College of Applied Medical Sciences
Department of Medical Laboratory Technology
Jazan University, KSA

Genetics and Molecular Biology Unit
Course: 440 MLT
Applied Molecular Biology

Lecture 2
PCR (Polymerase Chain Reaction)

دكتورة حنان مهدي
0597627168
لا أحل النشر والتصوير

Revised by:
Dr. Mohammad Suhail Akhter

Introduction to Polymerase Chain Reaction Technique (PCR)

مقدمة لتقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR)

The polymerase chain reaction (PCR) is an efficient and rapid *in vitro* method for enzymatic amplification of specific DNA or RNA sequences from various sources. PCR was developed by **Kary Mullis** and his colleagues in 1983 and they received the **Nobel Prize** in Chemistry in 1993 for their work.

تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) هو طريقة فعالة وسريعة في المختبر للتضخيم الأنزيمي لتسلسلات DNA أو RNA محددة من مصادر مختلفة. تم تطوير PCR بواسطة Kary Mullis وزملاؤه في عام 1983 وحصلوا على جائزة نوبل في الكيمياء في عام 1993 لعملهم.

- It has revolutionized the field of molecular biology/genetics/forensics science/microbiology in diagnostics.

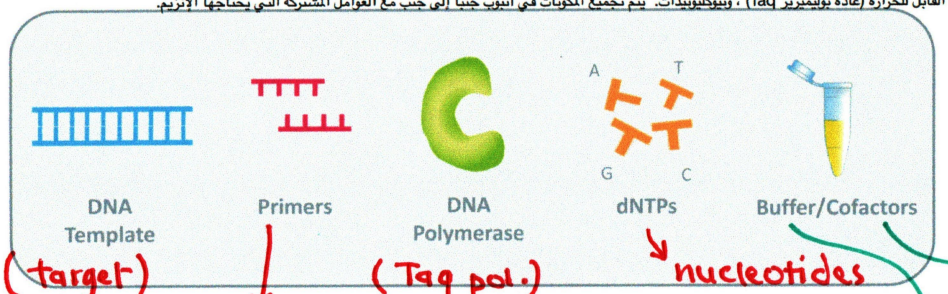
  لقد أحدث ثورة في مجال البيولوجيا الجزيئية / علم الوراثة / علم الطب الشرعي / علم الأحياء الدقيقة في التشخيص.

How does the PCR work ?

كيف يعمل PCR؟

- A simple PCR reaction consists of target DNA, a set of synthetic oligonucleotide primers that flank the target DNA sequence, a thermostable DNA polymerase (usually *Taq polymerase*), and nucleotides. The ingredients are assembled in a tube along with the co factors needed by the enzyme.

يتكون تفاعل PCR البسيط من الحمض النووي المستهدف ، ومجموعة من بادئات قليل النوكليوتيد الاصطناعية التي تحيط بتسلسل الحمض النووي المستهدف ، وبوليميراز DNA القابل للحرارة (عادةً بوليميريز Taq) ، ونيوكليوتيدات. يتم تجميع المكونات في أنبوب جنبًا إلى جنب مع العوامل المشتركة التي يحتاجها الإنزيم.



هذه مكونات simple PCR reaction

(target)

Primers → DNA Mostly is complementary to target DNA

(Taq pol.) (thermostable) → stable at high temp. (95°c) → was first isolated from bacteria (Thermus Aquaticus)

dNTPs → nucleotides

Buffer → Buffer sol. Maintains PH and ionic strength

Cofactors → Mg ions in $MgCl_2$ is the cofactor

How does the PCR work ?

What are the steps of PCR? ما هي خطوات عملية تفاعل البوليميراز التسلسلي؟

1. **Denaturation (92-96 ^{O} C):** Heat the reaction to 92-96 ^{O}C to separate the double stranded DNA into single stranded templates for the next step.

separate dsDNA → ssDNA (template)

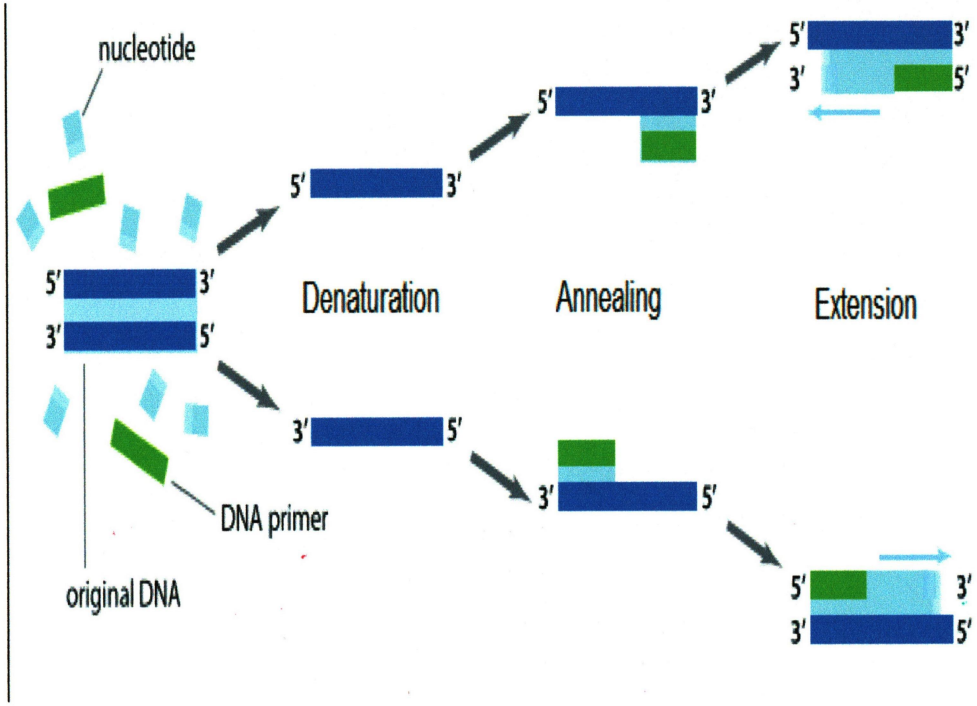
2. **Annealing (55-65 ^{O} C):** Cool the reaction so the primers can bind to their complimentary sequences on the single stranded template DNA.

primer binds to template ssDNA

3. **Extension (72^{O} C):** Raise the reaction temperature so that *Taq polymerase* extends the primers and synthesizes new strand of DNA.

taq pol. will extend the primer

1. تمسخ (92-96 OC): سخن التفاعل إلى 92-96 OC لفصل الحمض النووي المزدوج الذي تقطعت به السبل إلى قوالب مفردة مجدولة للخطوة التالية.
2. التلدين (55-65 درجة مئوية): قم بتبريد التفاعل بحيث يمكن للبادئات أن تلتصق بتتابعاتها التكميلية على قالب الحمض النووي المفرد الذي تقطعت به السبل.
3. التمديد (72 درجة مئوية): ارفع درجة حرارة التفاعل بحيث يمد البوليميراز الطاق البادئات ويصنع خيطًا جديدًا من الحمض النووي.



PCR (Polymerase Chain Reaction)

PCR (تفاعل البلمرة المتسلسل)

aatcgaatgtgcccgtacgattcgatgcgaaactaggagccctatcgat
ttagcttacacgggcatgctaagctacgctttgatcctcgggatagcta

PCR

aatcgaatgtgcccgtacgattcgatgcgaaactaggagccctatcgat

ttagcttacacgggcatgctaagctacgctttgatcctcgggatagcta

Denaturation

94°C

PCR

aatcgaatgtgcccgtacgattcgatgcgaaactaggagccctatcgat
cgggcat

aactagg
ttagcttacacgggcatgctaagctacgctttgatcctcgggatagcta

the primer is DNA

Annealing

58°C

PCR

aatcgaatgtgcccgtacgattcgatgcgaaactaggagccctatcgat
cgggcatgctaagctacgctttgatcctcgggatagcta

aatcgaatgtgcccgtacgattcgatgcgaaactagg
ttagcttacacgggcatgctaagctacgctttgatcctcgggatagcta

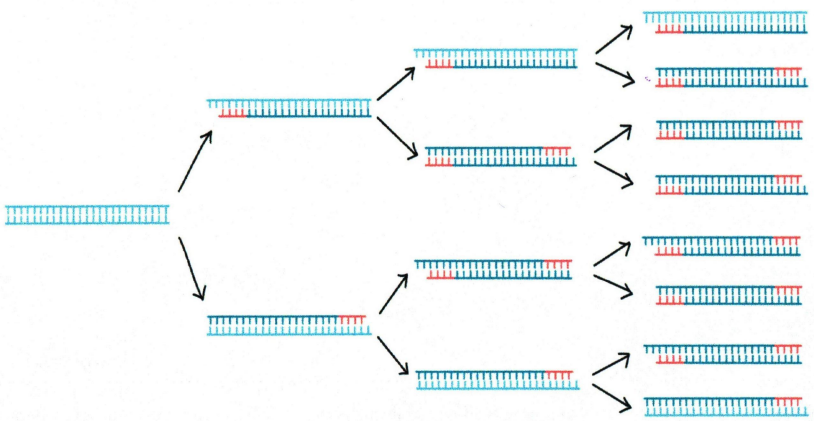
Extension/Elongation

72°C

عدد المرات (التكرارات) ← 2^n

This cycle repeats 25-35 times in a typical PCR rection which generally take 2-4 hours depending on the length of the DNA region to be copied.

تتكرر هذه الدورة 25-35 مرة في تفاعل PCR النموذجي الذي يستغرق عمومًا 2-4 ساعات اعتمادًا على طول منطقة DNA المراد نسخها.



كم مرة تتكرر PCR ؟

الجواب 25 - 35 مرة

كم تستغرق وقت ؟

2 - 4 ساعات

على حسب طول DNA الي جالسين ننسخها .

Cycle: 1 2 3

1) Target DNA - contains the sequence to be amplified.
الهدف DNA - يحتوي على التسلسل المراد تضخيمه.

2) Pair of Primers - These are typically short, single stranded oligonucleotides which are complementary to the outer regions of known sequence..
زوج من البادئات - عادة ما تكون أليغونوكليوتيدات قصيرة ، مفردة الجديلة والتي تكون مكملة للمناطق الخارجية للتسلسل المعروف

3) dNTPs – deoxynucleotidetriphosphates, (A,T,G,C)

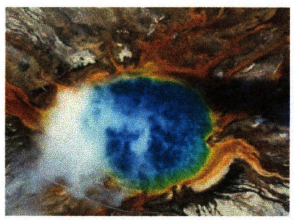
4) Thermostable DNA Polymerase - enzyme that catalyzes the reaction.
بوليميراز DNA القابل للحرارة - إنزيم يحفز التفاعل.

5) Mg^{++} ions (MgCl2) - cofactor of the enzyme
العامل المساعد للإنزيم - (MgCl2) أيونات Mg ++

6) **Buffer solution** – maintains pH and ionic strength of the reaction solution suitable for the activity of the enzyme
محلول عازلة - يحافظ على درجة الحموضة والقوة الأيونية لمحلول التفاعل المناسب لنشاط الإنزيم

Heat-stable DNA Polymerase
بوليميراز الحمض النووي المستقر للحرارة

- Taq DNA polymerase is an enzyme which is stable at the high temperatures (~95°C) hence used in PCR.
إن إنزيم Taq DNA polymerase هو إنزيم مستقر عند درجات الحرارة المرتفعة (~ 95 درجة مئوية) وبالتالي يستخدم في تفاعل البوليميراز المتسلسل.
- Taq DNA polymerase was first isolated from the bacterium *Thermus aquaticus* at a thermal spring in Yellowstone National Park, USA
تم عزل بوليميريز DNA Taq لأول مرة من بكتيريا Thermus aquaticus في نبع حراري في حديقة يلوستون الوطنية ، الولايات المتحدة الأمريكية



PCR Optimization Conditions شروط تحسين PCR

Optimization of PCR is required to obtain the maximum efficiency and specificity and it depends on the following; مطلوب تحسين PCR للحصول على أقصى قدر من الكفاءة والنوعية ويعتمد ذلك على ما يلي :

- Use high quality purified DNA templates(100-200ng/µl)
- Primers length should be 20-30 nucleotides in length.
- Annealing temperature should range between 55-65 ^{O}C .
- The difference of annealing temperature between both primers should not exceed ±3 ^{O}C.
- Primer concentration should be 0.05-1 µM, typically 0.1-0.5 µM of each primer.
- Magnesium concentration 1.5-2.0 mM is optimal for Taq polymerase.
- Taq DNA polymerase concentration should be 0.5-20 unit per 50 ul reaction .
- Typical concentration of each dNTP should be 200µM.

- استخدام قوالب DNA عالية الجودة (100-l / 200ng)
- يجب أن يكون طول البرايمر 20-30 نيوكليوتيدات.
- يجب أن تتراوح درجة حرارة التلدين بين 55-65 درجة مئوية.
- يجب ألا يتجاوز الاختلاف في درجة حرارة التلدين بين كلا البادئين ± 3 درجة مئوية.
- يجب أن يكون تركيز البرايمر 0.05-1 ميكرومتر ، عادة 0.1-0.5 ميكرومتر من كل أساس.
- تركيز المغنيسيوم 1.5-2.0 مم هو الأمثل لبوليميراز Taq.
- تركيز بوليميراز DNA Taq يجب أن يكون 0.5 - 20 وحدة لكل تفاعل 50 مايكرولتر.
- يجب أن يكون التركيز النموذجي لكل dNTP 200 ميكرومتر.

① ② Annealing Temp. < 55 – 65 °c / diff. b/w both primers should not exceed ± 3°c

③ DNA temp. → high Quality (100-200 ng/µL)

④ ⑤ Primers < length 20-30 nu. / conc. 0.05 – 1 µM / conc. 0.1 → 0.5 µM of each

⑥ Mg conc. 1.5 → 2 mM for taq pol.

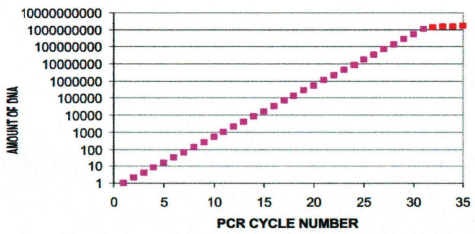
⑦ Taq Pol. conc. 0.5 → 20 unit / 50 µL

⑧ dNTP should be 200 µM

مكرر

After one cycle of PCR, the amount of DNA is twice what it was before, so after two cycles one has 2x2 times as much, after 3 cycles - 2x2x2 times as much or 2^3 times as much, after 4 cycles 2x2x2x2 times as much or 2^4 times as much. Thus after n cycles there will be 2^n times as much DNA.

بعد دورة واحدة من تفاعل البوليميراز المتسلسل ، تكون كمية الحمض النووي ضعف ما كانت عليه من قبل ، لذلك بعد دورتين ، يكون للمرء ضعف 2x2 مرة ، بعد 3 دورات - 2x2x2 ضعفًا أو 23 ضعفًا ، بعد 4 دورات 2x2x2x2 مرة أو 24 مرة. وبالتالي ، بعد دورات n ، سيكون هناك 2n ضعف كمية الحمض النووي.



CYCLE NUMBER	AMOUNT OF DNA
0	1
1	2
2	4
3	8
4	16
5	32
6	64
7	128
8	256
9	512
10	1,024
11	2,048
12	4,096
13	8,192
14	16,384
15	32,768
16	65,536
17	131,072
18	262,144
19	524,288
20	1,048,576
21	2,097,152
22	4,194,304
23	8,388,608
24	16,777,216
25	33,554,432
26	67,108,864
27	134,217,728
28	268,435,456
29	536,870,912
30	1,073,741,824
31	1,400,000,000
32	1,500,000,000

General Considerations for PCR Optimization

اعتبارات عامة لتحسين PCR

(إجراءات عامة للحصول على أعلى نسبة نجاح)

In general, follow these practices to ensure the highest probability of success.
بشكل عام ، اتبع هذه الممارسات لضمان أعلى احتمالية للنجاح

- Wear gloves
- Use screw cap tubes
- Use aerosol-resistant filter tips
- Use calibrated pipets dedicated to PCR (بيبت خاص بالـ PCR)
- Use PCR-grade water and use only for PCR (ماء خاص PCR)
- Use a no-template control to verify absence of contamination
- Prepare reactions in replicate - ideally as triplicates (3 3 3 3)

- ارتداء القفازات
- استخدام أنابيب الغطاء اللولبي
- استخدام رؤوس مرشحات مقاومة للهباء الجوي
- استخدام ماصات معايرة مخصصة لـ PCR
-استخدم مياه من فئة PCR واستخدمها فقط ل PCR
-استخدم عنصر تحكم بدون قالب للتحقق من عدم وجود تلوث
- قم بإعداد ردود الفعل في النسخ المتماثل
- مثاليا على شكل ثلاث نسخ

how we can verify the absence of contamination?
الجواب: by using no templ. control

Different Template Source can be used for PCR

يمكن استخدام مصدر قالب مختلف لـ PCR

1. Genomic DNA

الحمض النووي الجيني

- The chromosomal **DNA** of an organism, representing the bulk of its genetic material. الحمض النووي الصبغي للكائن الحي ، يمثل الجزء الأكبر من مادته الجينية

2. Plasmid DNA

البلازميد DNA

- If there are problems with amplification, linearize the plasmid with a restriction enzyme that does not cut within the target. إذا كانت هناك مشاكل في التضخيم ، فخطي البلازميد باستخدام إنزيم تقييد لا يقطع داخل الهدف

How can we avoid genomic DNA contamination when we use cDNA?

3. cDNA

(1) RNA + (RNAse free DNAase) → RNA will be free of genomic DNA contamination

- RNA must be free from genomic DNA contamination — treat with RNase-free DNase prior to reverse transcription. يجب أن يكون الحمض النووي الريبي خاليًا من تلوث الحمض النووي الجيني - تعامل مع DNase الخالي من RNase قبل النسخ العكسي

It is also helpful (2) to design primers at splice junctions to avoid genomic DNA Amplification.

Different Types of PCR Technique

أنواع مختلفة من تقنية PCR

1. Allele-specific PCR: This is used to identify Single nucleotide polymorphisms (SNPs). (Single base differences in DNA). PCR الخاص بأليل: يستخدم هذا لتحديد تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة (SNPs). (اختلافات قاعدة واحدة في الحمض النووي).

2. Colony PCR: This technique is used for the identification of clones for example Bacterial colonies of *E. Coli* can be rapidly screened by PCR for correct DNA vector constructs.

مستعمرة تفاعل البوليميراز المتسلسل (Colony PCR): تُستخدم هذه التقنية لتحديد الحيوانات المستنسخة ، على سبيل المثال ، يمكن فحص المستعمرات البكتيرية لـ E. Coli بسرعة بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) للحصول على بنيات ناقل الحمض النووي الصحيحة.

3. Asymmetric PCR: It is used preferentially to amplify one strand of the original DNA for example in sequencing and hybridization technique where only one of the two complementary stands is required.

تفاعل البوليميراز المتسلسل غير المتماثل: يتم استخدامه بشكل تفضيلي لتضخيم خيط واحد من الحمض النووي الأصلي على سبيل المثال في تقنية التسلسل والتهجين حيث يلزم استخدام واحد فقط من الحامل التكميلي.

4. Hot Star PCR: This is a technique that reduces non-specific amplification during the initial set up stages of the PCR. The technique may be performed manually by heating the reaction components to the melting temperature (e.g., 95°C) before adding the polymerase.

Hot Star PCR: يمكن تنفيذ التقنية يدويًا عن طريق تسخين مكونات التفاعل إلى درجة حرارة الانصهار (على سبيل المثال ، 95 درجة مئوية) قبل إضافة البوليميراز. هذه تقنية تقلل التضخيم غير المحدد أثناء مراحل الإعداد الأولية لـ PCR.

5. Touchdown PCR: a variant of PCR that aims to reduce nonspecific background by gradually lowering the annealing temperature as PCR cycling progresses.

Touchdown PCR: متغير من PCR يهدف إلى تقليل الخلفية غير المحددة عن طريق خفض درجة حرارة التلدين تدريجيًا مع تقدم دورة PCR.

Different Types of PCR Technique

أنواع مختلفة من تقنية PCR

6. Multiplex-PCR: Allows amplification of more than one target sequence using multiple pair of primers in a single reaction. Annealing temperatures for each of the primer sets must be optimized to anneal correctly within a single reaction, and amplicon sizes, i.e., their base pair length, should be different enough to form distinct bands when visualized by gel electrophoresis.

Multiplex-PCR: يسمح بتضخيم أكثر من تسلسل مستهدف باستخدام زوج متعدد من البادئات في تفاعل واحد. يجب تحسين درجات حرارة التلدين لكل مجموعة من مجموعات التمهيدي لتصلب بشكل صحيح ضمن تفاعل واحد ، ويجب أن تكون أحجام الأمبليكون ، أي طول زوج قاعدتها ، مختلفة بما يكفي لتشكيل نطاقات متميزة عند تصورها بواسطة الرحلان الكهربائي للهلام.

7. Nested PCR: It increases the specificity of DNA amplification, by reducing background due to non-specific amplification of DNA. Two sets of primers are being used in two successive PCR reactions. In the first reaction, one pair of primers is used to generate DNA products. The resulting amplified product(s) are then used in a second PCR reaction with a set of primers whose binding sites are completely or partially different from and located 3' of each of the primers used in the first reaction. Nested PCR is often more successful in specifically amplifying long DNA fragments than conventional PCR.

Nested PCR: يزيد من خصوصية تضخيم الحمض النووي.، عن طريق تقليل الخلفية بسبب التضخيم غير المحدد للحمض النووي. يتم استخدام مجموعتين من البادئات في تفاعلين متتاليين من تفاعل البوليميراز المتسلسل. في تفاعل PCR الأول ، يتم استخدام زوج واحد من البادئات لتوليد منتجات الحمض النووي. يتم بعد ذلك استخدام المنتج (المنتجات) المكبر الناتج في تفاعل ثانٍ مع مجموعة من البادئات التي تختلف مواقع ربطها كليًا أو جزئيًا عن البادئات المستخدمة في التفاعل الأول. غالبًا ما يكون تفاعل البوليميراز المتسلسل المتداخل أكثر نجاحًا في تضخيم شظايا الحمض النووي الطويلة بشكل خاص من تفاعل البوليميراز المتسلسل التقليدي.

8. Quantitative real-time PCR.: It is used to measure the quantity of a PCR product (preferably real-time). It is the method of choice to quantitatively measure starting amounts of DNA, cDNA or RNA. Q-PCR is commonly used to determine whether a DNA sequence is present in a sample and the number of its copies in the sample. The

real time PCR الكمي
يتم استخدامه لقياس كمية منتج PCR (يفضل في الوقت الحقيقي). إنها الطريقة المفضلة لقياس كميات البداية من الحمض النووي أو الحمض النووي الريبي (الحمض النووي الريبي) أو الحمض النووي الريبي (RNA) كميًا. يستخدم Q-PCR بشكل شائع لتحديد ما إذا كان تسلسل الحمض النووي موجودًا في العينة وعدد نسخه في العينة. الطريقة التي تتمتع باعلى مستوى من الدقة حاليًا هي PCR في الوقت الحقيقي الكمي.

Different Types of PCR Technique

أنواع مختلفة من تقنية PCR

reverse transcriptase

9. RT-PCR: is a method used to amplify, isolate or identify a known sequence from a cellular or tissue or RNA. The PCR is preceded by a reaction using reverse transcriptase to convert RNA to cDNA. RT-PCR is widely used in expression profiling, to determine the expression of a gene or to identify the sequence of an RNA transcript, including transcription start and termination sites and, if the genomic DNA sequence of a gene is known, to map the location of exons and introns in the gene. هي طريقة تستخدم لتضخيم أو عزل أو تحديد تسلسل معروف من خلية أو نسيج أو RNA. يسبق PCR تفاعل باستخدام النسخ العكسي لتحويل الحمض النووي الريبي إلى (كدنا). يستخدم RT-PCR على نطاق واسع في التنميط التعبير ، لتحديد التعبير عن الجين أو لتحديد تسلسل نسخة RNA ، بما في ذلك مواقع بدء النسخ والانتهاء ، وإذا كان تسلسل الحمض النووي الجيني للجين معروفًا ، لتعيين الموقع من exons و introns في الجين.

1. expression profiling

2. identify the sequence of RNA
   ex. start and termination sites.

3. Map location of exons and introns.

10. Intersequence specific PCR (ISSR): a PCR method for DNA fingerprinting that amplifies regions between some simple sequence repeats to produce a unique fingerprint of amplified fragment lengths. طريقة PCR لبصمات الحمض النووي التي تضخم المناطق بين بعض التكرارات البسيطة لإنتاج بصمة فريدة من أطوال الأجزاء المضخمة.

amplify regions b/w simple sequence repeats → produce unique fingerprint of amplified fragment lengths.

Different Types of PCR Technique

أنواع مختلفة من تقنية PCR

CG sites

11. Methylation-specific PCR (MSP): The MSP method was developed by Stephen Baylin and Jim Herman at the Johns Hopkins School of Medicine, and is used to detect methylation of CpG islands in genomic DNA. DNA is first treated with sodium bisulfite, which converts unmethylated cytosine bases to uracil, which is recognized by PCR primers as thymine. تم تطوير طريقة MSP بواسطة ستيفن بايلين وجيم هيرمان في كلية جونز هوبكنز للطب ، ويُستخدم للكشف عن مثيلة جزر CpG في الحمض النووي الجيني. يتم التعامل مع الحمض النووي أولاً باستخدام ثنائي كبريتيت الصوديوم ، والذي يحول قواعد السيتوزين غير الميثيل إلى اليوراسيل ، والذي يتم التعرف عليه بواسطة بادئات تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) على أنه ثايمين.

analysis of DNA methylation in CG islands.

Two PCR reactions are then carried out on the modified DNA, using primer sets identical except at any CpG islands within the primer sequences. At these points, one primer set recognizes DNA with cytosines to amplify methylated DNA, and one set recognizes DNA with uracil or thymine to amplify unmethylated DNA. ثم يتم إجراء تفاعلين PCR على الحمض النووي المعدل ، باستخدام مجموعات أولية متطابقة باستثناء أي جزر CpG ضمن تسلسل التمهيدي. في هذه النقاط ، تتعرف مجموعة تمهيدي واحدة على الحمض النووي مع السيتوزينات لتضخيم الحمض النووي الميثلي ، وتتعرف مجموعة واحدة على الحمض النووي مع اليوراسيل أو الثايمين لتضخيم الحمض النووي غير الميثيل.

1st primer: recognizes DNA with cytosine to amplify methylated DNA.

2nd primer: recognizes DNA with uracil or thymine to amplify unmethylated DNA

General Applications of PCR

التطبيقات العامة لـ PCR

Molecular Identification

التعريف الجزيئي

- DNA fingerprinting
- Genotyping
- Pre-natal diagnosis
- Mutation screening
- Detection of pathogens

بصمة الحمض النووي
التنميط الجيني
التشخيص قبل الولادة
فحص الطفرة
الكشف عن مسببات الأمراض

Sequencing

التسلسل

- Gene cloning
- Human Genome Project

استنساخ الجينات
مشروع الشفرة الوراثية البشرية

Genetic Engineering

الهندسة الوراثية

- Site-directed mutagenesis
- Gene expression studies

الطفرات موقع الموجه
دراسات التعبير الجيني

Clinical Application of PCR

التطبيق السريري لـ PCR

1. Prenatal diagnosis: **PCR is used to amplify DNA from fetal cells** obtained from amniotic fluid..

التشخيص قبل الولادة: يستخدم تفاعل البوليميراز المتسلسل لتضخيم الحمض النووي من الخلايا الجنينية المأخوذة من السائل الأمنيوسي.

Tay-Sachs disease, phenylketonurea, cystic fibrosis, hemophilia, Huntingdon's disease, Duchenne muscular dystrophy (DMD).

مرض تاي ساكس ، بيلة الفينيل كيتون ، التليف الكيسي ، الهيموفيليا ، مرض هنتنغتون ، الحثل العضلي الدوشيني (DMD).

2. PCR is very important in carrier testing for different **genetic diseases.**

يعتبر تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) مهمًا جدًا في اختبار الناقل لأمراض وراثية مختلفة.

3.PCR can be used to detect Single base changes using following technique:

يمكن استخدام PCR لاكتشاف تغييرات القاعدة الفردية باستخدام التقنية التالية:

a) Dot blot (spot hybridization) with oligonucleotides specific for known mutation.. لطخة نقطية (تهجين موضعي) مع أليغونوكليوتيدات محددة للطفرة المعروفة.

b) PCR-RFLP (Restriction enzyme analysis of PCR product). PCR-RFLP (تحليل إنزيم التقييد لمنتج PCR).

c) Direct sequencing of DNA or Gene.. التسلسل المباشر للحمض النووي أو الجين.

Clinical Application of PCR

التطبيق السريري لـ PCR

4. PCR allows the direct detection of HIV or other viral genomes in patient blood before the appearance of antibodies.

يسمح تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) بالكشف المباشر عن فيروس نقص المناعة البشرية أو الجينومات الفيروسية الأخرى في دم المريض قبل ظهور الأجسام المضادة.

PCR can detect 10-20 copies of viral DNA from 150,000 human cells.

يمكن لـ PCR اكتشاف 10-20 نسخة من الحمض النووي الفيروسي من 150.000 خلية بشرية

5. Diagnosis of the middle ear infection known as **otitis media**.

تشخيص التهاب الأذن الوسطى المعروف بإلتهاب الأذن الوسطى.

6. Lyme disease, the painful joint inflammation caused by bacteria transmitted by tick bites, can be diagnosed by detecting the disease organism's DNA contained in joint fluid.

يمكن تشخيص مرض لايم ، وهو التهاب المفاصل المؤلم الذي تسببه البكتيريا التي تنتقل عن طريق لدغات القراد ، عن طريق الكشف عن الحمض النووي للكائن الحي للمرض الموجود في سائل المفصل.

7. PCR is the most sensitive and specific test for ***Helicobacter pylori,*** the disease organism now known to cause almost all stomach ulcers.

يعد تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) الاختبار الأكثر حساسية وتحديدًا لجرثومة الملوية البوابية ، وهي كائن المرض المعروف الآن بتسببه في جميع قرح المعدة تقريبًا.

Clinical Application of PCR

8. PCR can detect three different **sexually transmitted disease** organisms on a single swab (**herpes, papillomaviruses, and chlamydia).**

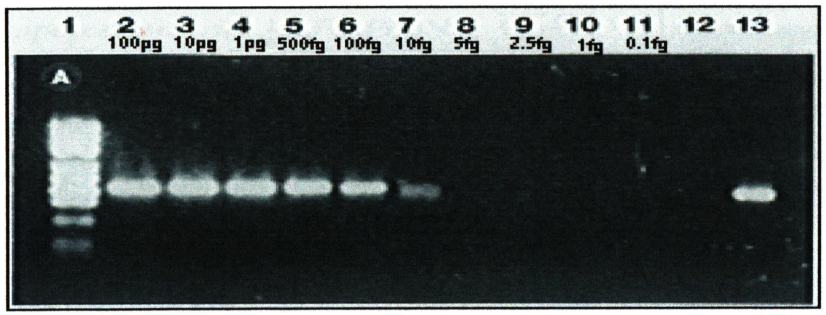
يمكن أن يكتشف تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) ثلاثة كائنات مختلفة للأمراض المنقولة جنسياً على مسحة واحدة (الهربس ، وفيروسات الورم الحليمي ، والكلاميديا).

9. PCR is more sensitive than culture test for the detection of M. tuberculosis

يعتبر تفاعل البوليميراز المتسلسل أكثر حساسية من اختبار الزرع للكشف عن المتفطرة السلية

Sensitivity Of PCR for the Detection Of Pathogens

حساسية تفاعل البوليميراز المتسلسل للكشف عن مسببات الأمراض



Sensitivity of detection of PCR-amplified *M. tuberculosis* DNA. (Kaul *et al.*1994) (1994 حساسية الكشف عن الحمض النووي لمرض السل المتضخم PCR. (كاول وآخرون