مهندس مصطفی حق پناه
کارشناس مجتمع تحقیقات کاربردی و تولید بذر
شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی

ژنتیک مولکولی کاربردی در اصلاح گیاهان

نکاتی در طراحی پرایمر

مهم‌ترین اقدام جهت تکثیر قطعه خاص DNA طراحی مناسب پرایمر است. یک پرایمر نامناسب سبب تکثیر نادرست و یا عدم تکثیر قطعه مد نظر می‌شود از این رو توجه به اصول طراحی پرایمر بسیار حائز اهمیت است. در این مطلب سعی می‌گردد تا برخی از اصول مهم و کاربردی طراحی پرایمر عنوان گردد.

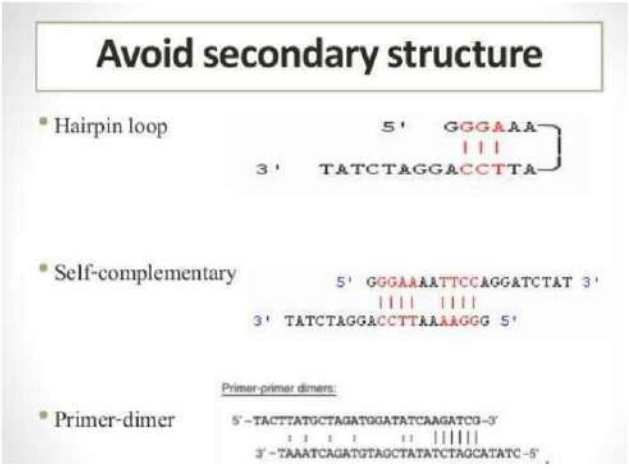
طول پرایمر یکی از مهم‌ترین فاکتورهای طراحی پرایمر است به نحوی که هر چه طول پرایمر بیشتر باشد اختصاصی‌تر می‌شود. در یک واکنش زنجیره‌ای متداول طول بهینه پرایمر بین ۱۸ تا ۲۴ نوکلئوتید تخمین زده می‌شود. فاکتور طول پرایمر با دمای اتصال (Annealing) و اختصاصی تکثیر کردن پرایمر رابطه مستقیم دارد.

دمای اتصال جفت پرایمر (Forward و Reverse) می‌بایست نزدیک به هم باشد و مقدار محتوای CG هر دو پرایمر نیز بهتر است نزدیک به هم باشد. مقدار CG پرایمر بهتر است بین ۳۰ تا ۵۵ درصد باشد.

مقدار کمتر CG سبب سست شدن اتصال پرایمر با توالی مد نظر می‌گردد و مقدار بیشتر آن باعث افزایش سختی PCR می‌شود.

بهتر است از قرار دادن باز T در انتهای ′۳ خودداری کرد و جهت پیوند مناسب پرایمر با رشته الگو از بازهای CG در بین چهار باز انتهای ′۳ استفاده شود که به اصطلاحاً GC-Clamp نامیده می‌شود.

باید دقت داشت که پرایمرها نباید تشکیل ساختارهای ثانویه نظیر سنجاق‌سری (Hair-pin)، Self-Dimer و Hetro-Dimer دهند. نواحی مکمل داخلی یک رشته پرایمر سبب ایجاد ساختار سنجاق‌سری می‌گردد (شکل ۱). بدین منظور بهتر است از نرم‌افزارهای طراحی پرایمر جهت بررسی عدم تشکیل ساختارهای ثانویه و غیره استفاده شود.



شکل ۱. ساختارهای ثانویه پرایمر

از مهم‌ترین و کاربردی‌ترین نرم‌افزارهای طراحی پرایمر می‌توان به Primer premier، Primer3 و Oligo نام برد.