



**Appendix. 9.** Schematic representation of the FPNI-PCR method principle (based on Z. Wang et al. [25]). Solid line, known DNA sequence; dashed line, unknown DNA region; arrow, primer binding site; SP, gene-specific primers; FSP, fusion primers. In the first stage of PCR, single-stranded copies of the target matrix are generated in cycles with high annealing temperatures, while double-stranded products are formed in a cycle of low temperature (only 3–5 repeat PCR cycles); at this stage, the amplification of target products is likely accompanied by the formation of non-specific products. During the secondary and tertiary nested PCR, the DNA target is exponentially amplified using gene-specific and adapter-specific primers, while non-target fragments are not amplified due to the lack of a corresponding specific primer (and/or amplification is suppressed by the DNA structure in the form of a rod-loop)

**Приложение 9.** Схематическое изображение принципа метода FPNI-PCR (на основе Z. Wang и соавт. [25]). Сплошная линия — известная последовательность ДНК; штриховая линия — неизвестный участок ДНК; стрелка — сайт посадки праймера; SP — генспецифические праймеры; FSP — фьюжн-праймеры. На первом этапе ПЦР одноцепочечные копии целевой матрицы генерируются в циклах с высокой температурой отжига, а двухцепочечные продукты — в цикле низкой температурой (всего 3–5 повторных циклов ПЦР); на этом этапе амплификация целевых продуктов, вероятно, будет сопровождаться образованием неспецифических продуктов. Во время вторичной и третичной вложенной ПЦР ДНК-мишень экспоненциально амплифицируется с помощью генспецифических и специфических для адаптера праймеров. В то время как нецелевые фрагменты не амплифицируются из-за отсутствия соответствующего специфического праймера (и/или амплификация подавляется структурой ДНК в форме стержень-петля)