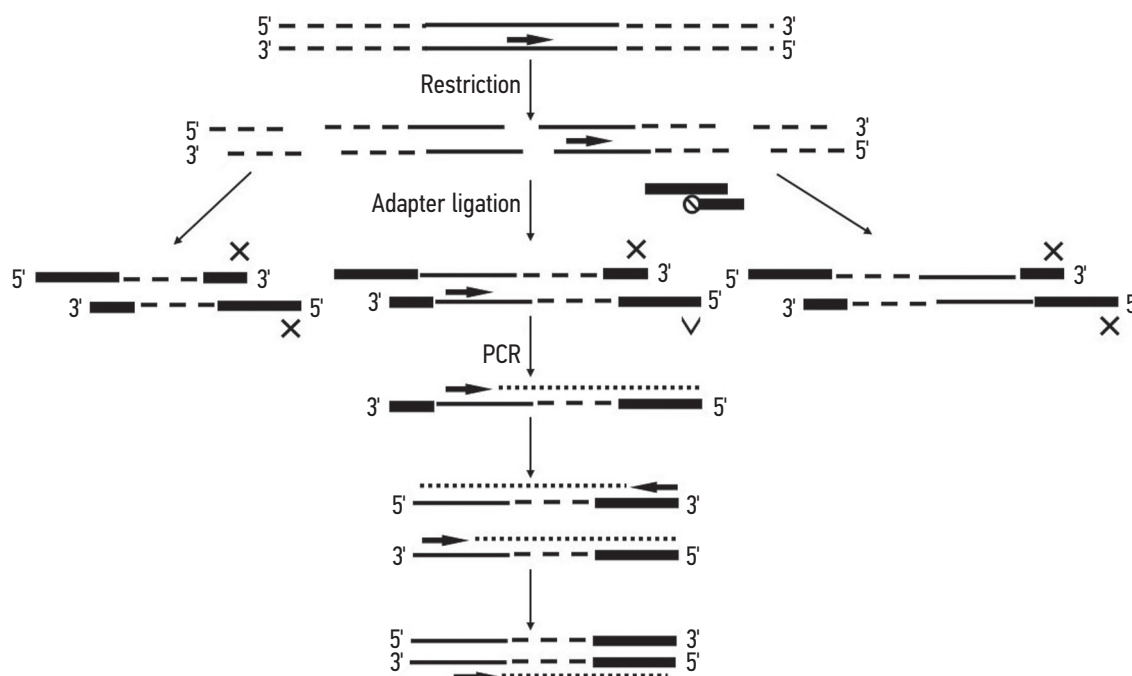




Appendix. 4. Schematic representation of the PCR principle with adapter ligation (based on O'Malley et al. [16]). Solid line, known DNA sequence; dashed line, unknown DNA region; dotted line, amplification product; arrow, primer binding site; black rectangles, adapter. Genomic DNA is cleaved by a restriction enzyme. At the cut sites, a double-stranded adapter with a long and short arm is ligated. The 3'-end of the short arm is blocked by an amino group to prevent DNA chain elongation during PCR. The PCR reaction is carried out using a primer specific to the known sequence and a primer specific to the adapter. The short arm of the adapter does not have a binding site for the adapter primer. The long arm contains a sequence of 22 nucleotides that matches exactly. The known sequence region has a binding site for the second primer. From it, a complementary chain is synthesized during PCR, creating a binding site for the primer specific to the adapter. Thus, fragments with the two necessary primer binding sites are formed. This molecule is amplified using PCR, capturing the region at the boundary of known and unknown DNA

Приложение 4. Схематическое изображение принципа ПЦР с лигированием адаптера (на основе O'Malley и соавт. [16]). Сплошная линия — известная последовательность ДНК; штриховая линия — неизвестный участок ДНК; пунктирная линия — продукт амплификации; стрелка — сайт посадки праймера; черные прямоугольники — адаптер. Геномная ДНК расщепляется рестриктазой. На места разрезов лигируется двухцепочечный адаптер с длинным и коротким плечом. 3'-конец короткого плеча заблокирован аминогруппой, чтобы предотвратить удлинение цепи ДНК во время ПЦР. Реакцию ПЦР проводят с использованием праймера, специфичного для известной последовательности и праймера, специфичного для адаптера. Последовательность короткого плеча адаптера не имеет сайта отжига адаптерного праймера. Длинное плечо содержит последовательность из 22 п. н., которая точно соответствует ему. Участок известной последовательности имеет сайт отжига второго праймера. С него в результате ПЦР синтезируется комплементарная цепь, создающая сайт связывания для праймера, специфичного для адаптера. Таким образом образуются фрагменты с двумя необходимыми сайтами отжига праймеров. Эта молекула амплифицируется с помощью ПЦР, захватывая область с границей известной и неизвестной ДНК