

Секвенирование методом Сэнгера



ДНК: ААААААААА РНК:



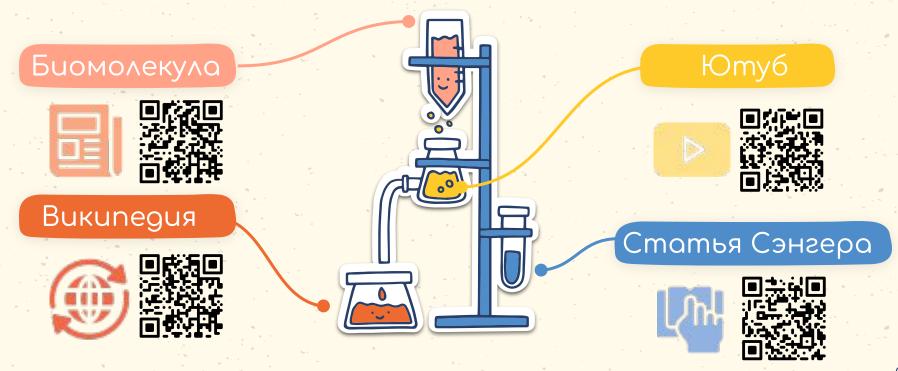
Подготовили:

Воробьёв Д. Прохоров М. Зеленковский В. Жидович М. Гопоняко Н.





Источники



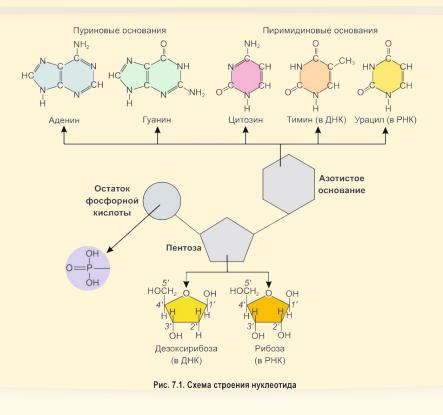
Секвенирование ДНК

Биополимеры — белки, ДНК и РНК и др.

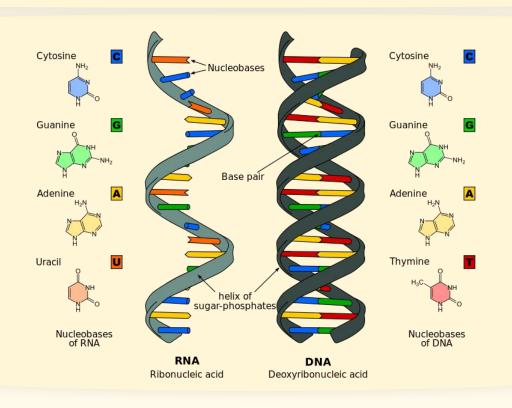
Секвенирование — определение их аминокислотной или нуклеотидной последовательности.

Метод Сэнгера позволяет секвенировать ДНК.

Нуклеотиды



Нуклеотидная цепь





Нуклеотидная последовательность

Symbol	Description	Bases represented					Complement
Α	Adenine	Α				1	Т
С	Cytosine		С				G
G	Guanine			G			С
Т	Thymine				Т		Α
U	Uracil				U		Α
W	Weak	Α			Т	2	W
s	Strong		С	G			S
М	a M ino	Α	С				K
K	Keto			G	Т		М
R	pu R ine	Α		G			Y
Υ	p Y rimidine		С		Т		R
В	not A (B comes after A)		С	G	Т	3	V
D	not C (D comes after C)	Α		G	Т		Н
Н	not G (H comes after G)	Α	С		Т		D
V	not T (V comes after T and U)	Α	С	G			В
N	any N ucleotide (not a gap)	Α	С	G	Т	4	N
Z	Zero					0	Z



» Метод ТЕРМИНАТОРОВ



Терминатор — дидезоксинуклеотид, который прерывает синтез цепи ДНК (например ddA).



Сделай множество копий нужного фрагмента Денатурируй ДНК

образца



Комплементарные цепи растут, пока в них не встраивается дидезоксинуклеотид



Присоедини праймер



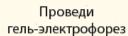
Добавь в четыре разные пробирки с полимеразами

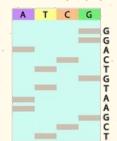




Денатурируй выросшую цепь











» Метод ТЕРМИНАТОРОВ





четыре реакции:

ddATP

ddTTP ddCTP

ddGTP



GAATTGGCGCG GAATTGGCGC GAATTGGCG GAATTGGC GAATTGG GAATTG GAATT GAAT GAA



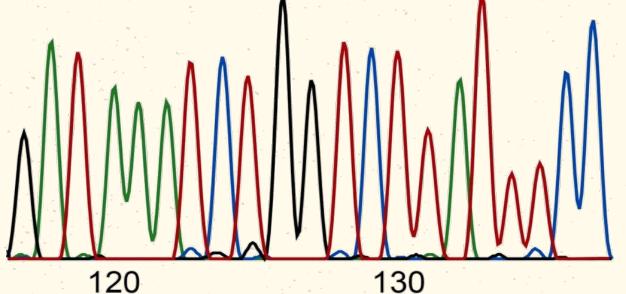






Современный Метод ТЕРМИНАТОРОВ







GAT AAAT CT G G T CT T ATT T C C





ПРЕИМУЩЕСТВА

НЕДОСТАТКИ



ТОЧНОСТЬ

достигается 99, 99%

АНАЛИЗ ОТДЕЛЬНЫХ ГЕНОВ лучший метор



при исследовании небольших фрагментов ДНК





только короткие последовательности ДНК

ВРЕМЯ



исследование длится долго

ДОРОГОВИЗНА



при большом объеме данных

Области применения



Спасибо за внимание!

