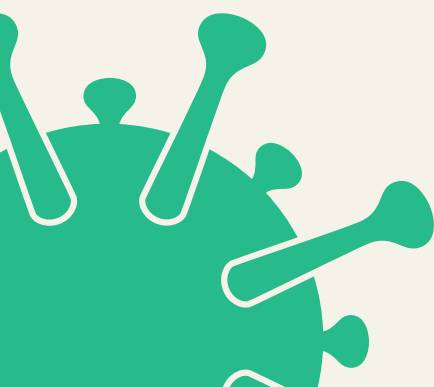
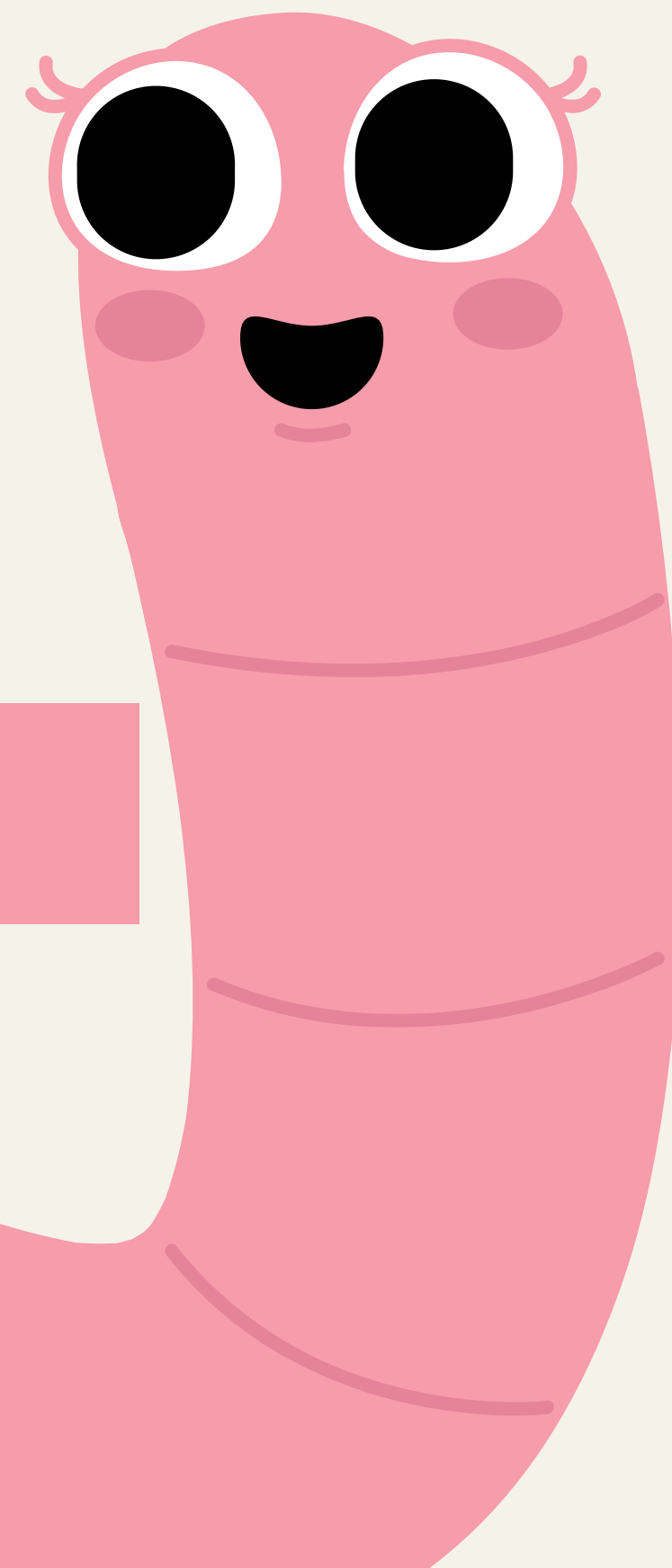
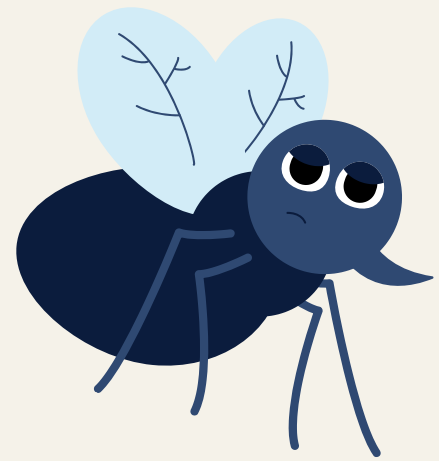


ПраЙмерЫ



что нужно знать?





ПРАЙМЕР

ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ КОРОТКУЮ ОДНОЦЕПЧЕЧНУЮ НУКЛЕИНОВУЮ КИСЛОТУ, ИСПОЛЬЗУЕМУЮ ВСЕМИ ЖИВЫМИ ОРГАНИЗМАМИ ДЛЯ ИНИЦИАЦИИ СИНТЕЗА ДНК

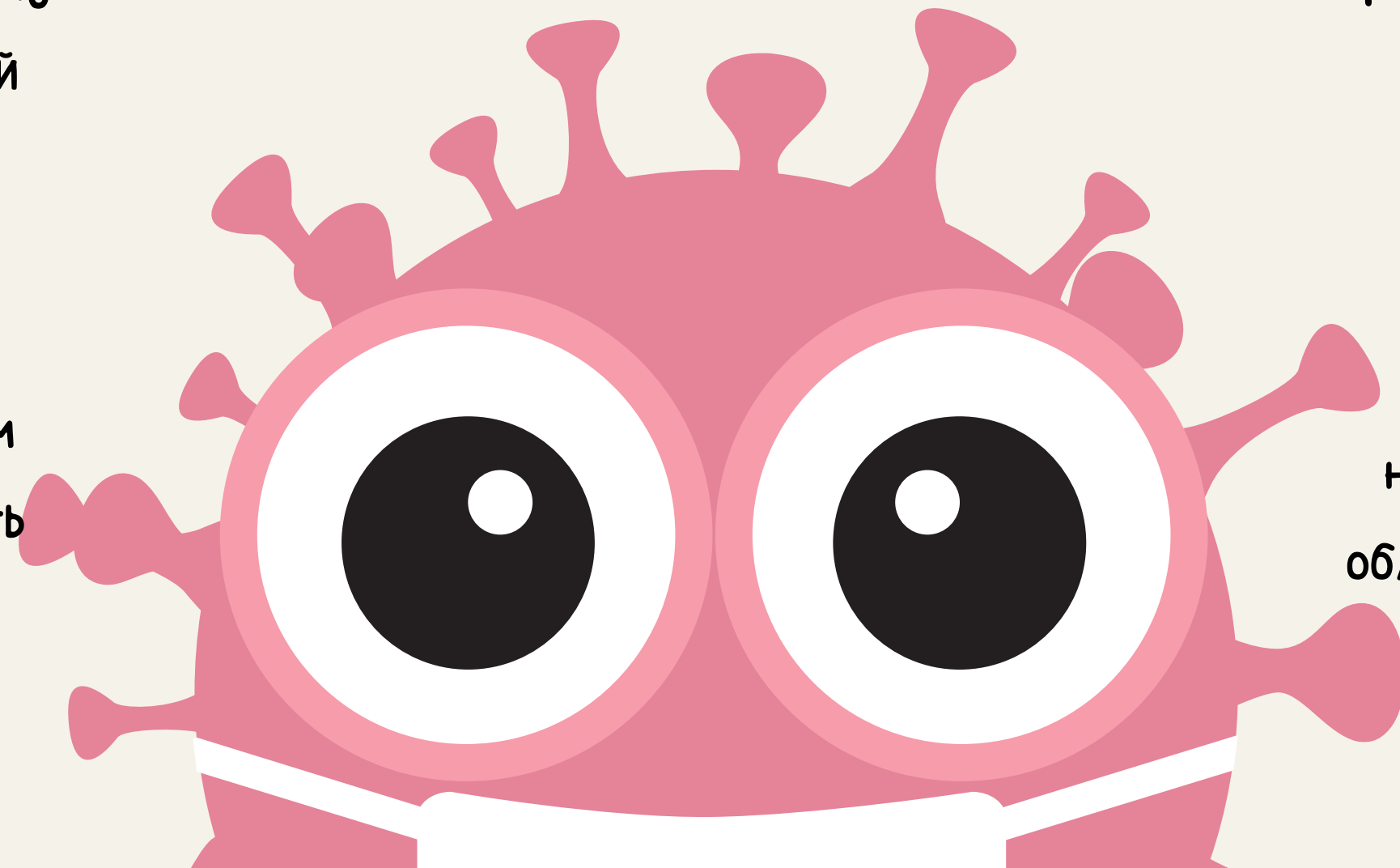


Ферменты ДНК-полимеразы (ответственные за репликацию ДНК) способны добавлять нуклеотиды только к 3'-концу существующей нуклеиновой кислоты

Требуя, чтобы праймер был связан с матрицей, прежде чем ДНК-полимераза сможет начать комплементарную цепь

ДНК-полимераза добавляет нуклеотиды после связывания с праймером РНК и синтезирует целую цепь.

Позже нити РНК должны быть аккуратно удалены и заменены нуклеотидами ДНК, образующими область разрыва, известную как ниш, которая заполняется с помощью фермента, называемого лигазой





ЧУТЬ-ЧУТЬ



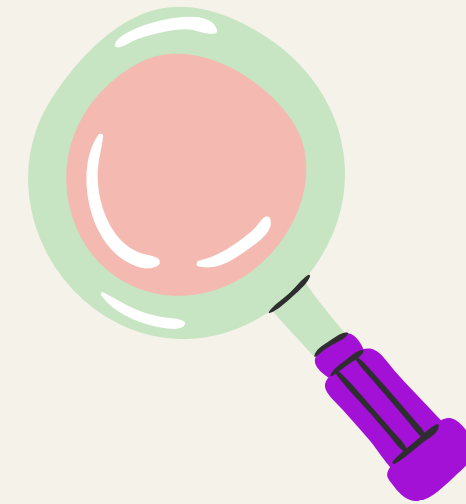
УДАЛЕНИЕ

Для процесса удаления РНК-праймера требуется несколько ферментов, таких как Fen1, Lig1



ЛАБОРАТОРИЯ

Живые организмы используют исключительно РНК-праймеры, в то время как лабораторные методы, которые требуют синтеза ДНК *in vitro* (такие как секвенирование ДНК и полимеразная цепная реакция), обычно используют ДНК-праймеры, поскольку они более устойчивы к температуре.

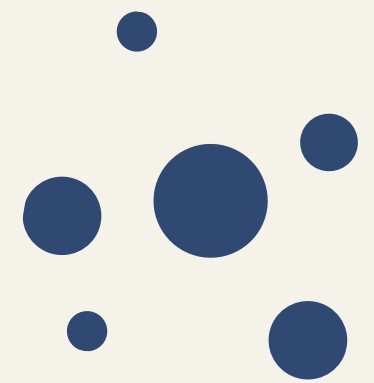


ПЦР

Праймеры могут быть разработаны в лаборатории для специфических реакций, таких как полимеразная цепная реакция (ПЦР).

ПРАЙМЕРЫ В ПЦР

МОЖЕТ БЫТЬ ИНТЕРЕСНО



При разработке праймеров для ПЦР необходимо учитывать определенные параметры, такие как температура плавления праймеров и температура отжига самой реакции. Кроме того, ДНК-связывающая последовательность праймера *in vitro* должна быть специально выбрана, что делается с использованием метода, называемого *basic local alignment search tool* (BLAST), который сканирует ДНК и находит специфические и уникальные области для связывания праймера.



ПРАЙМЕРЫ РНК IN VIVO



Праймеры РНК используются живыми организмами для инициирования синтеза цепочки ДНК. Класс ферментов, называемых примазами, добавляет дополнительный РНК-праймер к матрице считывания *de novo* как на ведущих, так и на отстающих цепях. Начиная со свободного 3'-ОН праймера, известного как конец праймера, ДНК-полимераза может удлинить вновь синтезированную цепь. Ведущая цепь в репликации ДНК синтезируется в одном непрерывном фрагменте, движущаяся вместе с репликационной вилкой, для начала синтеза требуется только начальный праймер РНК. В отстающей цепи ДНК-матрица проходит в направлении 5'→3'. Поскольку ДНК-полимераза не может добавлять основания в направлении 3'→5', комплементарные матричной цепи, ДНК синтезируется "назад" в виде коротких фрагментов, отходящих от репликационной вилки, известных как фрагменты Оказаки. В отличие от ведущей цепи, этот метод приводит к повторному запуску и остановке синтеза ДНК, требуется несколько праймеров РНК. Вдоль ДНК-матрицы примаза чередует РНК-праймеры, которые ДНК-полимераза использует для синтеза ДНК в направлении 5'→3'. [1]

Другим примером праймеров, используемых для обеспечения синтеза ДНК, является обратная транскрипция. Обратная транскриптаза – это фермент, который использует матричную цепь РНК для синтеза комплементарной цепи ДНК. ДНК-полимеразный компонент обратной транскриптазы требует наличия существующего 3'-конца для начала синтеза. [1]



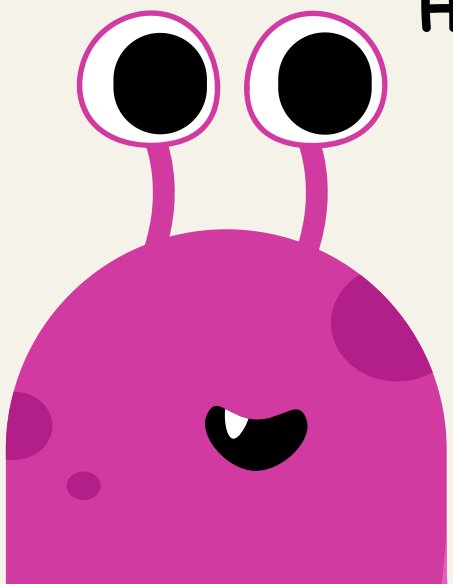
**УДАЛЕНИЕ
ПРАЙМЕРА**

У ПРОКАРИОТ

У ЭУКАРИОТ


ПРОКАРИОТ

У прокариот ДНК-полимераза I синтезирует фрагмент Оказаки до тех пор, пока он не достигнет предыдущего РНК-праймера. Затем фермент одновременно действует как 5' → 3' экзонуклеаза, удаляя рибонуклеотиды праймера спереди и добавляя дезоксирибонуклеотиды сзади. Как полимеризация, так и удаление праймера РНК происходят в направлении 5' → 3', и полимераза I может выполнять эти действия одновременно; это известно как "Перевод Ника". [3] Перевод Ника относится к синхронизированной активности полимеразы I при удалении праймера РНК и добавлении дезоксирибонуклеотидов. Позже между нитями образуется зазор, называемый ником, который запечатывается с помощью ДНК-лигазы.





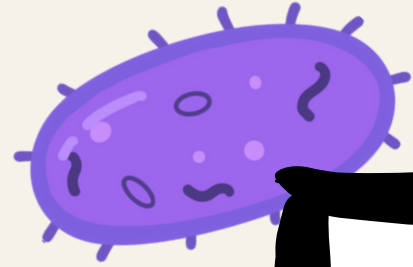
ЭУКАРИОТ



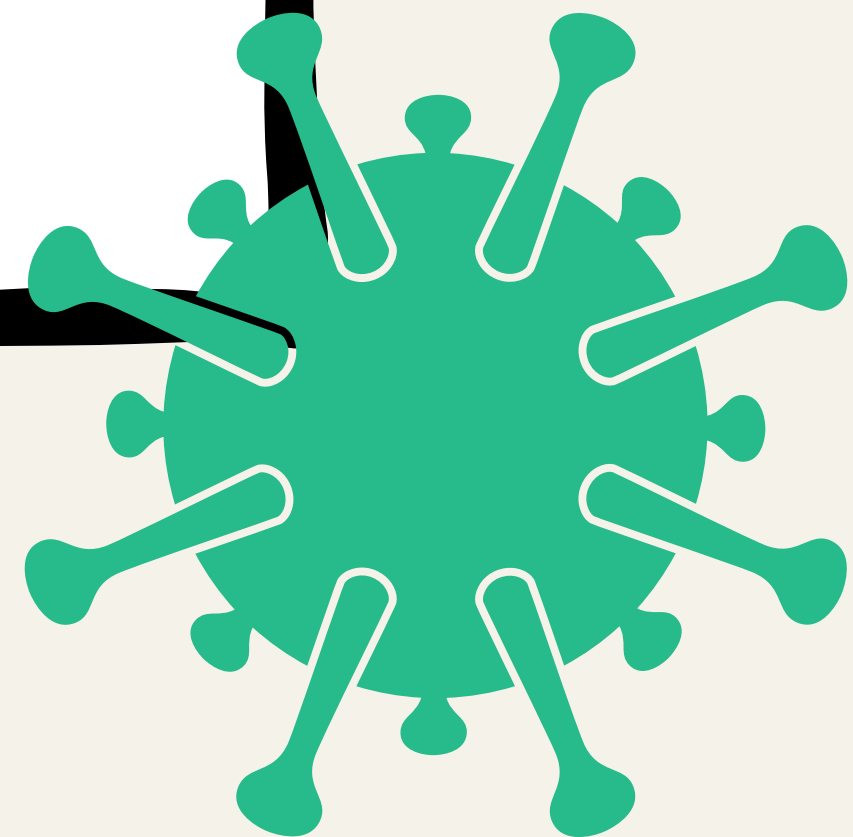
У эукариот удаление праймеров РНК в отстающей цепи имеет важное значение для завершения репликации. Таким образом, по мере того, как отстающая цепь синтезируется ДНК-полимеразой δ в направлении $5' \rightarrow 3'$, образуются фрагменты Оказаки, которые представляют собой прерывистые нити ДНК. Затем, когда ДНК-полимераза достигает 5'-конца РНК-праймера из предыдущего фрагмента Оказаки, она вытесняет 5'-конец праймера в одноцепочечный РНК-лоскут, который удаляется расщеплением нуклеазы.

Расщепление лоскутов РНК включает в себя три метода удаления праймера.[4] Первая возможность удаления праймера заключается в создании короткого лоскута, который удаляется непосредственно специфичной к структуре лоскута эндонуклеазой 1 (FEN-1), которая расщепляет 5'-нависающий лоскут. Этот метод известен как короткий путь удаления праймера РНК.[5] Второй способ расщепления праймера РНК - это разложение цепи РНК с помощью РНКазы, у эукариот она известна как РНКаза H2. Этот фермент разрушает большую часть отожденного праймера РНК, за исключением нуклеотидов, близких к 5'-концу праймера. Таким образом, оставшиеся нуклеотиды выводятся в лоскут, который отщепляется с помощью FEN-1. Последний возможный метод удаления праймера РНК известен как путь длинного лоскута.[5] В этом пути несколько ферментов привлекаются для удлинения праймера РНК, а затем отщепляют его. Створки удлинены геликазой от 5' до 3', известной как Pif1. После добавления нуклеотидов к лоскуту с помощью Pif1 длинный лоскут стабилизируется репликативным белком А (RPA). ДНК, связанная с RPA, ингибирует активность или рекрутирование FEN1, в результате для расщепления лоскута должна быть рекрутирована другая нуклеаза.[4] Эта вторая нуклеаза представляет собой ДНК-2-нуклеазу, которая обладает геликазно-нуклеазной активностью, которая расщепляет длинный фрагмент РНК-праймера, который затем оставляет после себя пару нуклеотидов, которые расщепляются FEN1. В конце, когда все праймеры РНК удалены, между фрагментами Оказаки образуются углубления, которые заполняются дезоксирибонуклеотидами с использованием фермента, известного как ligase1, посредством процесса, называемого лигированием.

НАД ПРЕЗЕНТАЦИЕЙ РАБОТАЛИ



- **Канзада Каирхан**
- **Алиев Астан**
- **Уразбаев Дархан**
- **Кенжембетова Карина**
- **Маратов Арсен**



Tb

Thank you!