

سه روش رنگ آمیزیه pcr کمی

سه روش رنگ آمیزیه pcr کمی

روش pcr کمی تغییر یافته روش های معمول pcr است که به آن real-time PCR یا pcr در لحظه هم گفته می شود. دقت بالا، در لحظه بودن داده های تولیدی آزمایش و اختصاصی بودن روش pcr کمی موجب شده که نقش بسیار مهمی در زیست شناسی مولکولی بازی کند. از کاربردهای آن می تواند به موارد زیر اشاره کرد.

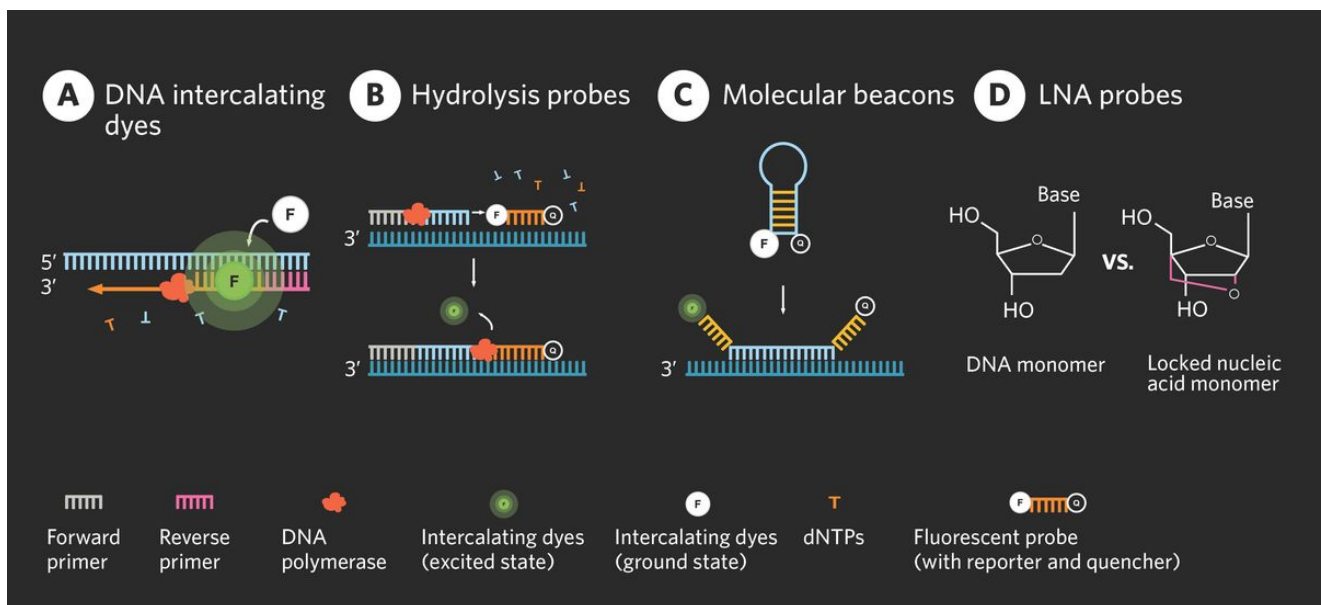
- Gene expression profiling
 - Pathogen detection
 - Genetic variation studies
 - Environmental monitoring
 - Clinical diagnostics
- کمی pcr چگونه کار کرد

درست مثل یک روش pcr معمولی با مواد اولیه مستر میک، DNA الگو و پرایم شروع می شود و تمام مراحل pcr را به ترتیب انجام می دهند. تفاوت pcr کمی در روش شناسایی DNA و محصول در حال تکثیر در لحظه است. روش های شناسایی شامل:

Pros and Cons	Description	Detection Method
Dyes are versatile and cost-effective but have low specificity.	Bind to DNA non-specifically Emit detectable fluorescence following intercalation with newly synthesized DNA	DNA intercalating dyes (SYBR® Green5)

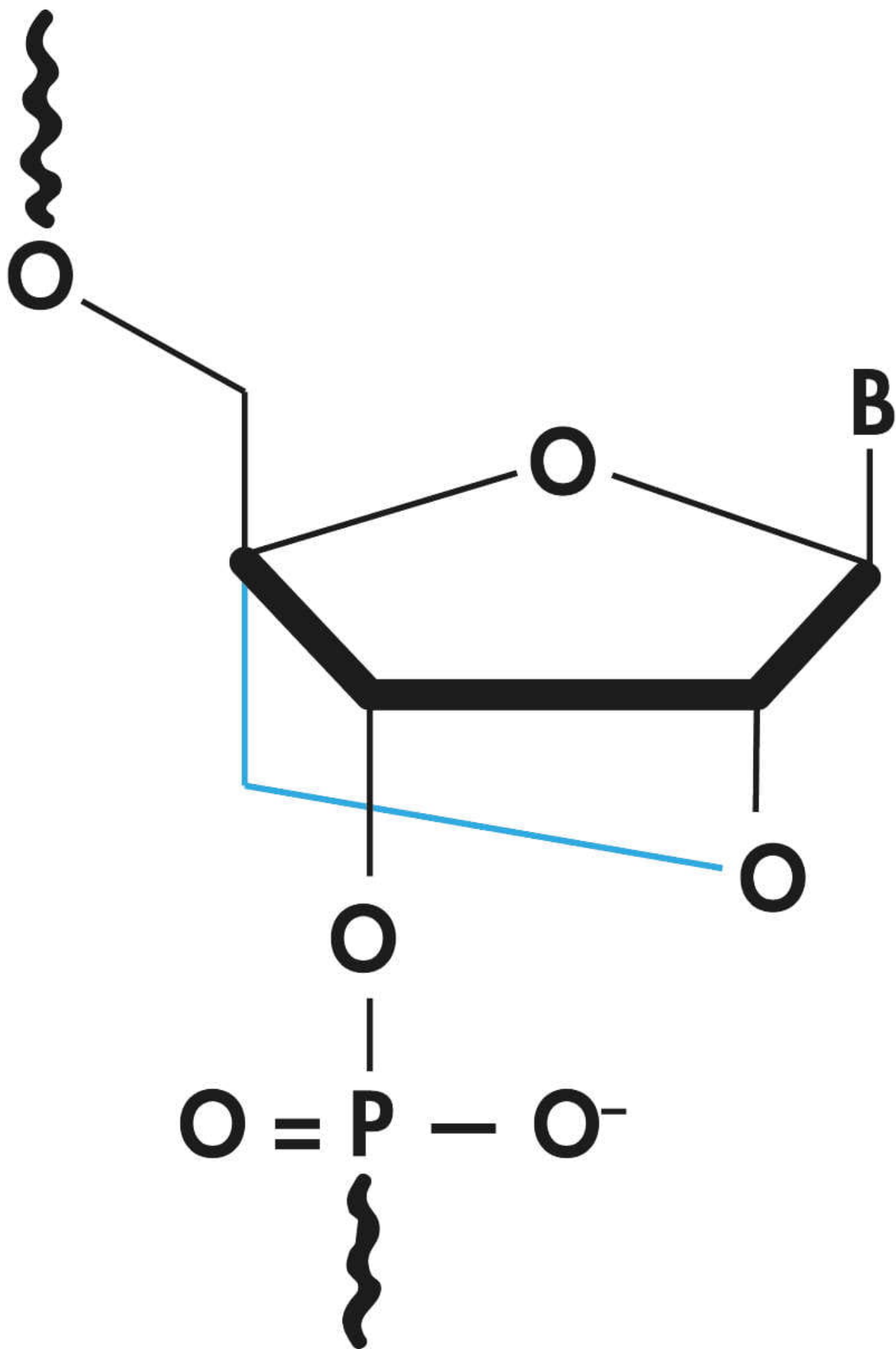
<p>The probes are highly specific but require precise and .custom design</p>	<p>Target-specific - oligonucleotides with a fluorescent reporter on the 5' end and a quencher on the 3' end that are held in close proximity, such that the fluorophore remains quenched</p> <p>The DNA - polymerase's 5' exonuclease activity cleaves the reporter, separating it from the quencher and emitting fluorescence</p>	<p>Hydrolysis probes</p> <p>(TaqMan TM probe)</p>
<p>While highly versatile and specific, these can be complex .to design</p>	<p>Hairpin-shaped - probes with a fluorophore at one end and a quencher at the other end</p> <p>Upon binding to - the target, the loop straightens, separating the quencher from the reporter, which emits fluorescence</p>	<p>Molecular beacons</p>

While their specificity and thermal stability ensure precision in measurement, designing these probes often requires extensive optimization.	Probes that use - modified nucleotides with a locked ribose ring, increasing the thermal stability of the probe-target hybrid	Locked nucleic acid (LNA) probes
--	---	----------------------------------



روش INA چیست ؟

در این روش اولیگوهای خاصی طراحی شده که در حلقه ریپوزم فقط تعبیه شده. این اولیگوهای میل ترکیبی شدیدی با RNA و DNA دارند.



Structure of LNA. The ribose ring is connected by a methylene bridge between the 2'-O and 4'-C atoms, "locking" the ribose ring in the ideal conformation for Watson-Crick binding. When incorporated into a DNA or RNA oligonucleotide, LNA makes the pairing with a complementary nucleotide strand more rapid and increases the stability of the resulting duplex.

در هنگام اتصال به DNA و RNA دمای ذوب رشته الگو (T_m) را 2 تا 8 درجه افزایش می دهند.

	Same length, higher T_m				Shorter length, similar T_m			
DNA	23-mer	tcgatcgattagctacgtacgta	$T_m: 60^\circ\text{C}$		23-mer	tcgatcgattagctacgtacgta	$T_m: 60^\circ\text{C}$	DNA
DNA/LNA	23-mer	tcgatcgatt Ag ctacgtacgta	$T_m: 64^\circ\text{C}$	+ LNA	16-mer	---atcgatt AgctAc gta---	$T_m: 60^\circ\text{C}$	DNA/LNA
DNA/LNA	23-mer	tcgatc GattAgctaCgtaC gta	$T_m: 78^\circ\text{C}$	↓	8-mer	----- aGCtacGT -----	$T_m: 61^\circ\text{C}$	DNA/LNA
					DNA:atcg LNA: ATCG			

Replace DNA with LNA for higher melting temperature. On the left, progressive substitutions of DNA nucleotides with LNA increases the melting temperature of the oligonucleotide, while maintaining the recognition sequence and specificity of the probe. On the right, LNA substitutions allow shortening of the probe, while maintaining the same T_m .

از این ویژگی برای شناسایی توالی کوچک با دقت بالا استفاده می کنند.

tages :

reference

- 1 - Biswas, T., PhD. (2023, November 10). *Insights into qPCR: Protocol, Detection Methods, and Analysis*. The Scientist Magazine®. <https://www.the-scientist.com/insights-into-qpcr-protocol-detection-methods-and-analysis-71478>
- 2-What is LNA and Why is it Such a Powerful Research Tool_. (n.d.). <https://www.qiagen.com/us/knowledge-and-support/knowledge-hub/technology-and-research/lna-technology/power-of-lna/what-is-lna/lna-powerful-research-tool>
- 3- 1. Jensen et al. (2011) Evaluation of two commercial global miRNA expression profiling platforms for detection of less abundant miRNAs. BMC Genomics. 12:435. doi: 10.1186/1471-2164-12-435.

see also :

word: