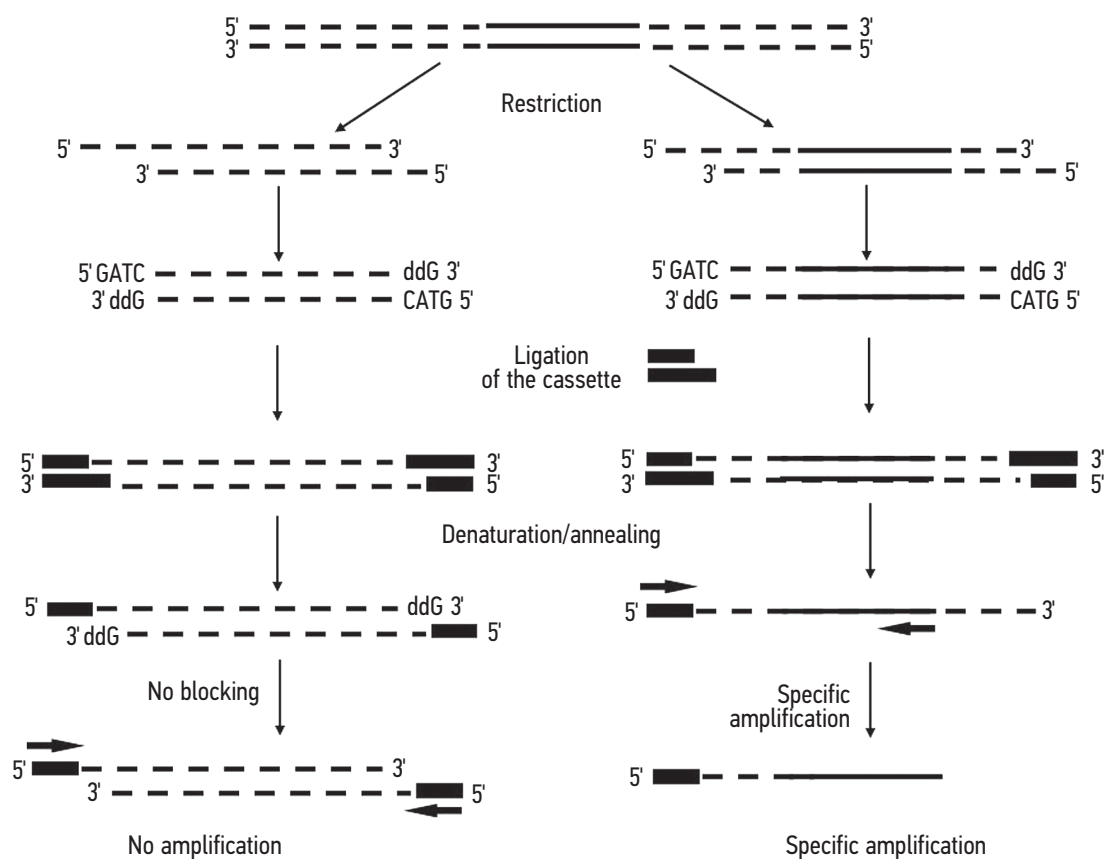




Appendix. 6. Schematic representation of the Template-blocking PCR principle (based on J.-H. Bae and J.-H. Sohn [18]). Solid line, known DNA sequence; dashed line, unknown DNA region; arrow, primer binding site; black rectangles, oligonucleotide cassette. Genomic DNA is cut by restriction enzymes, producing sticky ends. Then, the 3'-ends of the resulting fragments are blocked with dideoxynucleoside triphosphate to prevent the formation of a primer binding site during elongation in PCR. Next, a cassette without a phosphate group on the 5'-end, containing a primer binding site, is ligated. PCR is carried out using the cassette primer and a primer to the known DNA region. Amplification of the desired fragment occurs only if the sequence contains primer binding sites for both primers

Приложение 6. Схематическое изображение принципа ПЦР с блокированием матрицы (на основе J.-H. Бэе и J.-H. Сохн [18]). Сплошная линия — известная последовательность ДНК; штриховая линия — неизвестный участок ДНК; стрелка — сайт посадки праймера; черные прямоугольники — олигонуклеотидная кассета. Геномная ДНК разрезается рестриктазами с образованием липких концов. Затем 3'-концы полученных фрагментов блокируют дидезоксинуклеозидтрифосфатом для предотвращения образования сайта посадки кассетного праймера при элонгации во время ПЦР. Далее происходит лигирование кассеты без фосфатной группы на 5'-конце, содержащей сайт посадки кассетного праймера. ПЦР проводится с использованием кассетного праймера и праймера к известному участку ДНК. Амплификация нужного фрагмента происходит только в том случае, если последовательность содержит сайты посадки обоих праймеров