تبدأ عملية تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) باستخلاص عينة صغيرة من الحمض النووي، تتكون العملية من ثلاث مراحل رئيسية: التمسخ، يُسخّن الحمض النووي إلى 95 درجة مئوية لكسر الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعد المتكاملة في الجزيء ثنائي السلسلة. حيث يُبرّد الحمض النووي المتمسخ إلى درجة حرارة تتراوح عادةً بين 55 و72 درجة مئوية، مما يسمح للبادئات بالارتباط بتسلسلاتها المتكاملة. يكون التهجين أكثر فعالية عند درجة حرارة تتراوح بين 55 و72 درجة مئوية. يتراوح طول البادئات عادةً بين 20 و25 نيوكليوتيدًا. خلال مرحلة التهجين، ترتبط البادئات بالتسلسلات المتكاملة على الحمض النووي أحادي السلسلة عن طريق اقتران نهاياتها 3′ مع السلسلة القالب، يُمكّن هذا التفاعل من تخليق الحمض النووي المزدوج خلال مرحلة الاستطالة. وتُستخدم في المرحلة النهائية درجة حرارة تتراوح بين 75 و80 درجة مئوية لتحسين نشاط إنزيم بوليميراز الحمض النووي وتعزيز استطالة السلسلة. يحتاج إنزيم بوليميراز الحمض النووي إلى بادئ مُرتبط بالحمض النووي أحادي السلسلة لبدء تخليق السلسلة. تُكرَّر هذه العملية باستخدام جهاز التدوير الحراري، وهو جهاز يُنظِّم درجة الحرارة ومدة كل خطوة في الدورة. بما في ذلك تراكم جزيئات البيروفوسفات، يُمكن لبروتينيز K أن يُثبط تفاعل PCR عن طريق تحليل بوليميراز الحمض النووي (DNA polymerase) والبروتينات الأساسية الأخرى إذا لم تتم إزالته بشكل كافٍ أثناء تحضير العينة. يُمكن تنقية قوالب الحمض النووي (DNA) عن طريق الغسيل الكلوي أو الترسيب بالإيثانول. تشمل طرق التنقية الإضافية الاستخلاص بالكلوروفورم والكروماتوغرافيا. 5] يُجرى عادةً الفصل الكهربائي على هلام الأغاروز مع تلوين بروميد الإيثيديوم لتصوير الحمض النووي. يُمكن نقل الحمض النووي (DNA) إلى غشاء وفحصه، عادةً ما تُحصل النتائج في غضون ساعات قليلة، بينما قد تستغرق العمليات المطولة ما يصل إلى ثلاثة أيام. غالبًا ما تكفي كمية ضئيلة من الحمض النووي (DNA) أو الحمض النووي الريبي (RNA) تتراوح بين 1 و100 نانوغرام لبدء التفاعل، مع العلم أن بعض التحليلات عالية الحساسية قد تستخدم كميات أقل.

lakhasly.com © تم تلخيص النص بواسطة موقع لخصلي