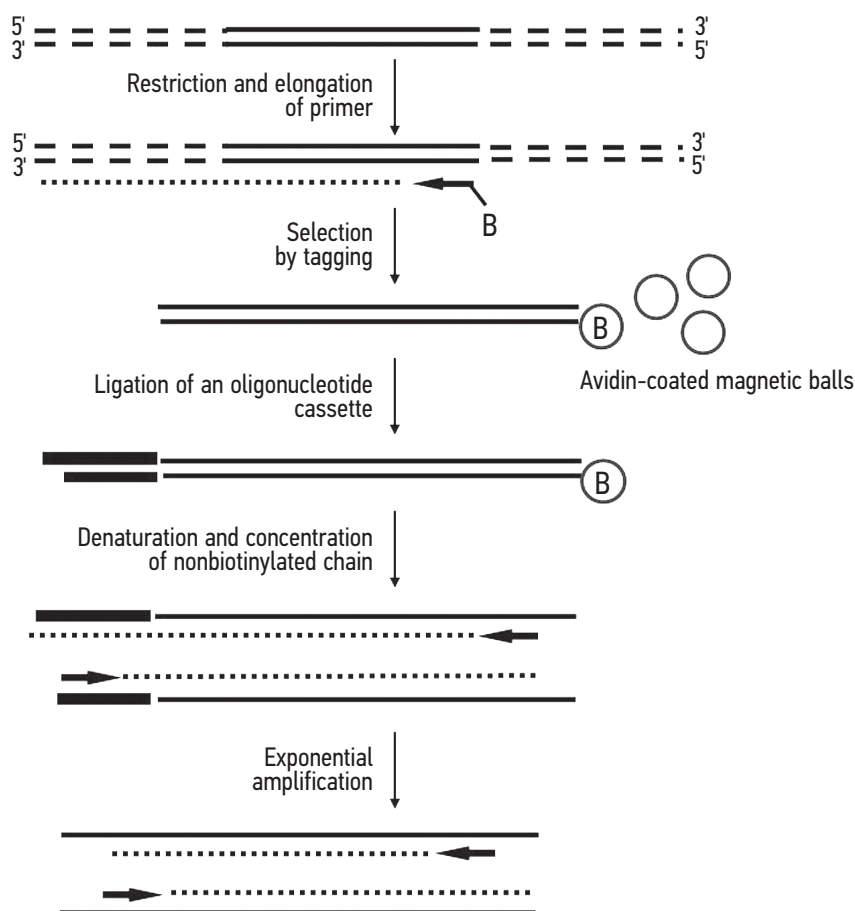




Appendix. 1. Schematic representation of the EPTS/LM-PCR method principle (based on M. Schmidt et al. [12]). Solid line, known DNA sequence; dashed line, unknown DNA segment; dotted line, amplification product; arrow, primer binding site; B, biotin; black rectangles, oligonucleotide cassette. The first step involves DNA cleavage by a restriction enzyme. Next, synthesis of the target fragment occurs using a specific biotinylated primer. The subsequent step involves concentration of biotinylated DNA on spin column, magnetic capture, and selection of target DNA. The final step is solid-phase LM-PCR: solid-phase ligation, alkaline denaturation of DNA, concentration of non-biotinylated DNA strand on spin column, and two stages of exponential amplification

Приложение 1. Схематическое изображение принципа EPTS/LM-PCR (на основе М. Schmidt и соавт. [12]). Сплошная линия — известная последовательность ДНК; штриховая линия — неизвестный участок ДНК; пунктирная линия — продукт амплификации; стрелка — сайт посадки праймера; В — биотин; черные прямоугольники — олигонуклеотидная кассета. На первом этапе происходит расщепление ДНК рестриктазой. Далее идет синтез целевого фрагмента с использованием специфического биотинилированного праймера. Следующий этап — концентрация биотинилированной ДНК на спин-колонке, магнитный захват и отбор ДНК-мишени. Последний этап — твердофазная LM-PCR: твердофазное лигирование, щелочная денатурация ДНК, концентрация небитинилированной цепи ДНК на спин-колонке и два этапа экспоненциальной амплификации