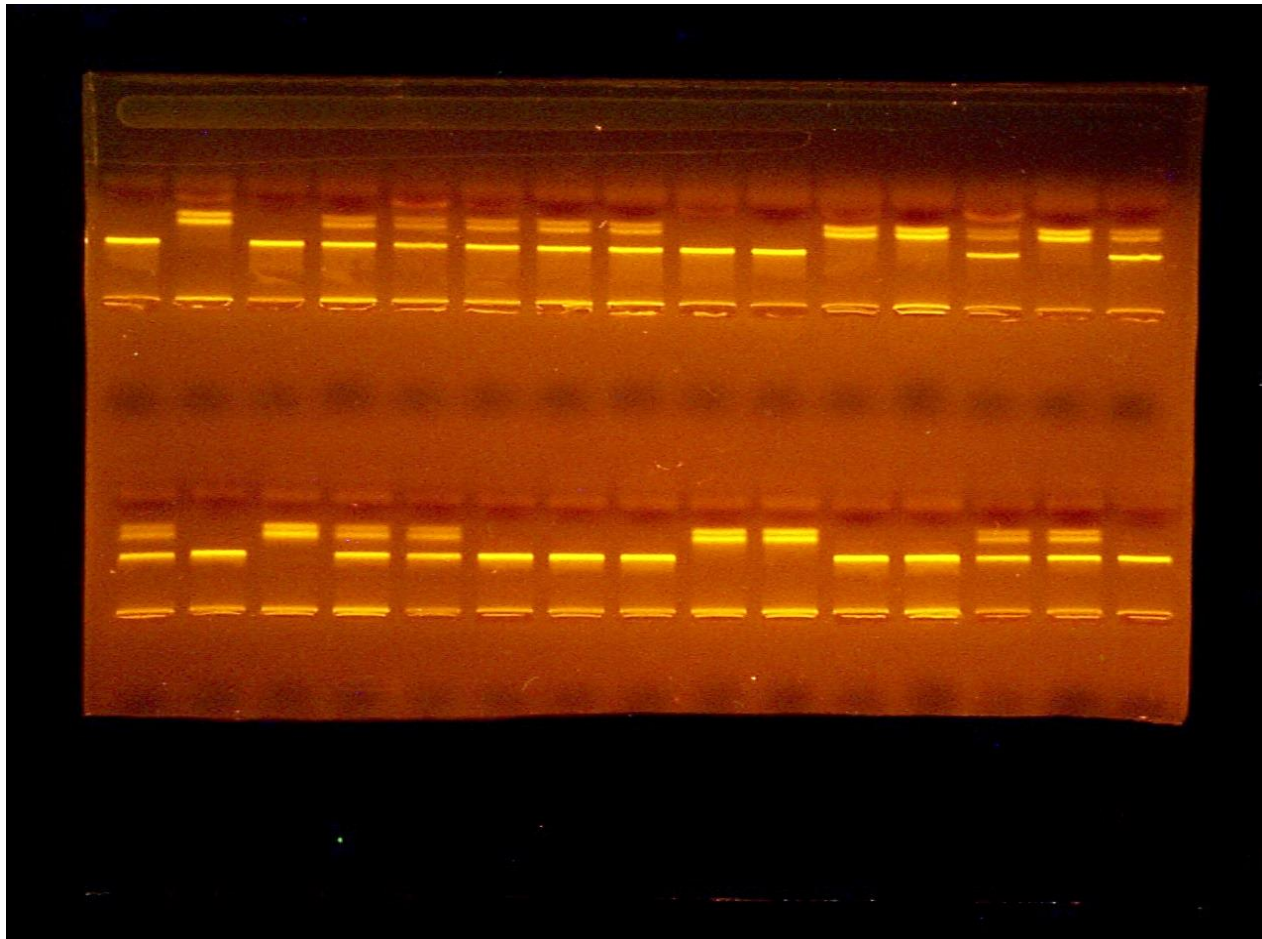
- Interní heterologní kontrola  
(housekeeping gene)

- *Viral load* u HIV+ pacientů

- Výskyt minimální reziduální choroby u onkologických pacientů

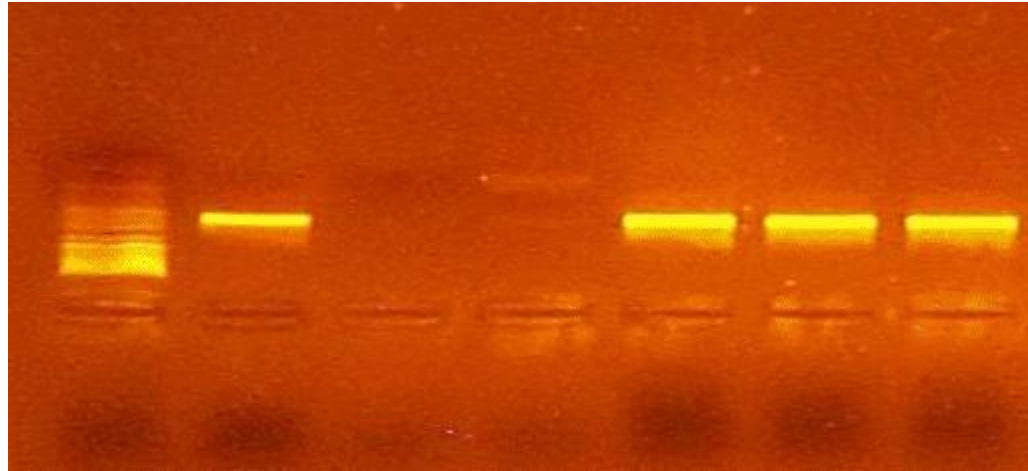


# Elektroforéza v agarovém gelu





+



-

# Základní vybavení





transluminátor  
cycler



