

### [Akceptuje](#)

W ramach naszej witryny stosujemy pliki cookies w celu świadczenia państwu usług na najwyższym poziomie, w tym w sposób dostosowany do indywidualnych potrzeb. Korzystanie z witryny bez zmiany ustawień dotyczących cookies oznacza, że będą one zamieszczone w Państwa urządzeniu końcowym. Możecie Państwo dokonać w każdym czasie zmiany ustawień dotyczących cookies. Więcej szczegółów w naszej [Polityce Prywatności](#)

[Portal](#) [Informacje](#) [Katalog firm](#) [Praca](#) [Szkolenia](#) [Wydarzenia](#) [Porównania międzylaboratoryjne](#)  
[Kontakt](#)



[Laboratoria](#)  
[.net](#)  
[Innowacje](#)  
[Nauka](#)  
[Technologie](#)

[Logowanie](#) [Rejestracja](#) [pl](#)

Newsletter

zapisz się



- [Nowe technologie](#)
- [Felieton](#)
- [Tygodnik "Nature"](#)
- [Edukacja](#)
- [Artykuły](#)
- [Przemysł](#)

[Strona główna](#) > [Artykuły](#)

## Metody sekwencjonowania DNA

### Streszczenie

Kwas deoksyrybonukleinowy stanowi materiał genetyczny większości organizmów żywych. Za różnice w budowie i funkcjonowaniu organizmów odpowiedzialna jest kolejność nukleotydów w podwójnej helisie DNA. Poznanie tej kolejności umożliwia techniki sekwencjonowania DNA. Ich szybki rozwój został zapoczątkowany w 1977 roku przez dwa zespoły badawcze, które opracowały pierwsze metody szybkiego i wydajnego sekwencjonowania DNA. Od tego czasu powstało wiele technik pozwalających na wzrost wydajności i poprawności sekwencjonowania. Do chwili obecnej techniki odczytywania sekwencji kwasów nukleinowych zostały udoskonalone i w pełni zautomatyzowane. Komputery zajmują się odczytywaniem kolejności nukleotydów, gromadzeniem danych, a nawet analizą sekwencji.

**Słowa kluczowe:** sekwencjonowanie DNA, metoda Sangera, metoda dideoksy, metoda Maxama i Gilberta, pirosekwencjonowanie



## Wstęp

Podstawowym nośnikiem informacji genetycznej organizmów eukariotycznych, prokariotycznych, archeonów oraz niektórych wirusów jest kwas deoksyrybonukleinowy (DNA - deoxyribonucleic acid). W podwójnej helisie DNA zapisane są i przekazywane z pokolenia na pokolenie informacje o budowie i funkcjonowaniu organizmów [11]. Jako nukleina został on wyizolowany w 1869 roku przez Friedricha Mieschera. Od tego momentu minęło wiele lat nim została odkryta jego budowa oraz struktura przestrzenna [5].

W roku 1953 James Watson i Francis Crick stworzyli aktualny do dziś model budowy cząsteczki DNA, z którego wynika, że jest to dwuniciowa helisa. Każda z nici zbudowana jest z nukleotydów połączonych wiązaniami fosfodiesterowymi. Nukleotyd składa się z zasady azotowej - puryny lub pirymidyny, cząsteczki cukru zwanego deoksyrybozą oraz reszty fosforanowej, która w łańcuchu DNA łączy się z pierścieniem cukru kolejnego nukleotydu. Łańcuchy deoksyrybofosforanowe tworzą szkielet helisy, dwie nici połączone są komplementarnymi parami zasad azotowych. W DNA występują dwie grupy zasad azotowych: puryny: guanina i adenina oraz pirymidyny: cytozyna i tymina. To właśnie sekwencja tych zasad ma fundamentalne znaczenia dla życia na naszej planecie [11]. Nic więc dziwnego, że człowiek od najdawniejszych czasów pragnie poznać sekwencję nukleotydów w DNA.

Pierwszym sukcesem w dziedzinie sekwencjonowania DNA była publikacja przez Wu i Kaiser sekwencji „lepkiego końca” DNA faga  $\lambda$ . Miało to miejsce w roku 1968, i mimo, że zastosowana przy tym metoda sekwencjonowania była żmudna i pracochłonna było to w tamtych czasach ogromne osiągnięcie [15].

Szybkie i wydajne procedury sekwencjonowania kwasów nukleinowych powstały dopiero w drugiej połowie lat 70 - tych zeszłego stulecia. Niemalże równocześnie zostały opublikowane dwie techniki umożliwiające poznanie sekwencji zasad w DNA. Jedna zwana metodą chemicznej degradacji łańcucha DNA zaproponowana przez Maxama i Gilberta i druga, metoda terminacji łańcucha stworzona przez zespół Sangera. Początkowo obie te metody cieszyły się jednakową popularnością i obie do tej pory stosowane są w wielu laboratoriach. Jednakże po latach to metoda Sangera stała się powszechniej stosowaną, m. in. ze względu na możliwość jej automatyzacji [2,3]. Metoda ta, niedługo po jej opublikowaniu pozwoliła na zsekwencjonowanie całego genomu faga  $\Phi$ X174 o długości 5,4 tysiąca nukleotydów, ludzkiego genomu mitochondrialnego (16,6 kbp), czy faga  $\lambda$  (48,5 kbp), były to ogromne osiągnięcia biologii lat 70 - tych i 80 -tych. W latach 80 - tych sekwencjonowanie niewielkich genomów stało się stosunkowo szybkie i proste, natomiast nieustannie problem stanowiły duże genomy. Jednakże obecnie, dzięki rozwojowi innowacyjnych metod sekwencjonowania, jak i ich automatyzacji poznawanie sekwencji nukleotydowej DNA stało się znacznie łatwiejsze i szybsze, dzięki czemu ukończono sekwencjonowanie wielu genomów organizmów prokariotycznych, jak i eukariotycznych, także w 2001 roku została opublikowana pełna sekwencja genomu człowieka [5,7].

Obecnie sekwencjonowanie DNA jest narzędziem wykorzystywanym w wielu dziedzinach nauki, m. im. w archeologii, antropologii, genetyce, biotechnologii, biologii molekularnej, czy sądownictwie [4]. Dzięki redukcji kosztów, jak i czasu trwania sekwencjonowania stało się ono użyteczne w walce z nowotworami u ludzi, a także chorobami infekcyjnymi. Nastąpił znaczny rozwój w dziedzinie genetyki człowieka, obecnie możliwe jest poznanie osobistego genomu każdego człowieka. Postępy w technikach sekwencjonowania przysłużyły się również ekologii oraz badaniom nad organizmami wymarłymi [13].

## **Sekwencjonowanie metodą chemicznej degradacji DNA**

Metoda chemicznej degradacji łańcucha została opracowana w roku 1977 przez Allana Maxama i Waltera Gilberta, stąd zwana jest również metodą Maxama i Gilberta. Na procedurę sekwencjonowania tą metodą składają się 3 podstawowe etapy: chemiczna modyfikacja zasady azotowej, usunięcie zmodyfikowanej zasady oraz przecięcie nici DNA w miejscu AP [4]. Matrycę do sekwencjonowania DNA w tej metodzie może stanowić jedno - bądź dwuniciowy DNA wyznakowany radioaktywnie na końcu 5'. Pierwotnie znakowano nici DNA izotopem fosforu  $^{32}\text{P}$ . Odbywało się to dzięki zastosowaniu fosfatazy alkalicznej w celu usunięcia terminalnej reszty fosforanowej i wyznakowaniu nici DNA fosforanem, pochodzącym z  $[\gamma - ^{32}\text{P}]\text{ATP}$  dzięki aktywności kinazy polinukleotydowej [9]. Obecnie poszukuje się mniej szkodliwych, nieradioaktywnych metod znakowania DNA, stosuje się m. in. system z zastosowaniem biotyny, streptawidyny lub, w przypadku amplifikacji fragmentu w PCR, znakowanych fluorescencyjnie starterów [4].

Zgodnie z założeniami autorów sekwencjonowanie DNA odbywa się dzięki zastosowaniu odczynników chemicznych z jednej strony pozwalających na modyfikację poszczególnych zasad azotowych, z drugiej zaś na przecięcie nici DNA w pozycji poprzedzającej miejsce AP (apurynowe, bądź apirymidynowe). W celu modyfikacji konkretnej zasady azotowej należy zastosować odpowiednie odczynniki chemiczne w przypadku, puryn Maxam i Gilbert stosowali siarczan dimetylu, w przypadku pirymidyn - hydrazynę. Reakcja tych odczynników była ograniczona do jednej zasady azotowej na 50 - 100 zasad w DNA [9]. Obecnie, regulacja stężenia siarczanu dimetylu lub hydrazyny pozwala na modyfikację tylko jednej zasady w jednej cząsteczce DNA [2].

Uzyskanie pełnej sekwencji DNA docelowego fragmentu wymaga przeprowadzenia czterech równoległych reakcji, wg autorów niezbędne reakcje to:  $\text{G}>\text{A}$ ,  $\text{A}>\text{G}$ ,  $\text{C}$  oraz  $\text{C}+\text{T}$ .

Reakcja  $\text{G}>\text{A}$  polegała na metylacji guaniny oraz w niewielkim stopniu adeniny, dzięki zastosowaniu siarczanu dimetylu. Siarczan dimetylu posiada zdolność metylacji guaniny w pozycji N7 oraz adeniny w pozycji N3, przy czym metylacja guaniny zachodzi 5 razy szybciej. Wiązanie glikozydowe zmetylowanej puryny jest stosunkowo słabe i łatwo je zerwać. Stosowano w tym celu 0,1 M roztwór zasady w temperaturze  $90^{\circ}\text{C}$ . W elektroforezie poliakrylamidowej uzyskiwano mocne paski zakończone guaniną i bardzo słabe adeniną. Podczas drugiej reakcji, preferencyjną metylację adeniny uzyskiwano dzięki traktowaniu DNA, prócz siarczanu dimetylu, rozcieńczonym kwasem. Zastosowanie hydrazyny powoduje rozszczepienie pierścieni pirymidyn (modyfikację cytozyny i tyminy). Cząsteczki ze zmodyfikowaną jedynie cytozyną uzyskuje się dzięki dodaniu 2M roztworu NaCl, który powoduje zahamowanie modyfikacji tyminy [9].

Obecnie warunki reakcji zaproponowanych przez Maxama i Gilberta uległy różnorodnym modyfikacjom. Najpopularniejsze wydaje się być zastąpienie reakcji  $\text{G}>\text{A}$  przez reakcję specyficzną dla guaniny (G) z zastosowaniem siarczanu dimetylu, lecz odmiennych warunków reakcji oraz zastosowanie reakcji preferencyjnej dla puryn A+G, poprzez użycie kwasu mrówkowego, który powoduje protonację atomów azotu pierścieni puryn oraz osłabienie wiązania glikozydowego [2,4,10].

Kolejnym etapem sekwencjonowania metodą Maxama i Gilberta jest chemiczna degradacja łańcucha DNA. Zastosowanie piperydyny powoduje hydrolizę wiązań N - glikozydowych oraz wiązań fosfodiesterowych od strony 3' miejsca AP pozostałego po usunięciu zmodyfikowanej zasady [10]. W rezultacie powstaje pula cząsteczek DNA wyznakowanych oraz niewyznakowanych. Fragmenty wyznakowane mają jeden koniec identyczny, natomiast różnią się drugim końcem powstałym w wyniku cięcia. W każdej z czterech przeprowadzonych reakcji powstaje pula cząstek, w której znany jest ostatni usunięty nukleotyd. Każdą z nich należy poddać rozdzielni elektroforetycznej w żelu poliakrylamidowym, najlepiej w tym samym żelu w osobnych kanałach. Pozwoli to na większą czytelność wyników. Sekwencje odczytuje się na autoradiogramie od prążka położonego najniżej idąc prążek po prążku w górę [2].

Metoda ta, choć obecnie już coraz rzadziej stosowana, ma jedną bardzo ważną zaletę, nie jest wrażliwa na sekwencje powtarzalne w DNA, bogate w pary GC, które to są problematyczne dla polimerazy DNA i często skutkują ich poślizgiem [10].

### **Sekwencjonowanie DNA metodą terminacji łańcucha**

Metoda sekwencjonowania za sprawą terminacji łańcucha, zwana również metodą Sangera lub metodą dideoksy, została opublikowana parę w Biochemistry kilka miesięcy po metodzie chemicznej degradacji DNA w roku 1977.

Metoda ta wykorzystuje właściwości dideoksynukleotydów, czyli nukleotydów nieposiadających grupy hydroksylowej, a jedynie wodór w pozycjach 2' i 3' cukru. Przyłączenie dideoksynukleotydu do nowo syntetyzowanego DNA hamuje wydłużanie nici, z powodu braku grupy hydroksylowej w pozycji 3' pentozy, niezbędnej do utworzenia wiązania fosfodiesterowego [14].

Matrycę dla sekwencjonowania metodą dideoksy może stanowić jedynie jednoniciowy DNA [15]. Materiałem wyjściowym do sekwencjonowania jest pula identycznych jednoniciowych cząsteczek DNA. Pierwszy etap reakcji stanowi przyłączenie starterów dla polimerazy DNA (komplementarne do matrycy oligonukleotydy), dzięki którym enzym może rozpocząć syntetyzowanie komplementarnej nici DNA. Mieszanina reakcyjna wymaga dodania trójfosforanów deoksynukleotydów (dNTP), w normalnych warunkach powstałaby po prostu komplementarna do matrycy nić DNA. Jednakże w metodzie terminacji łańcucha kluczowe znaczenie ma dodanie do mieszaniny reakcyjnej niewielkiej ilości trójfosforanów dideoksynukleotydów (ddNTP). Pierwotnie konieczne było przeprowadzenie czterech reakcji, dla każdego nukleotydu osobno. Każda mieszanina reakcyjna zawierała identyczną jednoniciową matrycę badanego DNA, oligonukleotydy stanowiące startery dla syntezy DNA, odpowiednia polimerazę DNA, oraz zestaw nukleotydów:

- $[\alpha - 32P]dATP$ , dGTP, dTTP, dCTP i ddCTP;
- $[\alpha - 32P]dATP$ , dGTP, dTTP, dCTP i ddTTP;
- $[\alpha - 32P]dATP$ , dGTP, dTTP, dCTP i ddGTP;
- $[\alpha - 32P]dATP$ , dGTP, dTTP, dCTP i ddATP [14].

W każdej z przeprowadzonych reakcji prócz obecności konkretnego dideoksynukleotydu, np. ddCTP niezbędne jest również dodanie go w formie deoksynukleotydu, tutaj dCTP. Pozwala to na swobodną syntezę komplementarnej nici DNA i jej terminację w losowym miejscu, generując pulę różnej długości fragmentów zakończonych cytozyną [2]. Dla zapewnienia dokładności syntezy DNA oraz odczytu właściwej sekwencji ważny jest również dobór odpowiedniej polimerazy DNA. Ustalono kilka warunków, które enzym ten musi spełniać, by można go było zastosować w reakcji sekwencjonowania:

- wysoka procesywność, która pozwala na oddysocjowanie nici dopiero po całkowitym zakończeniu jej syntezy, czyli przyłączeniu się ddNTP;
- brak aktywności egzonukleazy 5' → 3', gdyż usunięcie nukleotydów z końca 5' nowosyntetyzowanego łańcucha skróciłoby go, uniemożliwiając właściwe odczytanie sekwencji;
- brak aktywności egzonukleazy 3' → 5', dzięki temu polimeraza nie może usunąć dideoksynukleotydów kończących łańcuch.

Żadna z naturalnie występujących polimeraz DNA nie spełnia tych warunków, dlatego w celu sekwencjonowania stosuje się enzymy sztucznie zmodyfikowane. Pierwszym z nich, stosowanym przez autorów metody, był fragment Klenowa, pochodzący z polimerazy DNA I *Escherichia coli* [2,14].

Rozdzielenie produktów umożliwia elektroforeza w denaturującym żelu poliakrylamidowym. Sekwencję odczytują się, podobnie jak w metodzie Maxama i Gilberta, z autoradiogramu od najniższego prążka na żelu kolejno do góry w czterech kanałach osobnym dla każdego nukleotydu [8,14]. W celu wizualizacji produktów reakcji stosowane są znaczniki radioaktywne. Najczęściej jeden z nukleotydów stosowanych do syntezy DNA jest wyznakowany radioaktywnie, zespół Sangera zastosował znakowany radioaktywnym fosforem -  $^{32}\text{P}$  deoksyadenozynotrójfosforan. Zatem każdy zsyntezowany fragment DNA ma wbudowane na całej długości radioaktywne nukleotydy, co zapewnia dużą czułość detekcji. Zwykle stosowane są  $^{33}\text{P}$  i  $^{35}\text{S}$ , które charakteryzują się małą energią emisji i pozwalają na dobry rozdział prążków w żelu [2,14].

### **Sekwencjonowanie cykliczne**

Sekwencjonowanie cykliczne stanowi modyfikację sekwencjonowania metodą dideoksy. Sanger i wsp. do katalizacji syntezy DNA stosowali fragmentu Klenowa. Odkrycie termostabilnej polimerazy DNA (Taq) pochodzącej z *Thermus aquaticus* zaowocowało rozwojem techniki PCR (łańcuchowa reakcja polimerazy - polimerase chain reaction), a to w konsekwencji pozwoliło na udoskonalenie metody terminacji łańcucha. Technika ta opracowana przez Sears i wsp. w roku 1992 posiada dwie cechy dające jej przewagę nad metodą tradycyjną. Po pierwsze matrycę dla reakcji sekwencjonowania stanowi dwuniciowy DNA, po drugie metoda wymaga niewielkiej ilości DNA matrycowego. Procedura sekwencjonowania cyklicznego jest zbliżona do PCR, jednakże stosowany jest tylko jeden starter. Podobnie jak w metodzie tradycyjnej przeprowadzić należy cztery reakcje, dla każdego ddNTP. Obecność jednego startera gwarantuje, że sekwencjonowanie dotyczy tylko jednej nici z dwuniciowej matrycy DNA, a obecność ddNTP powoduje terminację łańcucha w losowych miejscach, generując, pulę cząsteczek różnej długości zakończonych konkretnym nukleotydem. Produkty każdej z reakcji poddaje się elektroforezie w żelu poliakrylamidowym oraz detekcji, zależnie od zastosowanego znacznika [2].

### **Sekwencjonowanie automatyczne oparte o znakowanie fluorescencyjne**

Dla postępu technik sekwencjonowania DNA ogromne znaczenie miało opracowanie możliwości znakowania fluorescencyjnego. Ważnymi ich zaletami w porównaniu do znaczników radioaktywnych jest brak negatywnego wpływu na zdrowie oraz środowisko. Ponadto różne fluorochromy posiadają odmienne długości fal emisji, dzięki czemu w odpowiednich kanałach widziane są w różnych kolorach. Ma to ogromne znaczenie w metodzie automatycznego sekwencjonowania opartego o metodę terminacji łańcucha. Pozwala na wyznakowanie każdego dideoksynukleotydu innym fluorochromem, dzięki czemu, do odczytania pełnej sekwencji badanego DNA wystarczy jedna reakcja z zastosowaniem wszystkich ddNTP. Dzięki temu, że detektor posiada zdolność rozróżnienia poszczególnych znaczników fluorescencyjnych można przeprowadzić elektroforezę na jednej ścieżce w żelu poliakrylamidowym, a sekwencja może być odczytywana bezpośrednio w trakcie przesuwania

się prążków przed detektorem. Pozwala to na zapisanie sekwencji w pamięci komputera, eliminując błędy wynikające z odczytywania sekwencji przez człowieka i wpisywania do pamięci komputera. W połączeniu z pełną automatyzacją całego procesu przygotowania reakcji, sekwencjonowania i nanoszenia na żel system ten zapewnia znaczne podniesienie wydajności sekwencjonowania [2].

## **Pirosekwencjonowanie**

Pirosekwencjonowanie jest metodą „sekwencjonowania poprzez syntezę”, której wyniki można obserwować w czasie rzeczywistym. Jego początki sięgają drugiej połowy lat 90 – tych XX wieku [1]. Technika ta w znaczący sposób różni się od wcześniej opisanych, nie wymaga ona rozdzielania fragmentów nici, np. przez elektroforezę, dzięki czemu jest znacznie szybsza niż sekwencjonowanie metodą chemicznej degradacji, czy terminacji łańcucha. Pirosekwencjonowanie odbywa się w kilku, cyklicznie powtarzanych etapach. Procedura opiera się o 4 enzymy: fragment Klenowa polimerazy I DNA, sulfurylaza ATP, lucyferaza i enzym degradujący deoksynukleotydy, które nie uległy wbudowaniu, zazwyczaj apirazę. Matryca do sekwencjonowania, którą stanowi jednoniciowy DNA, inkubowana jest z wszystkimi czterema enzymami. Do mieszaniny reakcyjnej dodawane są kolejno poszczególne nukleotydy, osobno jeden po drugim. Przyłączaniu kolejnych nukleotydów do syntetyzowanej nici DNA w reakcji katalizowanej przez fragment Klenowa, towarzyszy uwolnienie pirofosforanu (PPi). Uwolniony PPi konwertowany jest do ATP przez sulfurylaza ATP. Kolejnym etapem jest uwolnienie kwantu światła w reakcjach przemiany ATP do AMP katalizowanych przez lucyferazę. Reakcja świetlna jest skutkiem dodania do mieszaniny reakcyjnej właściwego nukleotydu – komplementarnego do matrycy. Ostatnim etapem jest degradacja pozostałych, nieprzyłączonych deoksynukleotydów, zanim do reakcji zostanie dodany następny, by nie zaburzały wyniku kolejnych cykli syntezy nici DNA. Istotne jest, że by zapobiec reakcji świetlnej w obecności dATP, jako substrat do syntezy DNA dodawany jest  $\alpha$ -<sup>32</sup>P-ATP [1,12].

Pirosekwencjonowanie jest techniką w pełni zautomatyzowaną. Sekwencjonator dozuje reagenty do mieszaniny, a wyniki wyświetlane są na ekranie komputera w czasie rzeczywistym. Czas potrzebny na wbudowanie jednego nukleotydu to ok. jednej minuty, zatem czas trwania doświadczenia zależy od długości badanego fragmentu DNA. Automatyzacja procesu pozwala na prowadzenie wielu eksperymentów w jednym czasie. Sygnał świetlny rejestrowany jest przez kamerę, przesyłany do pamięci komputera i za pomocą odpowiedniego oprogramowania konwertowany na sekwencję nukleotydową [3].

## **Sekwencjonowanie oparte o hybrydyzację**

Inne oblicze sekwencjonowania DNA prezentuje technologia microchip DNA. Microchip DNA z naniesionym układem różnych oligonukleotydów może zostać wykorzystany do sekwencjonowania innej cząsteczki DNA. Cały proces oparty jest na hybrydyzacji danej cząsteczki do układu oligonukleotydów. Hybrydyzacja badanej cząsteczki do danego oligonukleotydu oznacza, że dana sekwencja znajduje się wewnątrz tej cząsteczki DNA. Pełną sekwencję badanego DNA określa się dzięki analizie wszystkich sekwencji oligonukleotydowych, w przypadku których nastąpiła hybrydyzacja [2].

## **Zakończenie**

Sekwencjonowanie DNA, dziś jedna z podstawowych technik biologii molekularnej i diagnostyki, ma swoje początki w latach 70 – tych XX wieku. Wtedy powstały metody sekwencjonowania pozwalające na poznanie w krótkim czasie niewielkich genomów prokariotycznych i eukariotycznych, czy też fragmentów większych genomów, jednak pełne zsekwencjonowanie genomów wyższych eukariotów stanowiło wyzwanie. Udoskonalanie metod sekwencjonowania, wprowadzenie elektroforezy

kapilarnej, znakowanie nukleotydów fluorochromami doprowadziły do pełnej automatyzacji procesu i sprawiły, że w roku 2001 została opublikowana pełna sekwencja genomu człowieka. Zapoczątkowano i ukończono do tej pory wiele projektów sekwencjonowania genomów organizmów wyższych, również roślin i zwierząt hodowlanych. Obecnie w bazach danych dostępnych jest ok. 10000 genomów. Koszty sekwencjonowania w przeliczeniu na zasadę zmniejszają się dwukrotnie co 18 miesięcy, co daje 10-krotny spadek kosztów co 5 lat. Projekt zsekwenowania genomu człowieka rozpoczęty w 2001 roku był wykonywany z użyciem maszyn I generacji, trwał 6 lat i kosztował 3mld \$. Obecnie na rynek weszły sekwenatory II generacji. W chwili obecnej zsekwenowanie genomu człowieka trwa 7 dni, a jego koszt wynosi 5 tys. \$. Komputery prócz składania sekwencji oraz gromadzenia danych, wykorzystywane są również do analizy uzyskanych sekwencji, m. in. do rozpoznawania sekwencji kodujących, poszukiwania sekwencji podobnych, porównywania genomów, czy przewidywania struktur białek [6,7].

**Autor: Magdalena Maniecka**

### **Literatura:**

1. Ahmadian A, Ehn M and Hober S. 2006. Pyrosequencing: history, biochemistry and future. *Clinica Chimica Acta* 363:83-94
2. Brown TA. *Genomy*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001. s. 36,60-70
3. Chwiałkowska K. 2009. Pirosekwencjonowanie - sekwencjonowanie z wykorzystaniem kwantów światła. [www.biotechnolog.pl](http://www.biotechnolog.pl)
4. França LTC, Carrilho E and Kist TBL. 2002. A review of DNA sequencing techniques. *Quarterly Reviews of Biophysics* 35:169-200
5. Gabryelska MM, Szymański M and Barciszewski J. 2009. DNA - cząsteczka, która zmieniła naukę. Krótka historia odkryć. *Nauka* 2:111-134
6. <http://grafik.rp.pl/grafika2/743993.pdf>
7. Mackiewicz P, Zakrzewska - Czerwińska J, Cebirat S. 2005. Genomika - dziedzina wiedzy XXI wieku. *Biotechnologia* 70:7-21
8. Matyasik J, Masojć B and Kurzawski G. 2008. Analizy molekularne DNA i RNA w wykrywaniu dziedzicznych predyspozycji do nowotworów. *Postępy Nauk Medycznych* 7:431-440
9. Maxam AM and Gilbert W. 1977. A new method for sequencing DNA. *Biochemistry* 2:560-564
10. Pająk M. 2011. Sekwencjonowanie od podszewki! <http://bioinfo.mol.uj.edu.pl>
11. Rogowska A and Urbański J. 2010. Badamy DNA. <http://www.biocen.edu.pl/>
12. Ronaghi M, Uhlén M and Nyrén Pål. 1998. A sequencing method based on real - time pyrophosphate. *Science* 281:363-365
13. Rothberg JM, Hinz W, Rearick TM, Schultz J, Mileski W, Davey M, Leamon J, Johnson K, Milgrew MJ, Edwards M, Hoon J, Simons JF, Marran D, Myers JW, Davidson JF, Branting A, Nobile JR, Puc BP, Light D, Clark TA, Huber M, Branciforte JT, Stoner IB, Cawley SE, Lyons M, Fu Y, Homer N, Sedova M, Miao X, Reed B, Sabina J, Feierstein E, Schorn M, Alanjary M, Dimalanta E, Dressman D, Kasinkas R, Sokolsky T, Fidanza JA, Namsaraev E, McKernan KJ, Williams A, Roth GT and Bustillo J. 2011. An integrated semiconductor device enabling non - optical genome sequencing. *Nature* 475:348-352
14. Sanger F, Nicklen S and Coulson AR. DNA sequencing with chain - terminating inhibitors. *Biochemistry* 12:5463-5467
15. Sanger F. 2001 The early days of DNA sequences. *Nature Medicine* 3:267-268

**[ARTYKUŁ DO POBRANIA: Laboratoria.net - Metody sekwencjonowania DNA](https://laboratoria.net/arttykul/12972.html)**

<https://laboratoria.net/arttykul/12972.html>

**Informacje dnia:** [Flexicon FPC50 w dydaktyce pracy laboratoryjnej Blisko 2,8 mln zł na badania](#)

[nad terapią Studenci AGH zaprezentowali swój najnowszy bolid elektryczny](#) [Naukowcy sprawdzili, czy protony są wieczne](#) [Polska wśród krajów z najniższym poziomem stresu psychicznego](#) [Życie seksualne coraz częściej przenosi się do świata technologii](#) [Flexicon FPC50 w dydaktyce pracy laboratoryjnej](#) [Blisko 2,8 mln zł na badania nad terapią](#) [Studenci AGH zaprezentowali swój najnowszy bolid elektryczny](#) [Naukowcy sprawdzili, czy protony są wieczne](#) [Polska wśród krajów z najniższym poziomem stresu psychicznego](#) [Życie seksualne coraz częściej przenosi się do świata technologii](#) [Flexicon FPC50 w dydaktyce pracy laboratoryjnej](#) [Blisko 2,8 mln zł na badania nad terapią](#) [Studenci AGH zaprezentowali swój najnowszy bolid elektryczny](#) [Naukowcy sprawdzili, czy protony są wieczne](#) [Polska wśród krajów z najniższym poziomem stresu psychicznego](#) [Życie seksualne coraz częściej przenosi się do świata technologii](#)

## **Partnerzy**