اصول طراحی پرایمر

(مقدماتی تا پیشرفته)

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

فهرست

بخش اول – مقدمه..... ۱۳
۱-۱ معرفی پرایمر در سیستم همانندسازی..... ۱۳
۱-۲ معرفی پرایمر سنتزی..... ۱۵
بخش دوم - تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(PCR) ۱۷
۲-۱ معرفی تکنیکPCR ۱۷
۲-۲ کاربردهای تکنیکPCR ۲۱
۲-۳ اجزای واکنش PCR جهت راه‌اندازی واکنش..... ۲۳
۲-۳-۱ اسیدهای نوکلئیک الگو ۲۳
۲-۳-۱-۱ جمع‌آوری نمونه‌ها و پایدارکردن آن‌ها..... ۲۳
۲-۳-۱-۲ استخراج اسیدهای نوکلئیک و خالص‌سازی آن‌ها..... ۲۳
۲-۳-۱-۳ ذخیره‌سازی اسیدهای نوکلئیک..... ۲۴
۲-۳-۲ آنزیمPolymerase ۲۴
۲-۳-۳ پرایمر..... ۲۹
۲-۳-۳-۱ غلظت پرایمر..... ۲۹
۲-۳-۳-۱-۱ بهینه‌سازی غلظت پرایمر..... ۲۹
۲-۳-۴ دئوکسی نوکلئوتید تری فسفات(dNTP) ۳۳
۲-۳-۵ بافر..... ۳۴
۲-۳-۶ یون‌های موجود در مخلوط واکنشPCR ۳۵
۲-۴ میزان اجزای یک واکنشPCR ۳۷
بخش سوم - کاربردهای پرایمر..... ۳۹
۳-۱ مقدمه..... ۳۹
۳-۲ پرایمر جهت اهداف تشخیصی..... ۴۰
۳-۲-۱ شناسایی جهش‌ها..... ۴۰
۳-۲-۱-۱ توالی شناخته شده..... ۴۰
۳-۲-۱-۲ توالی ناشناخته..... ۴۰
۳-۲-۲ شناسایی حذف‌ها..... ۴۱

انتشارات زیست فناوری
بانک تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

۳-۲-۲-۱ تکنیک Multiplex PCR ۴۱
۳-۲-۳ بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوم انسان..... ۴۲
۳-۲-۳-۱ انواع تنوع ژنتیکی..... ۴۳
۳-۲-۳-۱-۱ SNP ۴۳
۳-۲-۳-۱-۲ Minisatellite ۴۳
۳-۲-۳-۱-۲-۱ Variable number tandem repeats (VNTR) ۴۴
۳-۲-۳-۱-۳ Microsatellite ۴۴
۳-۲-۳-۱-۳-۱ Short tandem repeats (STR) ۴۵
۳-۲-۳-۲ تکنیک‌های گسترش‌یافته بر پایه تنوع ژنتیکی..... ۴۵
۳-۲-۳-۲-۱ RFLP-PCR ۴۵
۳-۲-۳-۲-۲ ARMS-PCR ۴۶
۳-۲-۳-۲-۳ TETRA ARMS-PCR ۴۸
۳-۳ پرایمر جهت اهداف مربوط به تکثیر RNA ۵۲
۳-۳-۱ مقدمه..... ۵۲
۳-۳-۲ تکثیر RNA های کدکننده پروتئین..... ۵۲
۳-۳-۲-۱ Reverse transcriptase PCR (RT-PCR) ۵۲
۳-۳-۲-۱-۱ سنتز cDNA ۵۲
۳-۳-۲-۱-۱-۱ آنزیم Reverse Transcriptase ۵۳
۳-۳-۲-۱-۱-۲ پرایمر سنتز cDNA ۵۳
۳-۳-۲-۱-۱-۲-۱ Random Hexamer Primer ۵۴
۳-۳-۲-۱-۱-۲-۲ Oligo dt Primer ۵۴
۳-۳-۲-۱-۱-۲-۳ Gene Specific Primer ۵۵
۳-۳-۲-۱-۲ انواع RT-PCR ۵۵
۳-۳-۲-۱-۲-۱ One step RT-PCR ۵۵
۳-۳-۲-۱-۲-۲ Two step RT-PCR ۵۶
۳-۳-۲-۲ تکنیک Real time PCR ۵۷
۳-۳-۲-۲-۱ مقدمه..... ۵۷
۳-۳-۲-۲-۲ کاربردهای تکنیک Real time PCR ۵۷

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

۳-۳-۲-۲-۳ معرفی تکنیکReal time PCR ۵۸
۳-۳-۲-۲-۴ راه‌اندازی واکنش Real time PCR به همراه کنترل‌های واکنش..... ۶۳
۳-۳-۲-۲-۴-۱ استخراج RNA و تعیین کمیت و کیفیت آن..... ۶۳
۳-۳-۲-۲-۴-۲ تأیید نهایی محصولات..... ۶۶
۳-۳-۲-۲-۴-۳ آنالیز داده‌ها..... ۶۷
۳-۳-۲-۲-۵ انواعReal time PCR ۶۸
۳-۳-۲-۲-۵-۱ DNA binding agent ۶۹
۳-۳-۲-۲-۵-۱-۱ آنالیز منحنی ذوب..... ۶۹
۳-۳-۲-۲-۵-۱-۲ SYBR Green ۷۰
۳-۳-۲-۲-۵-۲ الیگونوکلئوتیدهای لیبل شده با فلورفور..... ۷۰
۳-۳-۲-۲-۵-۲-۱ پروب‌های هیدرولیزی..... ۷۱
۳-۳-۲-۲-۵-۲-۱-۱ TaqMan Probes ۷۱
۳-۳-۲-۲-۵-۲-۲ پروب‌های هیبرید..... ۷۲
۳-۳-۲-۲-۵-۲-۲-۱ Molecular beacons ۷۲
۳-۳-۳ تکثیر RNA های غیر کدکننده..... ۷۳
۳-۳-۳-۱ مقدمه..... ۷۳
۳-۳-۳-۲ تکنولوژیAntisense ۷۴
۳-۳-۳-۳ تداخل(RNA interference) RNA ۷۴
۳-۳-۳-۳-۱ SiRNA ۷۵
۳-۳-۳-۳-۱-۱ طراحیsiRNA ۷۶
۳-۳-۳-۳-۲ miRNA ۷۷
۳-۳-۳-۳-۲-۱ تاریخچه‌ی شناساییmicroRNA ۷۷
۳-۳-۳-۳-۲-۲ بیوژنزmicroRNA ۷۸
۳-۳-۳-۳-۲-۳ مکانیسم عملmicroRNA ۷۹
۳-۳-۳-۳-۲-۴ نقش microRNA ها در سرطان..... ۸۰
۳-۳-۳-۳-۲-۵ کاربرد microRNAs به‌عنوان بیومارکر..... ۸۰
۳-۳-۳-۳-۲-۶ پرایمرmiRNA ۸۱

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

۳-۳-۳-۳-۲-۶-۱ روش مبتنی بر پرایمرهای Stem loop ۸۱
۳-۳-۳-۳-۲-۶-۲ روش مبتنی بر پلی آدنیلاسیون ۸۲
۳-۴ پرایمر جهت اهداف مربوط به کلونینگ ۸۳
۳-۴-۱ مقدمه ۸۳
۳-۴-۱-۱ مراحل کلونینگ ۸۳
۳-۴-۱-۱-۱ ایجاد مولکول DNA نوترکیب ۸۳
۳-۴-۱-۱-۱-۱ تهیه‌ی نمونه‌های DNA هدف (Insert) ۸۴
۳-۴-۱-۱-۱-۲ وکتورها ۸۴
۳-۴-۱-۱-۱-۲-۱ وکتورهای مناسب برای E.coli ۸۴
۳-۴-۱-۱-۱-۲-۱-۱ ویژگی‌های پلازمید pBR322 ..... ۸۵
۳-۴-۱-۱-۱-۲-۱-۲ ویژگی‌های باکتریوفاژ M13 ..... ۸۵
۳-۴-۱-۱-۱-۲-۲ وکتورهایی برای یوکاریوت‌ها ۸۵
۳-۴-۱-۱-۱-۲-۲-۱ ویژگی‌های پلازمید ۲ میکرونی ۸۶
۳-۴-۱-۱-۱-۳ Digestion & Ligation ۸۶
۳-۴-۱-۱-۲ انتقال DNA نوترکیب به درون سلول‌های میزبان ۸۶
۳-۴-۱-۱-۳ شناسایی سلول‌های حاوی مولکول DNA نوترکیب ۸۷
۳-۴-۱-۱-۳-۱ تکنیک‌های مستقیم ۸۸
۳-۴-۱-۱-۳-۲ تکنیک‌های غیرمستقیم ۸۸
بخش چهارم - طراحی پرایمر و پروب ۹۱
۴-۱ شاخصه‌های طراحی پرایمر ۹۱
۴-۱-۱ طول پرایمر ۹۱
۴-۱-۲ دمای ذوب Tm ۹۲
۴-۱-۳ دمای اتصال Ta ۹۴
۴-۱-۳-۱ بهینه‌سازی دمای Ta پرایمر ۹۵
۴-۱-۴ محتوای GC ۹۷
۴-۱-۵ ساختارهای ثانویه و مناطق مکمل داخلی ۹۷
۴-۱-۵-۱ انواع ساختارهای ثانویه ۹۸
۴-۱-۵-۱-۱ ساختارهای سنجاق‌سری یا ساقه – حلقه ۹۸

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

۴-۱-۵-۱-۲ ساختار پرایمر – دایمر ۹۸
۴-۱-۵-۱-۲-۱ انواع پرایمر – دایمر ۹۹
۴-۱-۵-۱-۲-۱-۱ Self-Dimer یا Homo Dimer ۹۹
۴-۱-۵-۱-۲-۱-۲ Cross Dimer یا Hetro Dimer ۹۹
۴-۱-۶ ساختارهای ثانویه در الگو ۱۰۰
۴-۱-۷ ساختارهای Runs و Repeats ۱۰۰
۴-۱-۷-۱ تکرارهای مستقیم ۱۰۱
۴-۱-۷-۲ تکرارهای معکوس ۱۰۱
۴-۱-۷-۳ Homopolymeric Runs ۱۰۱
۴-۱-۸ گیره‌ی GC ۱۰۱
۴-۱-۹ طول محصول PCR ۱۰۲
۴-۱-۱۰ پایداری اتصال انتهای ۳` ۱۰۲
۴-۱-۱۱ انتخاب جایگاه محصول ۱۰۲
۴-۱-۱۲ سایر نکات طراحی پرایمر ۱۰۳
۴-۱-۱۲-۱ طراحی پرایمر Degenerate ۱۰۳
۴-۲ طراحی پروب ۱۰۴
۴-۳ مراحل طراحی پرایمر ۱۰۵
۴-۳-۱ به‌دست‌آوردن توالی ژن هدف ۱۰۶
۴-۳-۱-۱ به‌دست‌آوردن توالی یک ژن یوکاریوتی ۱۰۶
۴-۳-۱-۲ به‌دست‌آوردن توالی یک ژن پروکاریوتی ۱۱۵
۴-۳-۲ طراحی پرایمر با درنظرگرفتن شاخصه‌های طراحی به کمک نرم‌افزار ۱۲۴
۴-۳-۳ BLAST کردن توالی پرایمر طراحی شده و اطمینان از اختصاصی بودن آن ۱۳۵
بخش پنجم- سنتز شیمیایی الیگونوکلئوتیدها ۱۴۵
۵-۱ مقدمه ۱۴۵
۵-۲ مراحل سنتز الیگونوکلئوتیدها ۱۴۵
۵-۳ کنترل کیفی الیگونوکلئوتیدهای سنتز شده ۱۴۷
۵-۳-۱ آنالیز HPLC جهت تعیین خلوص الیگونوکلئوتید ۱۴۷
انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی حوزه علوم زیست فناوری کشور

۵-۳-۲ تست تأیید خلوص محلول باGC ۱۴۸
۵-۴ سفارش پرایمر و پروب..... ۱۴۸
۵-۴-۱ آماده‌سازی پرایمر و پروب جهت انجام واکنشPCR ۱۴۸
۵-۴-۱-۱ رقیق‌سازی پرایمر..... ۱۴۸
۵-۴-۱-۱-۱ محاسبات..... ۱۴۹
۵-۴-۱-۱-۲ روش انجام..... ۱۵۰
۵-۴-۱-۱-۲-۱ تهیه‌ی استوکstorage 100 µM ۱۵۰
۵-۴-۱-۱-۲-۲ تهیه‌ی استوکworking 10 µM ۱۵۰
۵-۴-۱-۲ رقیق‌سازی پروب..... ۱۵۰
۵-۴-۱-۲-۱ TE buffer (Tris-EDTA buffer) ۱۵۱
۵-۴-۱-۲-۱-۱ تهیه‌ی بافر ۱ (X TE (10 mM Tris, PH 7.5 – 8, 1mM EDTA..... ۱۵۱
۵-۴-۱-۲-۱-۱-۱ تهیه‌ی ۰.۵M EDTA ۱۵۲
۵-۴-۱-۲-۱-۱-۲ تهیه‌ی ۱M Tris..... ۱۵۲
۵-۴-۲ پایداری الیگونوکلئوتیدها..... ۱۵۲
منابع..... ۱۵۵

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

پیشگفتار:

در دهه‌های اخیر انتخاب و یا طراحی پرایمر (آغازگر) به‌عنوان تکنیکی مهم در حوزه‌ی علوم زیست فناوری و ژنتیک نقشی مهم و کاربردی در ابعاد پژوهشی و صنعتی ایفا کرده است. اصول انتخاب صحیح پرایمر و یا طراحی آن همواره نیازمند استفاده از روش‌ها و تکنیک‌های فراوان است. باتوجه‌به گستردگی کاربرد پرایمرها در تکنیک‌های مختلف PCR و همانندسازی و لزوم توجه به اختصاصیت و همچنین ارزیابی دقیق در نواحی ژنی هدف، لزوم پرداختن به انتخاب و یا طراحی پرایمر بیش از پیش مطرح می‌شود.

«کتاب اصول طراحی پرایمر (مقدماتی تا پیشرفته)» به نیاز دو دسته از پژوهشگران پاسخ می‌دهد؛ دسته‌ی اول افرادی که آشنایی با تفاوت‌های موجود در انتخاب پرایمر و طراحی پرایمر ندارند و گروه دوم، پژوهشگران و صنعتگرانی که در انجام یک پژوهش و یا تولید محصولی حاوی پرایمر، نیاز به استفاده از تکنیک‌های تخصصی طراحی توالی‌های اولیگونوکلئوتیدی با حساسیت بیشتر را دارند.

این کتاب با همّت پژوهشگران «شرکت دانش‌بنیان نسیم تشخیص آزما (NTA)» به تألیف درآمده تا اصول اختصاصی طراحی پرایمر در تکثیر قطعه‌ی موردنظر با کارایی بالا که قابل‌استفاده در صنعت تشخیص مولکولی، سنتزهای ژنتیکی و فراورده‌های حاصله از تکثیر ژنوم، و... را به طور کامل مورد بررسی قرار دهد. علاوه‌برآن، در این کتاب سعی بر آن شده است تا مفاهیم به‌صورت روان بیان و تمامی نکات لازم، برای «طراحی یک پرایمر کارآمد»، از ابتدایی‌ترین تا پیچیده‌ترین نکات، آموزش داده شود.

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

مجید مسگرطهرانی
مشاور اجرایی و عضو هسته‌ی مرکزی
قطب علمی ژنومیک کشور

مقدمه:

از سال ۱۹۸۳ تاکنون، تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) جایگزین مناسبی برای استفاده از باکتری‌ها در تکثیر قطعات ژنتیکی شده است که به‌موجب آن، شاهد پیشرفت سریع تکنولوژی در صنعت ژنتیک مولکولی و پزشکی هستیم. بدون شک، ارزیابی کمی و کیفی وجود یک ویروس در بدن موجودات زنده، پردازش قطعات ژنوم به‌منظور توالی‌یابی، تعیین اصالت ژنوم، بیان ژن‌ها و... بدون انجام تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز امری سخت و هزینه‌بر خواهد بود.

دسترسی به چنین تکنیکی، ماحصل کوشش‌های شیمی‌دان آمریکایی، Kary Mullis (مبدع تکنیک PCR) است. طراحی و تولید قطعات پرایمر به‌عنوان یکی از اساسی‌ترین ارکان تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نقش کلیدی در سنتز کمی و کیفی RNA و یا DNA دارد. عنوان «طراحی پرایمر» و «انتخاب پرایمر» دو سبک مجزا در آماده‌سازی و اجرای مراحل موردنیاز برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است.

در این کتاب سعی بر آن شده تا مفاهیم کاربردی «انتخاب پرایمر» با استفاده از نرم‌افزارهای برتر و رایج در جهان و همچنین «طراحی پرایمر»، بر اساس ساده‌ترین تا پیچیده‌ترین اصول و نکات طراحی بهینه‌ی یک رشته الیگونوکلئوتیدی بیان شود.

امیدوارم با مطالعه‌ی این کتاب، محققان جوان و باهوش ایرانی، به خلق ایده‌های ناب و مبتکرانه در حوزه‌ی ژنتیک مولکولی و پزشکی دست پیدا کنند.

داریوش فرهود

استاد سابق ژنتیک پزشکی – دانشگاه مونیخ
استاد ژنتیک پزشکی - دانشگاه علوم پزشکی تهران
عضو پیوسته فرهنگستان علوم پزشکی ایران
عضو دائمی فرهنگستان علوم جهان، ایتالیا
کارشناس رسمی سازمان جهانی بهداشت، ژنو

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

۱- مقدمه

۱-۱ معرفی پرایمر در سیستم همانندسازی

همانندسازی ژنوم فرایندی است که در آن مادهی وراثتی دو برابر میشود. بهطورکلی برای همانندسازی، لازم است سه سوبسترای اصلی وجود داشته باشد؛ نوکلئوتیدهای تری فسفاته، الگوی تک رشتهای و پرایمر. پس از فراهم شدن سوبسترای لازم جهت همانندسازی، به آنزیمی برای پلیمریزاسیون DNA نیاز است. این وظیفه بر عهدهی DNA پلیمراز (DNA pol) است. آنزیمهای DNA pol، نوکلئوتیدهای تری فسفاته را به نوکلئوتیدهای مونوفسفاته تبدیل نموده و بر اساس مکمل بودن بازها، آنها را در مقابل رشتهی الگو قرار داده و سپس نوکلئوتید جدید را از طریق یک پیوند فسفودیاستر به آخرین نوکلئوتید موجود در رشتهی در حال سنتز اضافه میکنند. آنزیمهای DNA pol وابسته به الگو، نمیتوانند سنتز DNA را روی مولکولی که کاملاً تک رشتهای است آغازکنند؛ لذا به یک انتهای 3`OH آزاد برای شروع پلیمریزاسیون نیازمندند. در این حالت، نوکلئوتید جدید از انتهای 5`P خود به 3`OH متصل میشود. باتوجهبه این موضوع پلیمریزاسیون در جهت `5 به `3 انجام میگیرد. واکنشهای آغازکننده، این سر 3`OH یا سر نخ دیگری را در اختیار آنزیم DNA pol قرار میدهند.

پرایمرها اشکال مختلفی دارند و بهطورکلی چهار واکنش آغازکننده وجود دارد. در فرایند همانندسازی تأمینکنندهی 3`OH بهعنوان پرایمر درنظرگرفته میشود:

- در همانندسازی DNA یوکاریوتها و پروکاریوتها و بعضی از ویروسها، توالی RNA روی رشتهی الگو سنتز میشود و در ادامه، انتهای 3`OH زنجیرهی RNA بهوسیلهی DNA pol امتداد مییابد.
- در روشی که رتروویروسها برای آغاز رونویسی RNA استفاده میکنند، توالی سنتز شده با الگو جفت و اجازه میدهد که انتهای 3`OH برای آغاز سنتز استفاده شود.

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست و فناوری کشور

- روش دایره‌ی چرخان که در برخی از ویروس‌ها و فاژها و ... کاربردی است، با ایجاد یک بریدگی کوچک (Nick) روی یکی از دو زنجیره، در انتهای 3`OH ایجاد شده و برای همانندسازی مورداستفاده قرار می‌گیرد.
- اکثر پلازمیدها، یک پروتئین نوکلئوتیدی در اختیار DNA pol قرار می‌دهند. این پروتئین واجد 3`OH بوده و DNA pol از این لنتها همانندسازی را شروع می‌کند.

در درون سلول هر دو رشته به طور هم زمان همانندسازی انجام می‌دهند؛ بنابراین لازم است ابتدا دو رشته‌ی DNA از هم جدا شده و سپس هر یک از آن‌ها به‌عنوان رشته‌ی الگو برای تشکیل یک دو رشته‌ای عمل نمایند. نقطه‌ی تلاقی بین رشته‌های DNA الگویی که به‌تازگی جدا شده‌اند و DNA دو رشته‌ای که هنوز همانندسازی نشده است، "چنگال همانندسازی" نامیده می‌شود.

نحوه‌ی انجام همانندسازی توسط رئیجی اُکازاکی[1] کشف شد. بنا بر نظریه او در چنگال همانندسازی رشته‌ای که از روی الگوی `3 به `5 همانندسازی می‌کند (رشته‌ی پیشرو[2])، پلیمریزاسیون به شکل ممتد و در مورد رشته‌ای که از روی الگوی `5 به `3 پیروی می‌کنند، پلیمریزه (رشته‌ی پیرو[3]) و همانندسازی به‌صورت منقطع انجام می‌شود. برای رشته‌ی پیشرو فقط یک بار در شروع همانندسازی به پرایمر نیاز است اما در رشته‌ی پیرو برای هر قطعه‌ی اکازاکی یک پرایمر باید ساخته شود.

اگرچه DNA pol ها را نمی‌توان برای سنتز از روی الگوی کاملاً تک رشته‌ای به کار برد،اما RNA pol ها در این مشکل را ندارند و به‌صورت نو پدید (De novo)، پرایمرهای موردنیاز برای همانندسازی از جنس RNA ساخته می‌شوند. در باکتری‌ها، پرایمرها به‌وسیله‌ی آنزیم پریماز که یک RNA pol اختصاصی است، در قطعاتی به طول ۴ تا ۱۵ نوکلئوتید سنتز می‌شوند. هنگامی که پرایمر کامل شد سنتز رشته با DNA pol III ادامه می‌یابد. در یوکاریوت‌ها پریماز به طور محکم به DNA pol α متصل است و در سنتز چند نوکلئوتید اول رشته‌ی پلی نوکلئوتید جدید کمک

1 . Reiji O kazaki
2 . Leading Strand
3 . Lagging Strand

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور

می‌کند. این آنزیم پریماز پرایمری از جنس RNA با طولی حدود ۸ تا ۱۲ نوکلئوتید را سنتز و سپس به DNA pol α واگذار می‌کند که با افزودن حدود ۲۰ نوکلئوتید DNA آن را گسترش می‌دهد. سنتز DNA با آنزیم اصلی همانندسازی یعنی DNA pol δ ادامه می‌یابد. در E.Coli که قطعات اکازاکی با طول ۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰ نوکلئوتید سنتز می‌شود، برای هر بار همانندسازی ژنوم حدود ۴۰۰۰ بار پرایمر سازی نیاز است، در یوکاریوت‌ها که طول قطعات اکازاکی کوتاه‌تر است پرایمرسازی در تعداد بیشتری اتفاق می‌افتد.

۲-۱ معرفی پرایمر سنتزی

توالی‌های کوتاه مکمل دو انتهای ژن موردنظر جهت تکثیر هستند؛ بنابراین همواره یک پرایمر F (مستقیم Forward) و یک پرایمر R (معکوس Reverse) خواهیم داشت. پرایمر، 3`OH آزاد را در اختیار آنزیم DNA pol قرار داده و تعیین می‌کند که آنزیم همانندسازی از کجا شروع شود. پرایمرها عموماً جهت استفاده در تکنیک‌های PCR طراحی و سنتز می‌شوند.

انتشارات زیست فناوری
ناشر تخصصی کتب علوم زیست فناوری کشور