

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

высшего образования

«Кемеровский государственный университет»

«Институт биологии, экологии и природных ресурсов»

Реферат

По дисциплине «цитология»

На тему: «Молекулярно-генетические методы. Основы ПЦР»

- Выполнил(а):
- Студент(ка) группы Б-171
- Росинский А.Ю
- Дралова А.К
- Проверила:
- Доцент
- Мейер Алина Викторовна

Молекулярно-генетическая диагностика

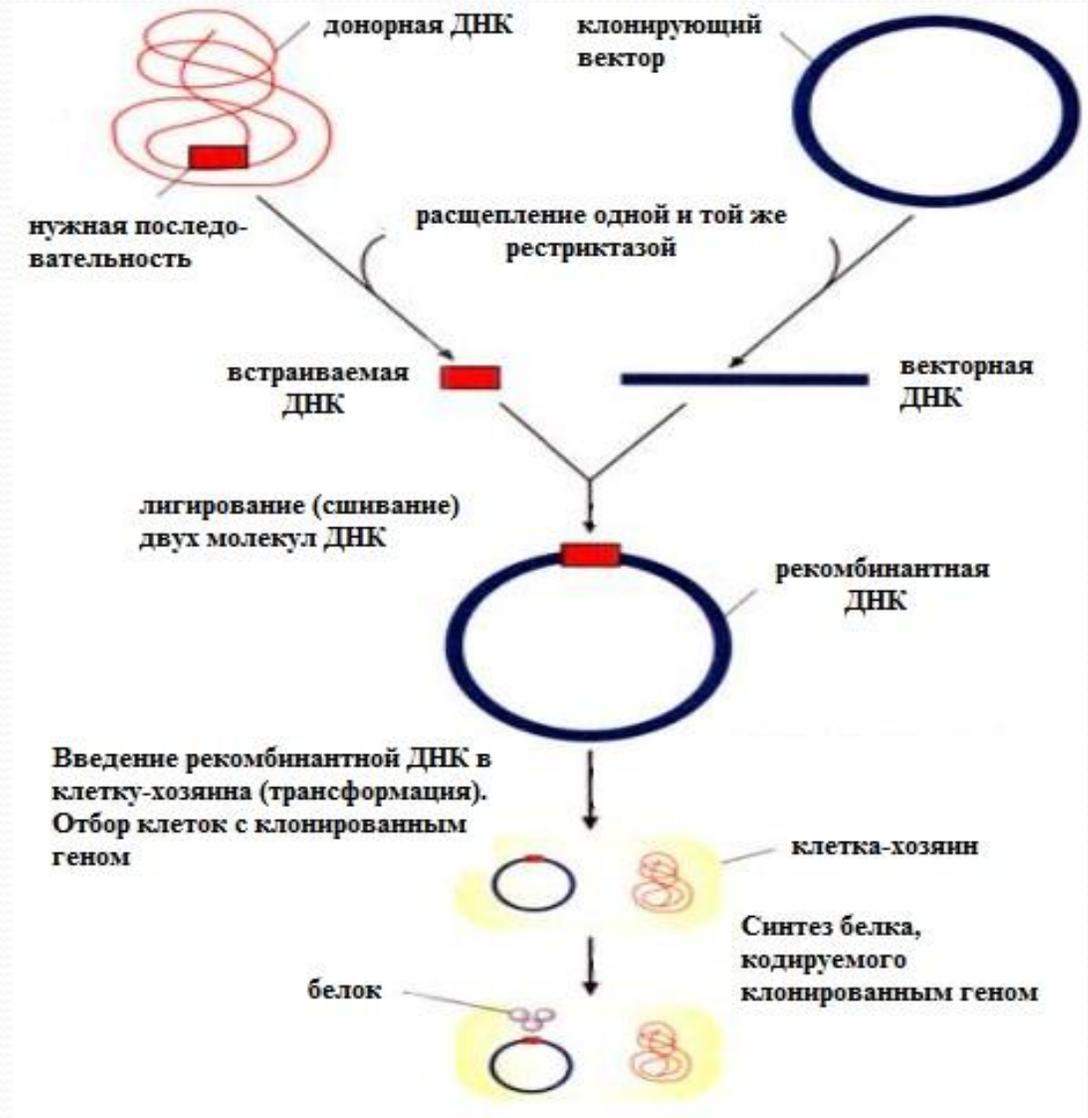
- Молекулярно-генетическая диагностика — сравнительно новый метод обследования организма, позволяющий точно и быстро выявить вирусы и инфекции, мутации генов, вызывающих патологию, оценить риски наследственных и иных заболеваний. Важнейшим достоинством молекулярно-генетической диагностики является минимальная степень медицинского вмешательства, поскольку исследование проводят *in vitro* (вне организма).

Молекулярно-генетические методы

- Молекулярно-генетические методы изучения наследственности человека – это большая группа методов, позволяющих выявлять варианты структуры исследуемого участка ДНК. В основе методов лежат различные манипуляции с ДНК и РНК.

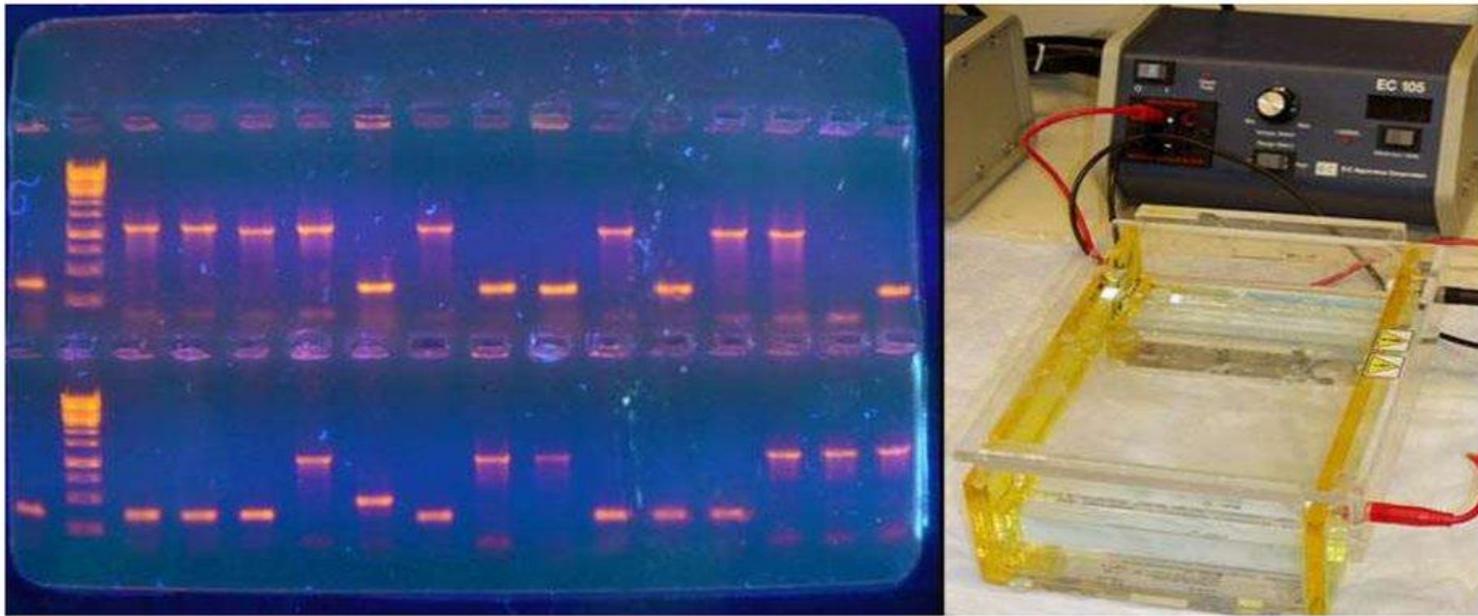
1. Молекулярное клонирование

- Это совокупность приёмов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов, осуществления манипуляций с генами и введения их в организмы



2. Электрофорез фрагментов ДНК

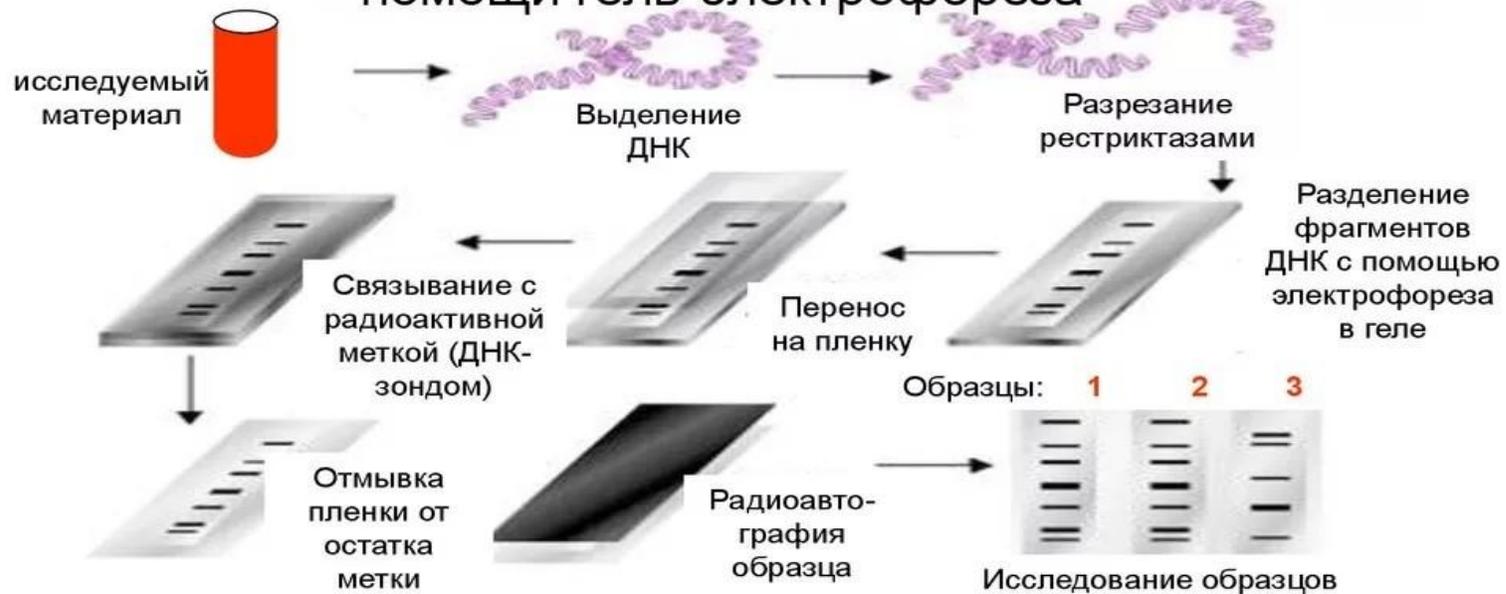
Рис. Электрофорез в агарозном геле с использованием бромистого этидия для визуализации результатов в ультрафиолете (слева). Вторая слева дорожка — маркер с известными длинами фрагментов. Справа — Установка для проведения электрофореза в геле.



3. Метод полиморфизма длины рестрикционных фрагментов

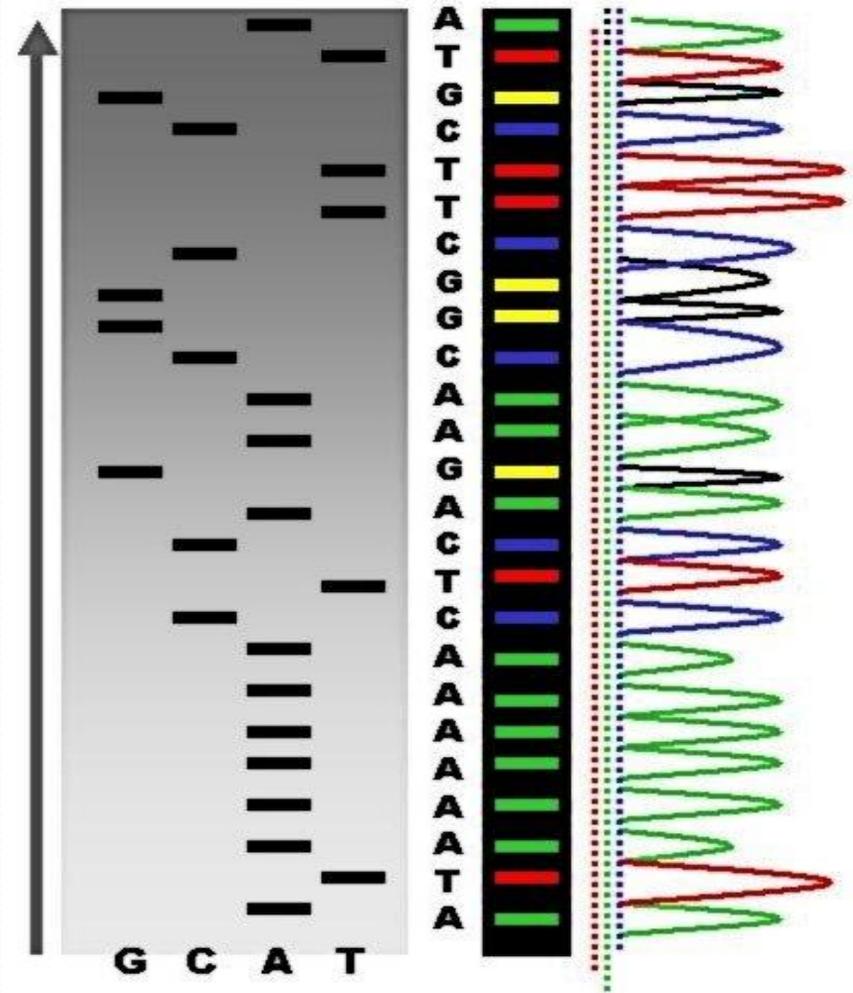
Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) —

это способ исследования ДНК, путем разрезания ее **эндонуклеазами рестрикции** и дальнейшего анализа размеров образующихся фрагментов (рестриктов) при помощи гель-электрофореза



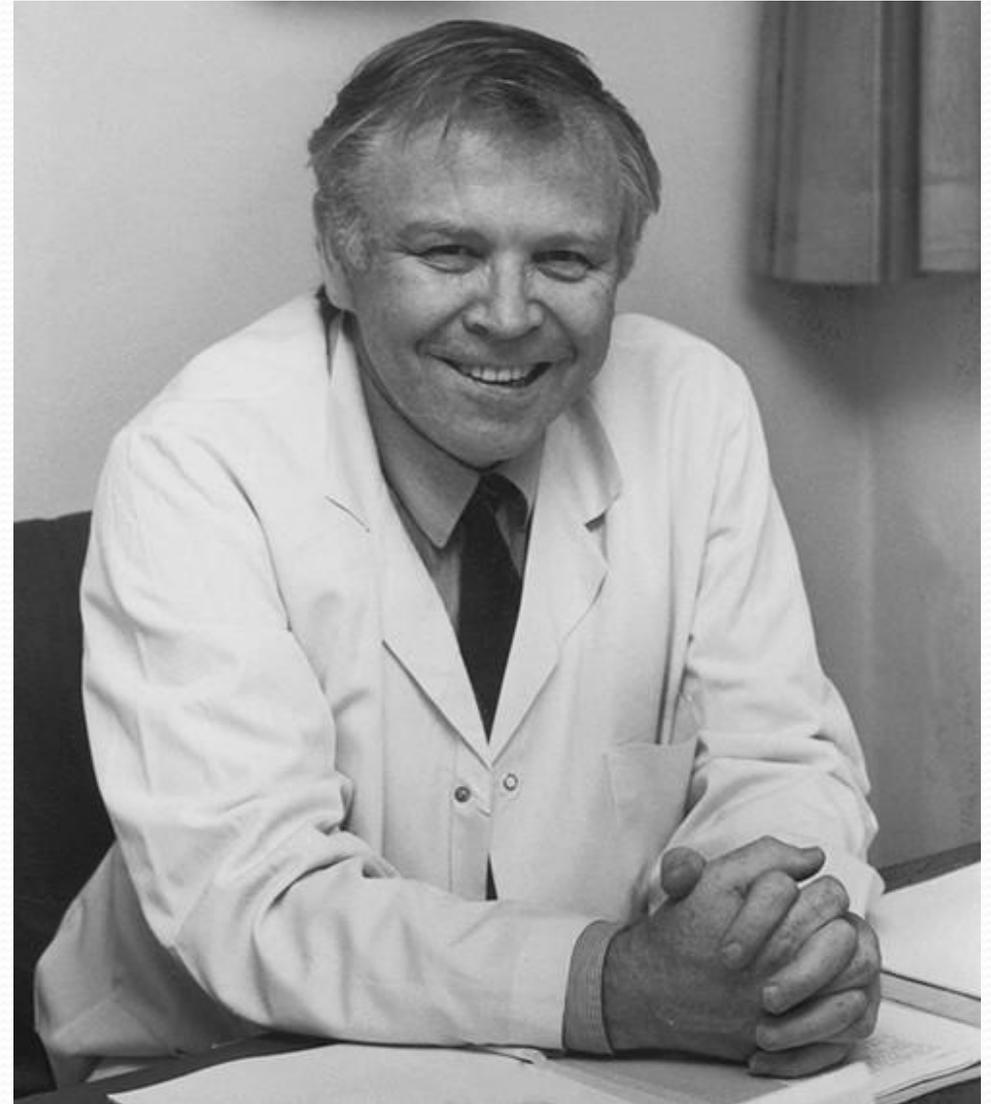
4. Секвенирование ДНК

- Секвенирование – определение нуклеотидной последовательности ДНК. Метод применяется для изучения генома человека как в норме так и в патологии. При помощи секвенирования определяют аллельные варианты генов, а также различные типы генных мутаций.



Полимеразная цепная реакция(ПЦР)

- В начале 1970-х годов норвежский учёный Хьелль Клеппе предложил способ амплификации ДНК с помощью пары коротких одноцепочечных молекул ДНК — синтетических праймеров. Однако в то время эта идея осталась нереализованной.



Полимеразная цепная реакция

- Полимеразная цепная реакция (ПЦР) была изобретена в 1983 году американским биохимиком Кэри Муллисом. Его целью было создание метода, который бы позволил амплифицировать ДНК в ходе многократных последовательных удвоений исходной молекулы ДНК с помощью
- В 1993 году Кэри Муллис получил за это Нобелевскую премию по химии. фермента ДНК-полимеразы



Полимеразная цепная реакция

- Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — экспериментальный метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (пробе).



Реактивы

- Праймеры;
- Смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов(дНТФ);
- Таq-полимераза;
- Буфер;
- Ионы магния(Mg^{2+});
- Анализирующий образец;
- Положительный контроль;
- Минеральное масло.

Приборы для ПЦР

Первый прототип ПЦР-амплификатора



Амплификатор



Приборы для ПЦР

Центрифуга



Приборы для ПЦР

Ламинарный шкаф



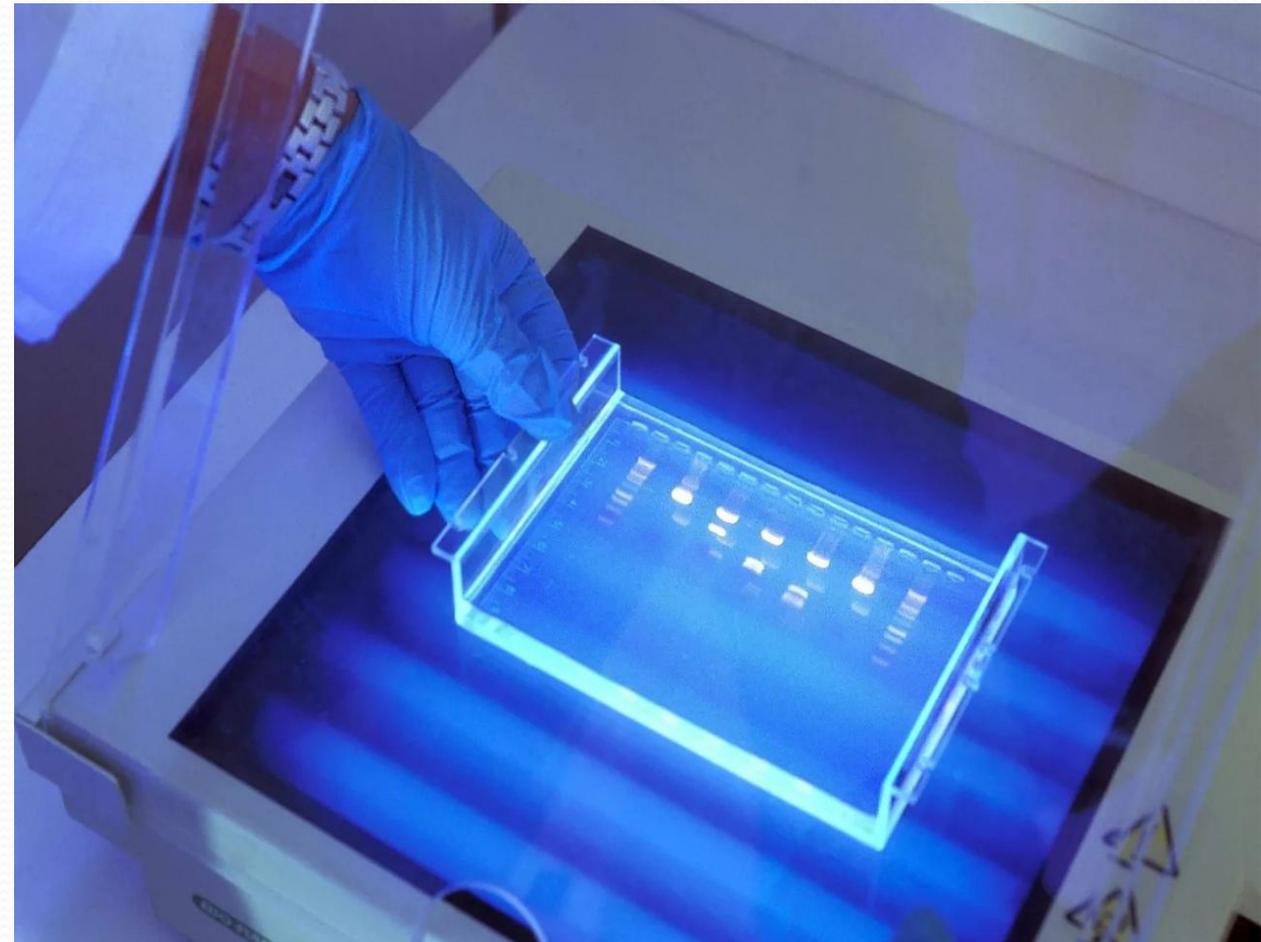
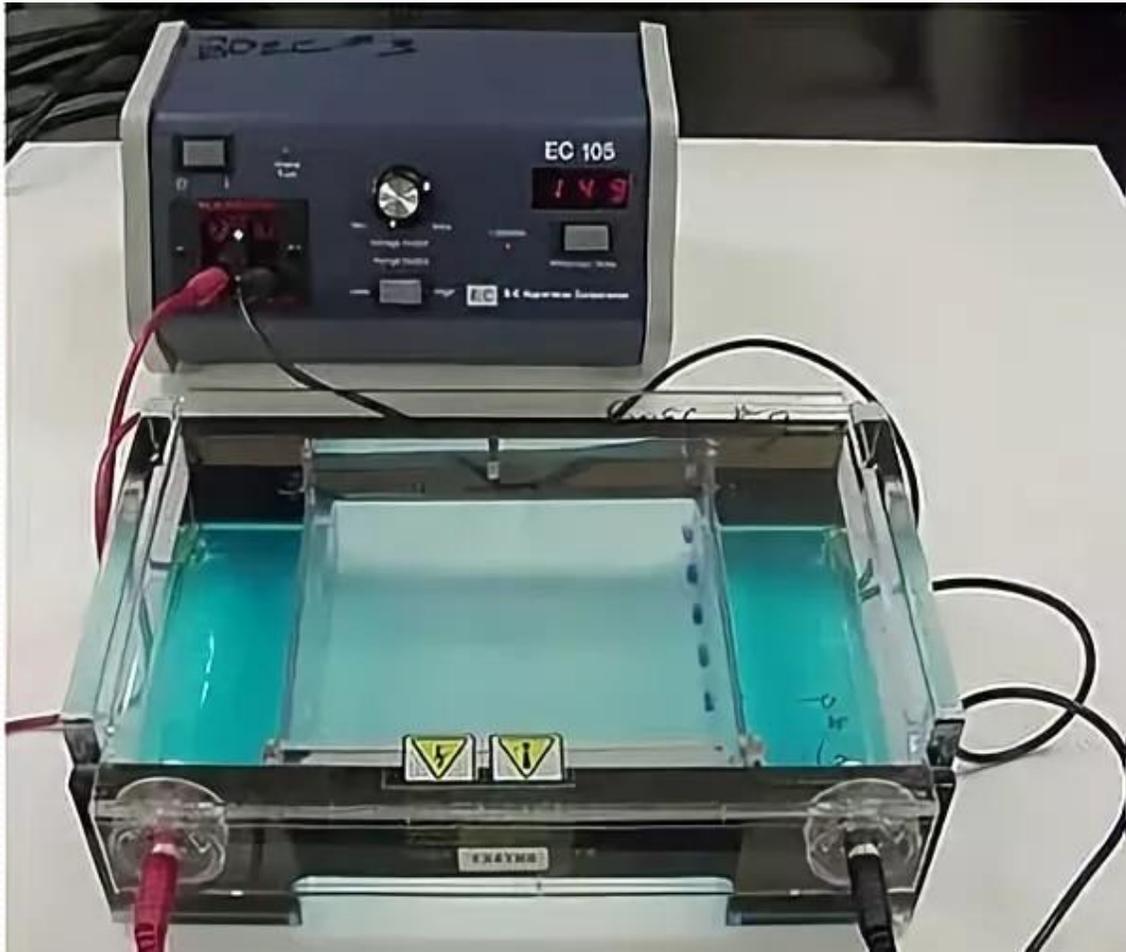
Приборы для ПЦР

Термоблок



Приборы для ПЦР

Аппарат для электрофореза



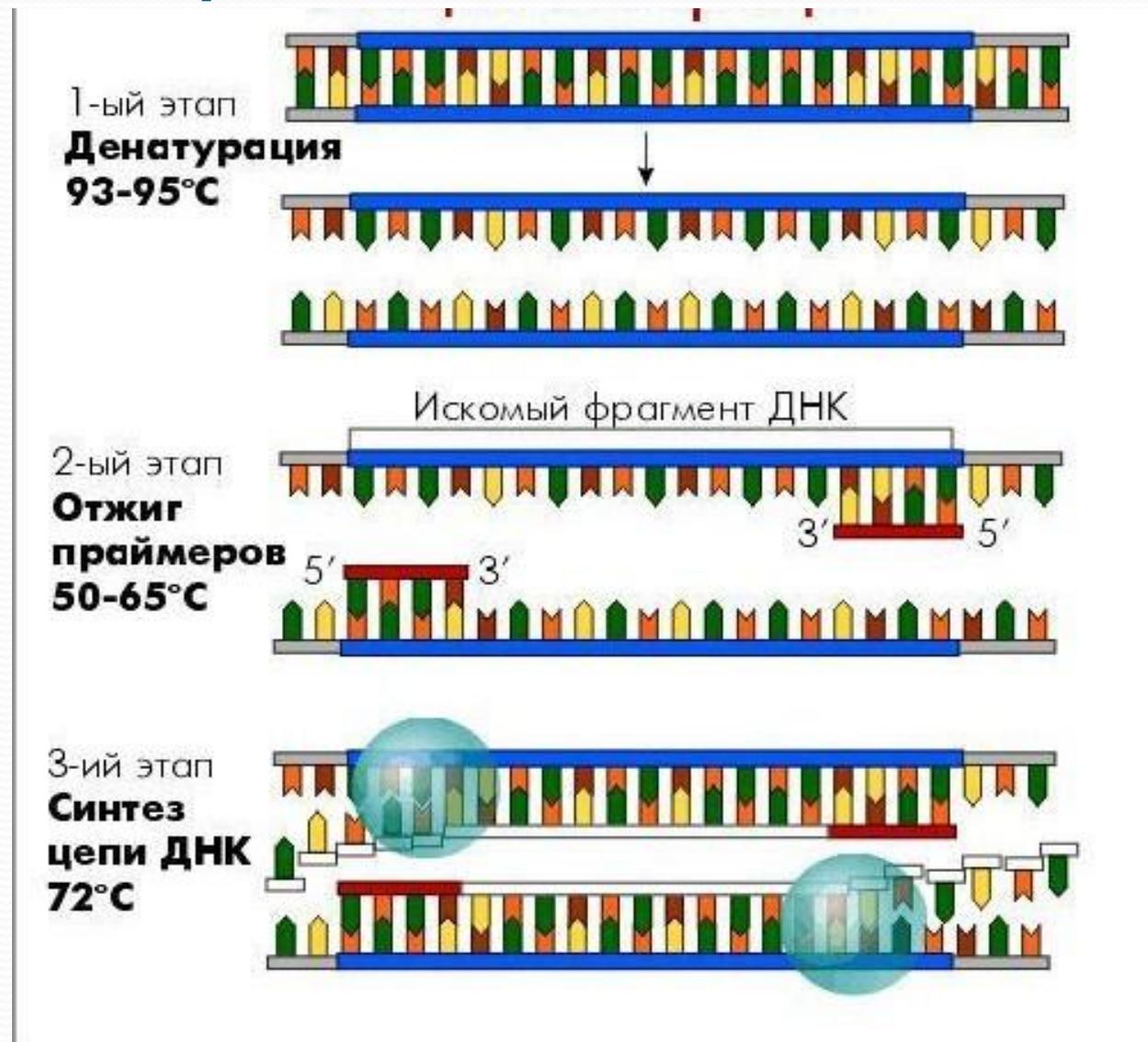
Приборы для ПЦР

Денситометр



Этапы ПЦР

- 1. Денатурация;
- 2. Присоединение праймеров (отжиг);
- 3. Достаивание цепи (элонгация);



Заключение

- 1. Самое широкое распространение метод ПЦР в настоящее время получил как метод диагностики различных инфекционных заболеваний. Он позволяет выявить этиологию инфекции даже если в пробе, взятой на анализ, содержится всего несколько молекул ДНК возбудителя.
- 2. ПЦР широко используется в ранней диагностики ВИЧ-инфекций, вирусных гепатитов и т.д. На сегодняшний день почти нет инфекционного агента, которого нельзя было бы выявить с помощью ПЦР.
- 3. В настоящее время ПЦР стала основным методом проведения мутагенеза (внесения изменений в нуклеотидную последовательность ДНК). Использование ПЦР позволило упростить и ускорить процедуру проведения мутагенеза, а также сделать её более надёжной и воспроизводимой.
- 4. С методом ПЦР связываются перспективы изучения таких заболеваний, как болезнь Крейтцфельда-Якоба, Альцгеймера, рассеянный склероз.



Спасибо за
внимание!