

Міністерство освіти і науки України  
ДВНЗ «Херсонський державний аграрний університет»

Національна академія аграрних наук України  
Національна наукова сільськогосподарська бібліотека  
Інститут зрошуваного землеробства  
Інститут рису



## **ПЕРСПЕКТИВНІ НАПРЯМИ ТА ІННОВАЦІЙНІ ДОСЯГНЕННЯ АГРАРНОЇ НАУКИ**

**матеріали Всеукраїнської науково-практичної  
інтернет-конференції, присвяченої 145-річчю від заснування  
кафедри ботаніки та захисту рослин**



## **ПОЛІМЕРАЗНА ЛАНЦЮГОВА РЕАКЦІЯ ЯК ЗАСІБ ІДЕНТИФІКАЦІЇ КАРАНТИННИХ ОРГАНІЗМІВ У РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ**

**Коковіхіна О.С.**, здобувач вищої освіти другого (магістерського) рівня,  
**Марковська О.Є.**, д.с.-г.н., професор, в.о. завідувача кафедри  
ДВНЗ «Херсонський державний аграрний університет», м. Херсон

Перед фахівцями, які працюють у сфері фітосанітарного контролю, одним із найважливіших завдань є тестування рослинного матеріалу на наявність карантинних організмів. Особливо це стосується продукції, що експортується до країн, які висувають вимоги на встановлення вільних зон від ряду патогенів, переважно бактеріологічної та вірусологічної природи. Для виявлення останніх найчастіше використовують імуноферментний аналіз (ІФА), проте широкого застосування набуває метод полімеразної ланцюгової реакції, за допомогою якого можна як ідентифікувати, так і підтверджувати наявність карантинних організмів.

Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) – експериментальний метод у молекулярній біології, який дозволяє досягти значного збільшення малих концентрацій певних фрагментів нуклеїнової кислоти (ДНК) в біологічному матеріалі (пробі, зразку) [1].

Цей метод використовується, перш за все, в медицині для діагностування інфекційних, генетичних та онкологічних захворювань. На перший погляд може здатися, що механізм такої реакції є надзвичайно важким, проте, варто ознайомитись з ним більш детально.

Відомо, що ДНК – це ланцюг, який містить величезну кількість комбінацій нуклеотидів. Саме завдяки унікальності їх поєднань можна розпізнати необхідний нам патоген. Проте, щоб виявити цей своєрідний «код послідовностей», слід збільшити концентрацію ділянок ДНК в мільйони разів.

Для проведення випробування використовують декілька компонентів:

- праймери – штучно створені олігонуклеотиди, які займаються пошуком необхідної ділянки ДНК, для спростування назвемо їх «детективами»;
- полімераза – своєрідний фермент, який дублює знайдену ділянку ДНК, виступає «копіювальником»;
- DNTP (дезоксинуклеотрифосфат) – матеріал, з якого «копіювальник» полімераза створить нові ланцюги ДНК;
- дослідний зразок – ДНК, виділена з біологічного матеріалу зразка, який тестується;
- буферний розчин – набір специфічних речовин, які створять оптимальні умови для проведення реакції.

ПЛР складається з трьох етапів, які повторюються 20-35 разів.

Розглянемо більш детально кожен з етапів.

1. Денатурація. Реакційну суміш нагрівають до 94°C, завдяки чому розплітається подвійний ланцюг ДНК біоматеріалу (рис. 1).

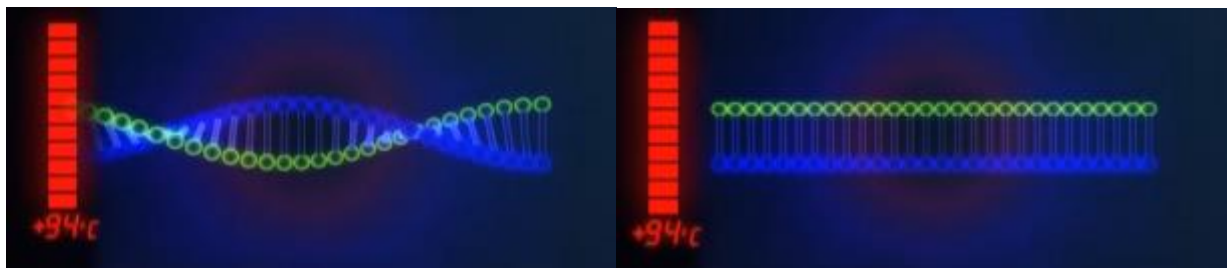


Рис. 1. Розкручення ланцюга ДНК під впливом температури

2. Відпал праймера. Температура знижується і праймери, неначе детективи, знаходять і чіпляються до певної ділянки одноланцюгової ДНК, обмежуючи фрагмент.

У випадку, якщо ДНК шкідливого організму, який ми шукаємо в дослідному зразку, немає, праймер буде нездатним приєднатися і реакція буде негативною (рис. 2).

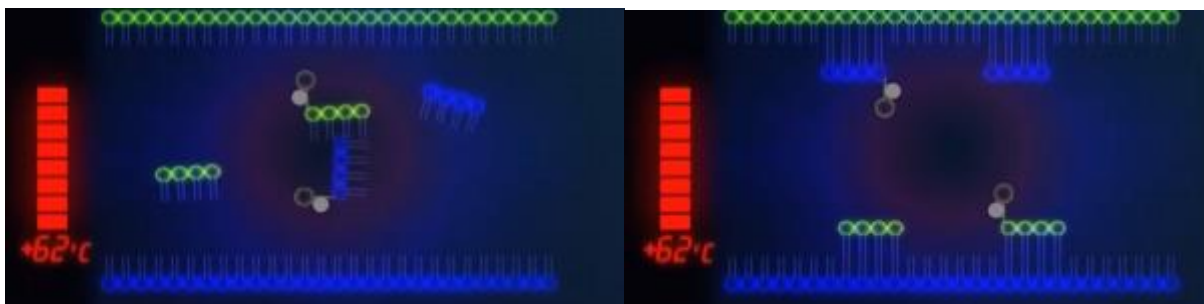


Рис. 2. Пошук та приєднання праймера

3. Елонгація. Полімераза, яка виступає «копіювальником», добудовує виділений фрагмент ДНК, використовуючи DNTP (рис. 3).



Рис. 3. Добудова виділеного фрагмента ДНК

При багаторазовому повторенні реакції фрагменти ДНК дублюються в геометричній прогресії. Таким чином можна виявити генетичний матеріал патогена, присутній у надзвичайно малій кількості.

Процедура здійснюється в лабораторних умовах, у спеціальному ПЛР-боксі. Нагрівання та охолодження зразка виконується ДНК-ампліфікатором, а оцінка результату – пристроєм для електрофорезу.

Отже, полімеразна ланцюгова реакція дозволяє з надзвичайно високою точністю виявити наявність карантинного збудника в рослинному матеріалі, який тестується.

### Література

1. Полимеразная цепная реакция. URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki> (дата звернення 04.04.2019 р.).
2. CityLab. Полимеразная цепная реакция. URL: <https://www.youtube.com/watch?v=XHQk6eAbJQ4> (дата звернення 04.04.2019 р.).