

**Козлов А. Е.**

*Институт радиобиологии НАН Беларуси, г. Гомель, Республика Беларусь*

## **ДИЗАЙН ПРАЙМЕРОВ ДЛЯ ПЦР: ОСНОВНЫЕ ПОДХОДЫ**

---

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – один из самых распространенных методов молекулярно-генетических наук на современном этапе их развития. Единственным этапом, который в настоящее время не вполне формализован и требует для своей успешной реализации определенных познаний и навыков работы в сфере биоинформатики, в частности, и молекулярной биологии вообще, остается подбор праймеров для постановки ПЦР.

Основные этапы конструирования праймеров представляются следующими:

1) в банке аннотированных нуклеотидных последовательностей GenBank Национального Центра Биотехнологической Информации США (GenBank NCBI USA) производится поиск нуклеотидных последовательностей искомых генов (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>);

2) поиск нуклеотидных последовательностей, гомологичных заданной, методом глобального попарного выравнивания (global pairwise alignment) on-line сервисом nucleotide BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>);

3) поиск участков, наиболее общих для всех найденных индивидуальных последовательностей (консервативных участков), а также участков каждой последовательности, присущих только одной из них (вариабельных и уникальных участков) с использованием глобального множественного выравнивания (global multiple alignment) с целью подбора участков нуклеотидных последовательностей, которые можно будет использовать как прямой или смысловой (forward, sense) и обратный или анти смысловой (reverse, antisense) праймеры; при подборе следует учитывать: размер (длину) ампликона, температуру отжига праймеров, нуклеотидный состав, распределение нуклеотидов по длине праймера, длину праймеров, возможность образования праймерами шпилек и димеров. Существует ряд программ для множественного выравнивания (напр. Clustal), доступных как через Интернет, так и самостоятельно существующих или интегрированных в биоинформатические пакеты (UniproUgene, DNASTAR, Vector NTI);

4) проверка выбранных последовательностей праймеров на специфичность отжига (фактически на сродство); поскольку праймеры, даже абсолютно уникальные для тех или иных последовательностей ДНК, могут отжигаться и на неспецифичных участках, не относящихся к анализируемому гену, следует убедиться в том, что праймеры соответствуют только последовательностям целевого гена. Для этой цели удобно использовать еще один on-line сервис NCBI – Primer BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>), осуществляющий локальное попарное выравнивание каждого из праймеров с нуклеотидными последовательностями базы данных.

Правильное создание (дизайн) праймеров, используемых для постановки ПЦР, является ключевым фактором успеха экспериментаторов, применяющих данный метод в своих исследованиях.

*Kazlou A. E.*

## **DESIGN OF PRIMERS FOR PCR: BASIC APPROACHES**

Using the tools of modern bioinformatics deals with the general principles of selection of primers to ensure the formulation of polymerase chain reaction-based reverse transcription (RT-PCR).