

# PCR

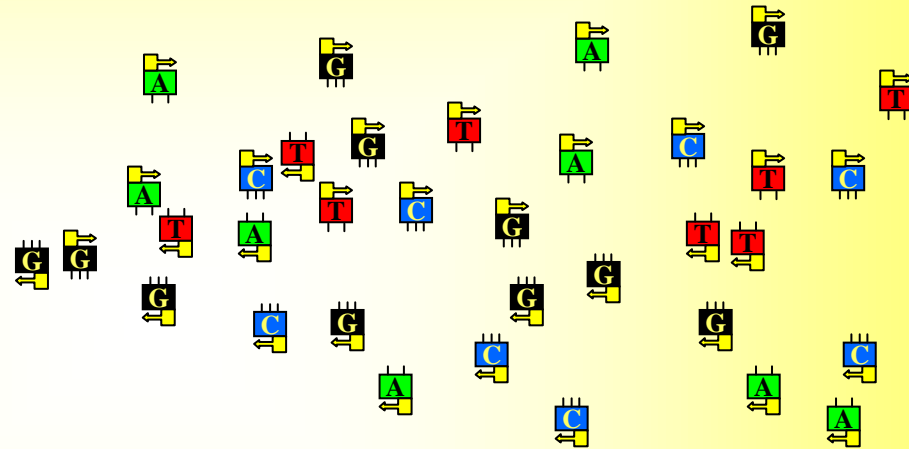
Polymerase Chain Reaction =  
Reazione a catena della polimerasi

- ⊗ Amplifica un frammento di **DNA di cui si conosce** almeno in parte **la sequenza**
- ⊗ Utilizza un enzima, la **DNA Polimerasi**, per copiare una molecola di DNA
- ⊗ La reazione è **ciclica** e viene ripetuta più volte
- ⊗ La tecnica è molto sensibile e consente di identificare un gene partendo anche da una singola molecola di DNA



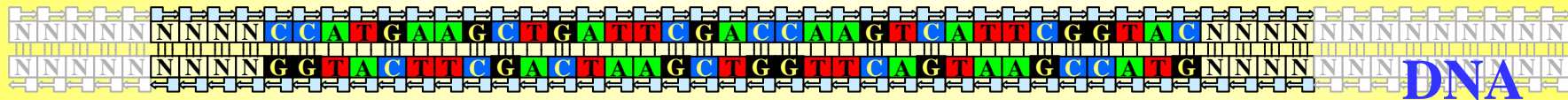
# I componenti necessari per la PCR:

Taq DNA Polimerasi



Nucleotidi

Primer1



DNA



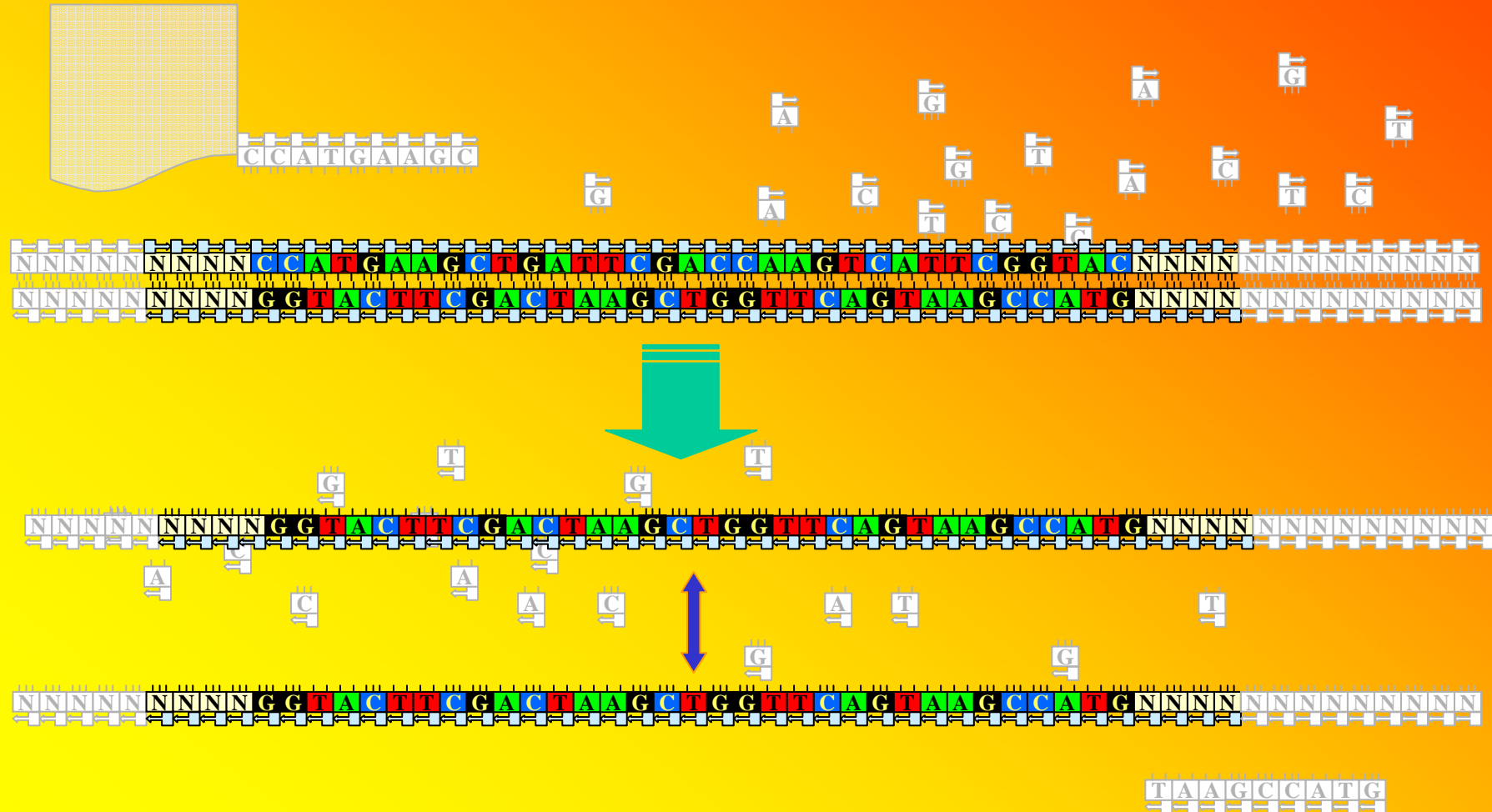
Primer2



# 1° Ciclo / 1<sup>A</sup> fase : Denaturazione

## Temperatura = 95°C

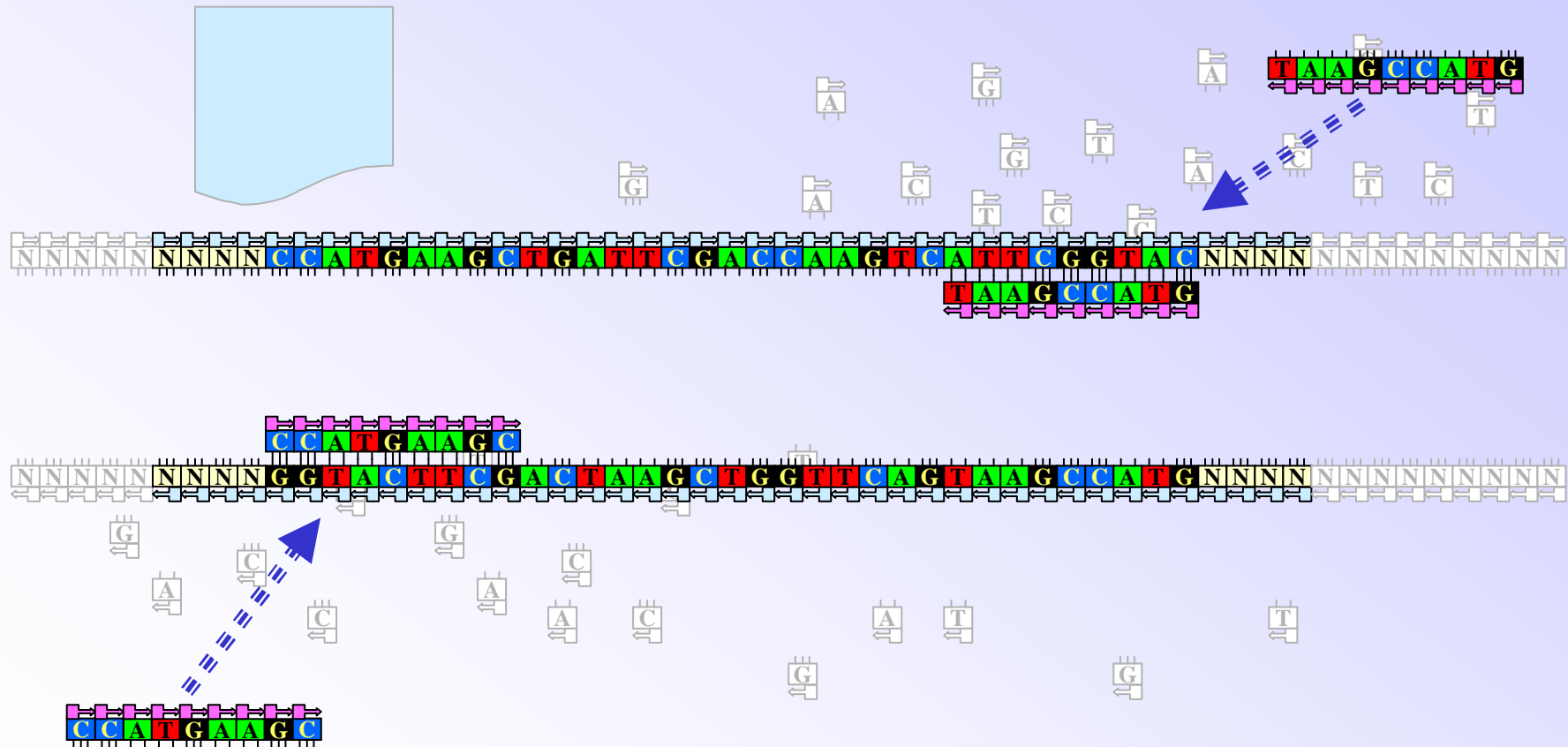
*I due filamenti complementari di DNA si dissociano*



# 1° Ciclo / 2<sup>A</sup> fase : Appaiamento

## Temperatura = 55°C

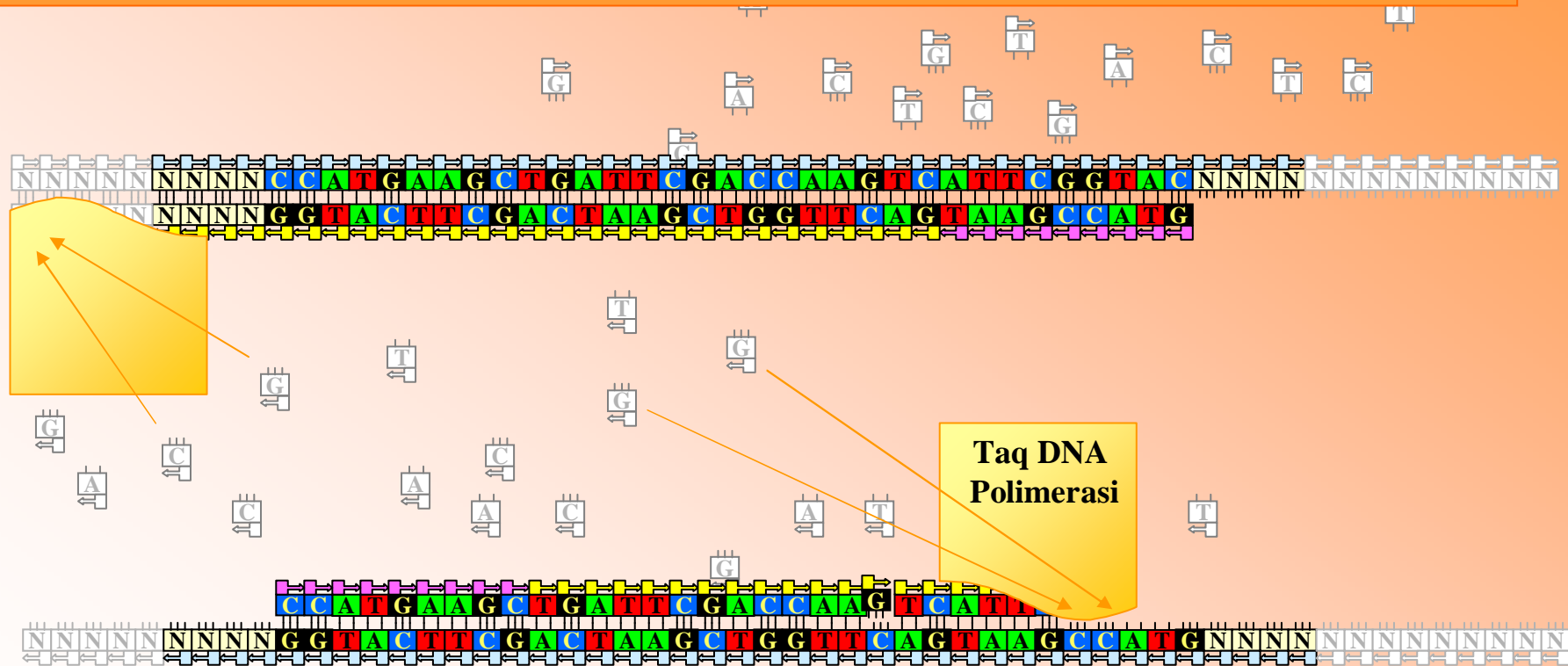
*I primers si associano ai filamenti di DNA dove è presente una sequenza complementare*



# 1° Ciclo / 3<sup>A</sup> fase : Polimerizzazione

## Temperatura = 72°C

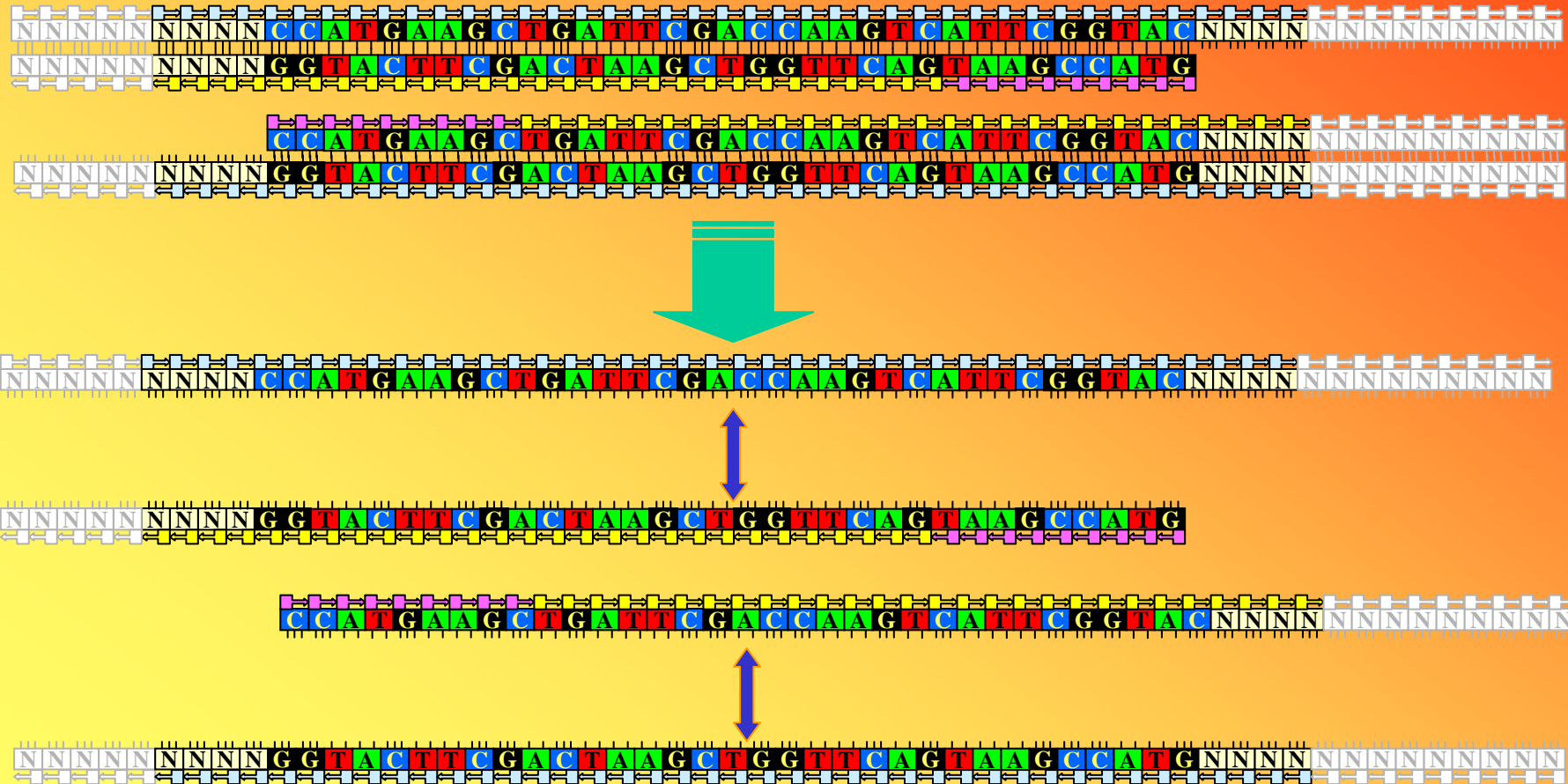
*Per azione della polimerasi vengono sintetizzati i nuovi filamenti. Iniziando dai primer, vengono inseriti i nucleotidi complementari rispetto al filamento originale (A↔T, G↔C)*



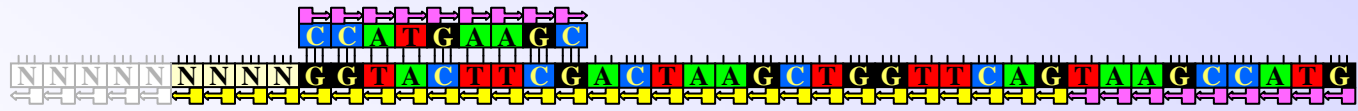
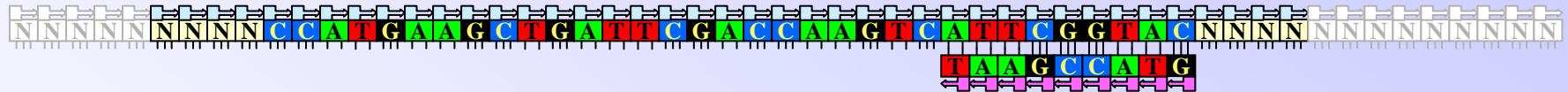
# 2° Ciclo / 1<sup>A</sup> fase : Denaturazione

## Temperatura = 95°C

*La reazione si sussegue ciclicamente, raddoppiando ad ogni ciclo (in linea Teorica) i filamenti che fungono da stampo per la polimerasi.*



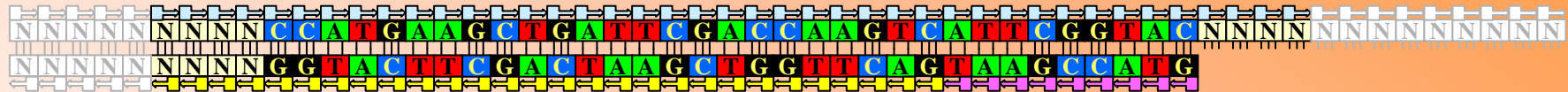
# 2° Ciclo / 2<sup>A</sup> fase : Appaiamento Temperatura = 55°C



# 2° Ciclo / 3<sup>A</sup> fase : Polimerizzazione

## Temperatura = 72°C

*Le copie di DNA effettuate a partire dai filamenti sintetici hanno una lunghezza fissa e predeterminata*



lunghezza fissa



lunghezza fissa

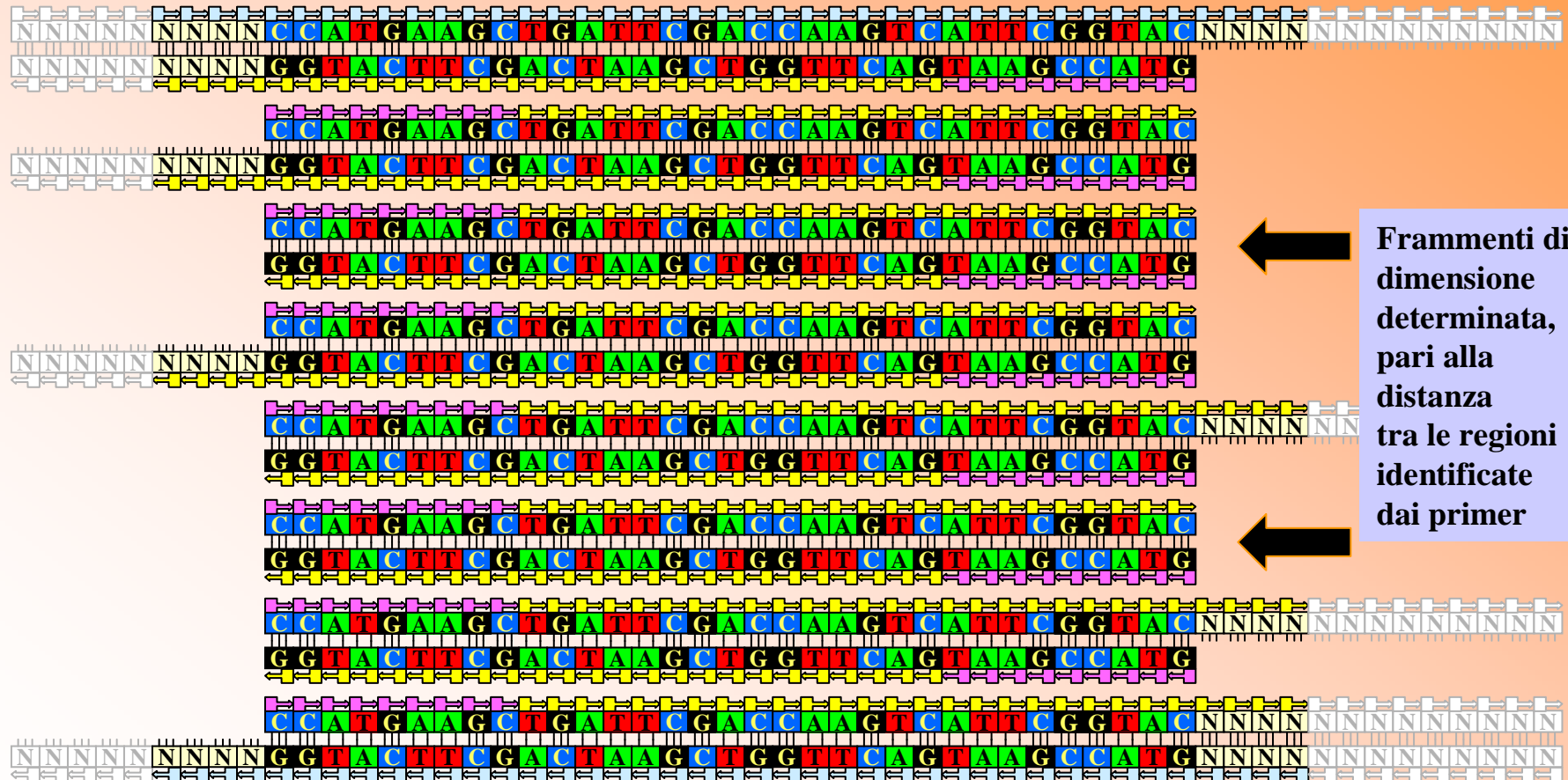


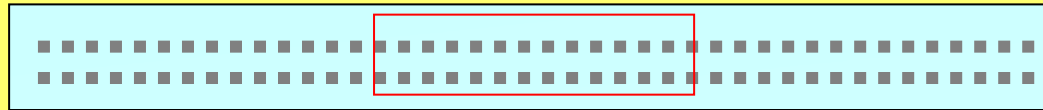


# 3° Ciclo / 3<sup>A</sup> fase : Polimerizzazione

## Temperatura = 72°C

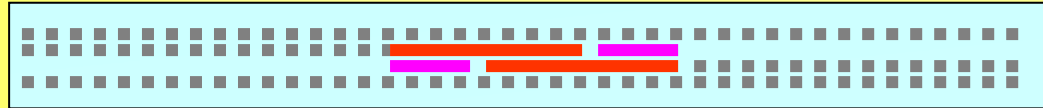
*Ciclo per ciclo i filamenti sintetizzati aumentano di numero, secondo una progressione quasi geometrica*





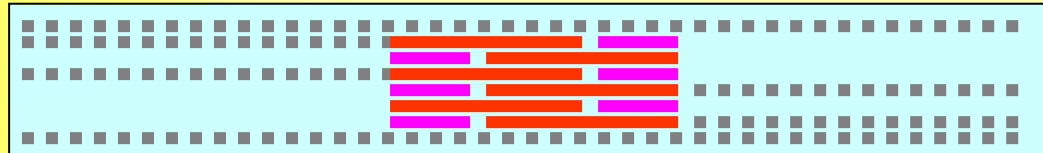
## DNA originale

Nessuna copia



### 1° Ciclo

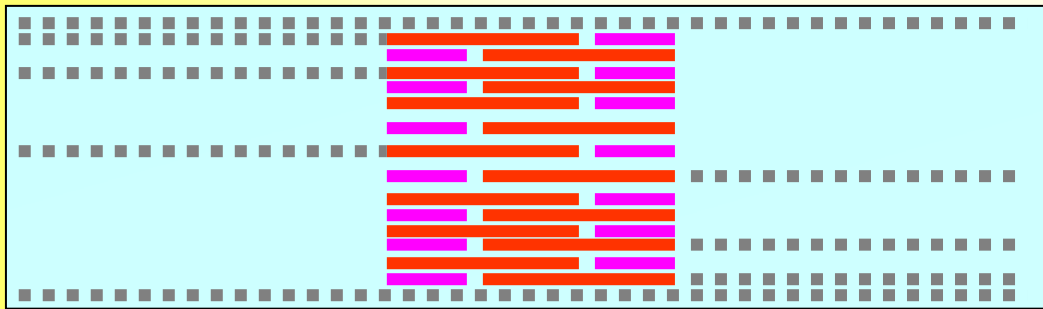
2 frammenti copia di lunghezza indeterminata



### 2° Ciclo

4 frammenti copia di lunghezza indeterminata

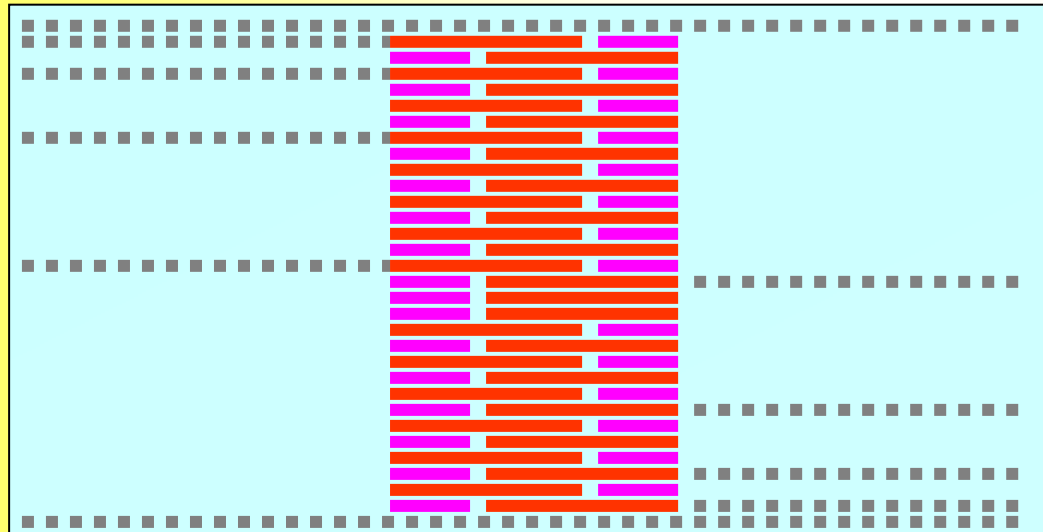
2 frammenti copia di lunghezza determinata



### 3° Ciclo

6 frammenti copia di lunghezza indeterminata

8 frammenti copia di lunghezza determinata



### 4° Ciclo

8 frammenti copia di lunghezza indeterminata

22 frammenti copia di lunghezza determinata

## Progressione della Reazione



**Al 30° ciclo (teoricamente) :**  
**70 frammenti aspecifici e**  
**1.073.741.754 frammenti**  
**specifici**





Le molecole così amplificate e di lunghezza nota testimoniano la presenza del gene ricercato. Esse possono essere facilmente visualizzate ed identificate tramite analisi elettroforetica

