

## Исследование димеризации праймеров "встык"

*Галимова Айзиля Айтугановна*

*Студент (специалист)*

Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы, Уфа,  
Россия

*E-mail: aiz.galimova@yandex.ru*

Аmplификация нуклеиновых кислот с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) является одним из наиболее широко используемых подходов при решении экспериментальных задач молекулярной биологии, генетики, судебно-медицинской экспертизы и т.д. При постановке реакции амплификации часто возникает проблема образования неспецифических продуктов, одними из которых являются продукты димеризации праймеров. В случае неудачного подбора праймеров, когда их 3'-концы комплементарны на 3 и более нуклеотидов, стандартно образуются так называемые димеры праймеров, представляющие собой двуцепочечный фрагмент с длиной, близкой к сумме длин двух праймеров. В результате такого рода залипания праймеров формируется нежелательная матрица, конкурирующая с целевой мишенью, которая амплифицируется намного эффективнее в силу небольшой длины.

Ранее нами была подробно изучена ПЦР-амплификация с помощью праймеров "встык", 3'-концы которых отжигаются на смежных нуклеотидах комплементарных цепей матрицы. Продукты ПЦР-амплификации с праймерами "встык" равны по длине сумме длин праймеров. Однако в случае некачественного подбора таких праймеров высока вероятность образования в ходе ПЦР димеров праймеров, которые имеют примерно близкие размеры и, соответственно, на электрофореграмме будут иметь подвижность, близкую к таковой для целевых ампликонов. В данной работе нами изучены различные аспекты образования димеров праймерами "встык". Были подобраны 4 пары праймеров "встык": без залипания 3'-концевых нуклеотидов, залипающие одним, двумя и тремя 3'-концевыми нуклеотидами. К ним были синтезированы матрицы M0, M1, M2, M3, на которых соответствующие праймеры отжигаются "встык", и матрица M100, на которой все праймеры максимально удалены. Для праймеров без залипания 3'-концевых нуклеотидов и залипающих одним нуклеотидом показано отсутствие наработки продуктов димеризации даже при продолжительной амплификации (до 40 циклов). Для пары праймеров, залипающих двумя 3'-концевыми нуклеотидами, продукты димеризации появляются уже к 35 циклу реакции. Электрофореграмма результатов амплификации для пары праймеров, залипающих тремя 3'-концевыми нуклеотидами, показала невозможность выявления коротких целевых продуктов реакции в силу образования димеров праймеров уже на ранних циклах амплификации. Таким образом, при подборе праймеров «встык» недопустима комплементарность праймеров даже на два 3'-концевых нуклеотида.

### Источники и литература

- 1) 1. Гарифутдинов Р.Р., Галимова А.А., Сахабутдинова А.Р., Вахитов В.А., Чемерис А.В. ПЦР-амплификация ДНК с помощью праймеров «встык» // Молекулярная биология, 2015, т. 49, № 4, с. 628-637.