

# **Metoda SDA**

**strand displacement amplification**

**amplifikace vytěsňováním řetězce**

- **Metoda využívá schopnosti DNA polymerázy iniciovat syntézu DNA v místě jedno-řetězcového zlomu v cílové molekule a vytěsňovat řetězec se zlomem během nové syntézy**
- **Vytěsněné řetězce jsou substrátem pro další cyklus SDA**

**Jedná se o izotermickou reakci**

# *Průběh SDA*

denaturace dsDNA



# *Průběh SDA*

připojení primerů

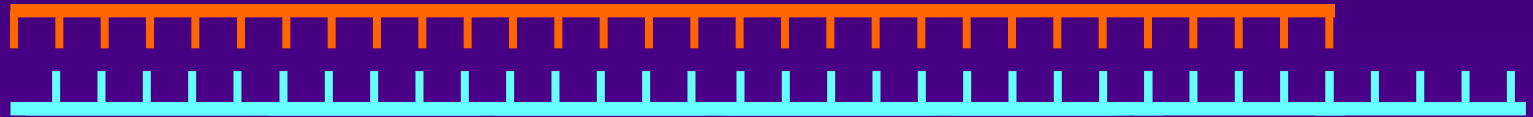


Primery obsahují restriční místo na 5'-konci

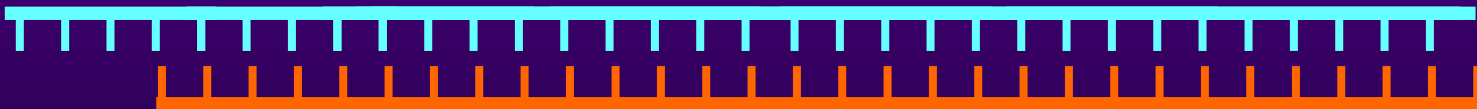


# *Průběh SDA*

Polymerizace s dNTP a dNTP $\alpha$ S

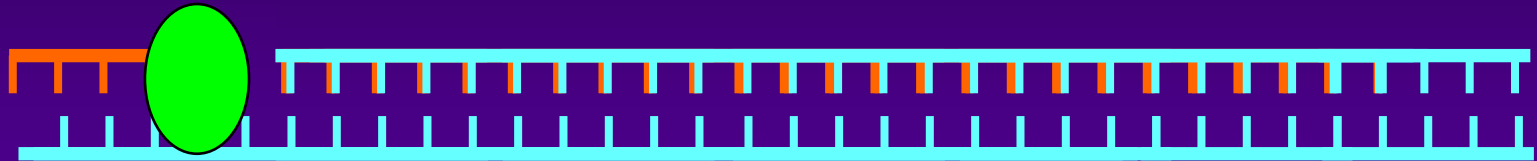


dNTP $\alpha$ S = thio substituovaný NTP, neštěpitelný

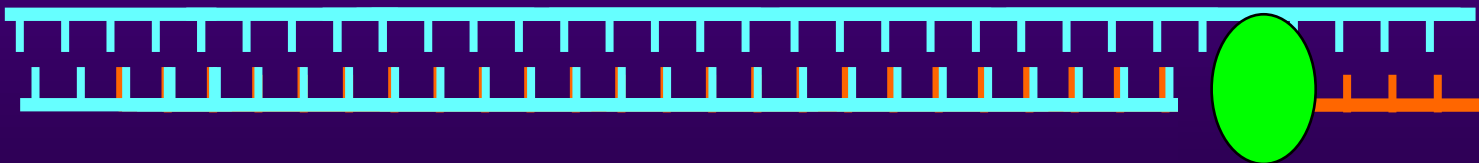


# Průběh SDA

Vytvoření jednořetězcového zlomu



Extenze DNA polymerázou



# *A všechno se opakuje*

připojení primerů



# Využití SDA

- Detekce obtížně kultivovatelných mykobakterií
- Detekce *Chlamydia trachomatis* a *Neisseria gonorrhoeae* (Becton Dickinson ProbeTec ET assay)
- Detekce Herpes Simplex Virus I a II (BD ProbeTec)
- Diferenciace *Saccharomyces cerevisiae* metodou AFLP provedenou technikou SDA

***Další informace k detekčním  
systémům na bázi SDA se dočtete  
na komerčních stránkách firmy  
Becton Dickinson***

**<http://www.bd.com/ds/>**

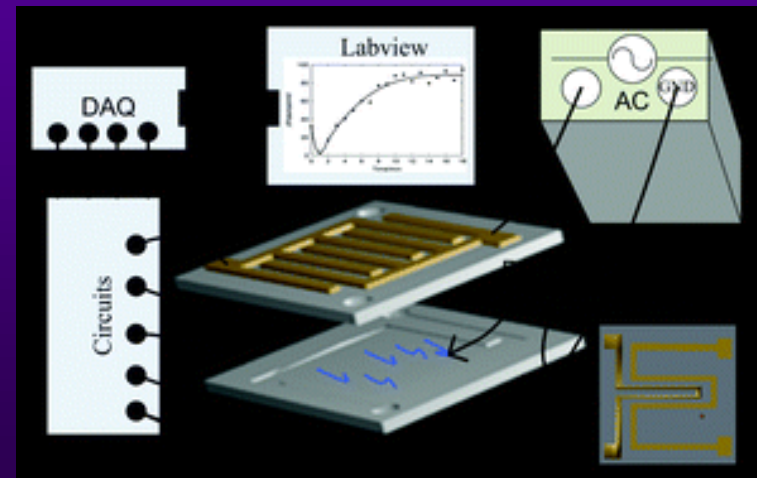




# SDA na čipu

Lab Chip, květen 2012, DOI:[10.1039/C2LC40384F](https://doi.org/10.1039/C2LC40384F)

- Elektrochemické bezkontaktní měření vodivosti v reakční komůrce v reálném čase
- S rostoucím počtem produktů roste vodivost
- Citlivost 0,1 pg/μl, minimální pozadí
- Žádné značení DNA



# Jaký jiný postup byste použili?



- 1) Oživte své znalosti o restriktázách
- 2) Na stránkách [www.neb.com](http://www.neb.com) najděte termín „nicking endonuclease“
- 3) Najděte nějakou restriktázu, která by byla použitelná i bez thiosubstituovaných dNTP