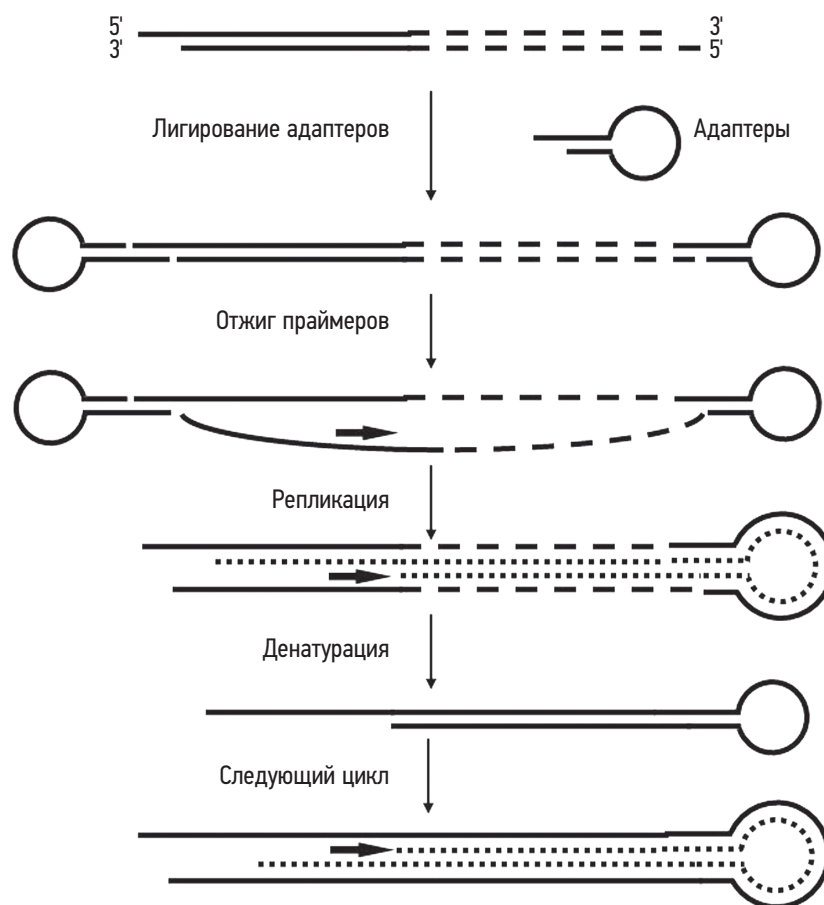




Приложение 3. Схематическое изображение принципа «boomerang»-PCR (на основе P.N. Hengen, [14]). Сплошная линия — известная последовательность ДНК; штриховая линия — неизвестный участок ДНК; пунктирная линия — продукт амплификации; стрелка — сайт посадки праймера. ДНК-мишень сначала расщепляется эндонуклеазой, которая создает липкие концы, готовые для лигирования с олигонуклеотидным адаптером. Универсальный адаптер сконструирован так, что он имеет самокомплементарные концы и некомплементарную среднюю часть. Адаптеры лигируются вместе, чтобы сформировать петлевую структуру. Затем используется один специфический праймер к известной последовательности для элонгации новой цепи ДНК вокруг изгиба адаптера. После того, как была создана новая цепь вокруг последовательности адаптера, идёт удлинение этой цепи по комплементарной матрице и вновь синтезируется сайт связывания праймера, который используется на следующей стадии денатурации, отжига и полимеризации

Appendix. 3. Schematic representation of the “boomerang”-PCR method principle (based on P.N. Hengen, [14]). Solid line: known DNA sequence; dashed line: unknown DNA segment; dotted line: amplification product; arrow: primer annealing site. The target DNA is initially cleaved by an endonuclease, which creates sticky ends ready for ligation with an oligonucleotide adapter. The universal adapter is constructed such that it has self-complementary ends and a non-complementary middle portion. Adapters are ligated together to form a loop structure. Then, a specific primer to the known sequence is used to elongate a new DNA strand around the adapter bend. After a new strand has been created around the adapter sequence, elongation of this strand along the complementary matrix occurs, and a primer binding site is resynthesized, which is used in the next denaturation, annealing, and polymerization stage