

REAKCIJA POLIMERIZACIJE LANCA

Molekularni biolozi vrlo često dolaze u situaciju da analiziraju neku sekvencu molekula DNK. Pri tom oni vrše u praksi različite vrste analiza. To mogu biti: utvrđivanje prisustva date sekvence u uzorku DNK, utvrđivanje prisustva neke mutacije u analiziranoj sekvenci (promene u primarnoj strukturi DNK), određivanje primarne strukture molekula DNK itd.. Data sekvenca najčešće predstavlja deo nekog molekula DNK koji je mnogo veći od sekvence koju treba analizirati. Analiza navedene sekvence bila bi jako olakšana ukoliko bi se ona mogla izolovati od drugih. Da stvar bude još teža, u uzorku se pored molekula sa željenom sekvencom obično nalazi i mnoštvo drugih molekula koji i ne sadrže datu sekvencu. Ovo se može pokazati i na primeru. Ljudska ćelija poseduje 46 hromozoma koji sadrže DNK molekule. Smatra se da jedan hromozom sadrži jedan molekul DNK u neprekinutom vidu i različite proteine koji su vezani za njega. Tačnije, u ćeliji se nalaze 23 para hromozoma. Jedan komplet od 23 hromozoma vodi poreklo od oca, a drugi od majke. To bi značilo da u ljudskoj ćeliji postoji 23 različita hromozoma (u muškoj ćeliji prisutna su 24 različita hromozoma) čija DNK predstavlja ljudski genom. Ljudski genom sadrži oko 3 milijarde baznih parova koji su sadržani u 23, odnosno 24 molekula DNK. Analizirati neku ljudsku sekvencu dužine oko 300 baznih parova koja je deo ljudskog genoma nije ni malo lako jer ova sekvenca predstavlja samo 0,00001% datog genoma. Ako se uzme u obzir da ćelija sadrži u sebi dva kompleta od po 23 hromozoma i da primarna struktura DNK u ta dva kompleta nije uvek u potpunosti identična (nekada je upravo cilj eksperimenta i da se utvrdi ta razlika), onda ova sekvenca može predstavljati samo 0,000005% DNK sadržane u ćelijskom jedru (ukoliko je prisutna samo u jednom kompletu hromozoma). Izolovanje ove sekvence od ostatka DNK ili bar samo njeno umnožavanje, pa time i povećanje njenog udela u opštoj masi DNK jako bi olakšalo analizu.

Gore navedeni problem je rešio američki naučnik Keri Mjulis (Kary B. Mullis) koji je razvio metodu reakcije polimerizacije lanca. Ova metoda se najčešće u praksi označava skraćenicom PCR od engleskog naziva „Polymerase chain reaction“. PCR predstavlja replikaciju određene specifične sekvence molekula DNK in vitro. Na ovaj način se umnožava (amplificira) tačno definisana željena sekvenca, a ne čitav molekul. Ona se može iskopirati u vrlo veliki broj kopija. To može biti milijardu pa i hiljadu milijardi puta. Ovim bi kratka sekvenca data u gore navedenom primeru bila posle dobijanja milijardu kopija u 50 puta većoj količini od ostatka DNK iz jedra, odnosno u 50000 puta većoj količini ukoliko bi se amplificirala hiljadu milijardi puta. Ovako umnoženu sekvencu je mnogo lakše analizirati. Zahvaljujući ovome najčešće nije potrebna upotreba radioaktivnog materijala prilikom analiza. Zbog toga je PCR uneo pravu revoluciju u molekularnoj biologiji. Gotovo preko noći su analize koje su bile nemoguće ili teško izvodive postale moguće, odnosno znatno lakše izvodive. Zahvaljujući ovoj metodi urađeni su radovi u oblasti fundamentalnih nauka od neprocenjivog značaja. Ona je našla primenu i u praksi. U dijagnostici genetskih i zaraznih bolesti, kriminalistici, analizi arheoloških uzoraka (ljudskog, životinjskog i biljnog porekla), kao i u genetskom inženjerstvu, PCR je vrlo popularna metoda koja je često i nezamenjiva. Ona je već toliko ušla u praktičnu upotrebu da je izazvala promenu nekih postojećih i donošenje novih zakona u zemljama gde se primenjuje. Ovo je metoda koja je već počela da menaja našu svakodnevicu, a pred njom je još veća budućnost.

----- OSTATAK TEKSTA NIJE PRIKAZAN. CEO RAD MOŽETE
PREUZETI NA SAJTU. -----

www.maturskiradovi.net

MOŽETE NAS KONTAKTIRATI NA E-MAIL: maturskiradovi.net@gmail.com