

следует выделить: тип и термопроводящие характеристики амплификатора, тип используемой ДНК-полимеразы, состав буферного раствора, объем реакционной смеси; длину и первичную структуру праймеров; выбранную специфическую последовательность ДНК.

Используемое оборудование и режим амплификации указывают в фармакопейной статье и нормативной документации или приводят ссылку на инструкцию по применению набора реагентов для ПЦР.

Детекция продуктов амплификации

Электрофоретическое разделение. Продукты амплификации анализируют с помощью различных методов электрофореза в агарозном или полиакриламидном гелях. Для визуализации ДНК используют окрашивание интеркалирующим красителем (обычно - бромистым этидием, дающим характерное красноватое свечение при исследовании в проходящем ультрафиолетовом свете), серебра нитратом или используют мечение различными флюорохромами, дающими флюоресценцию определенной длины волны при возбуждении лазерным лучом. Для оценки размеров амплифицированных фрагментов используют маркеры и стандартные образцы.

Концентрацию геля, приготовление растворов, маркеры, стандартные образцы и условия электрофореза указывают в фармакопейной статье или нормативной документации.

Детекция флюоресценции в режиме реального времени. Способ детекции амплифицированного фрагмента с использованием флюоресцентных меток возможен при проведении ПЦР в реальном времени (Real Time PCR). Отличительной чертой данного метода, в сравнении с классической ПЦР, является возможность не только качественного (по конечной точке или в режиме «реального времени»), но и количественного определения ДНК/РНК в исследуемом материале, отсутствие стадии электрофореза и автоматическая регистрация детектируемого сигнала.

Метод основан на измерении флюоресцентного сигнала в каждом цикле