
**ИССЛЕДОВАНИЯ, ПРИБОРЫ, МОДЕЛИ
И МЕТОДЫ АНАЛИЗА**

УДК 57.088

ã С. А. Костенко, М. С. Сивашев, В. В. Шугайло

АМПЛИФИКАТОР ДНК IN SITU

Задачи диагностики и выбора методов лечения многих вирусных заболеваний могут быть решены при наличии информации о количестве и дислокации вирусного генома в клетках органов и тканей. Эта задача решается применением метода амплификации ДНК in situ, при котором полимеразная цепная реакция проводится непосредственно в клетках взятых образцов тканей и результаты реакции могут быть обнаружены по ее окончании визуально под микроскопом без дополнительной обработки материалов. В Институте биологического приборостроения РАН разработан и изготовлен амплификатор ДНК in situ со следующими параметрами:

- 1) диапазон температур нагревания и охлаждения образцов от 4 до 99 °С;
- 2) среднее значение скорости нагрева-охлаждения не менее 1 °С в секунду;
- 3) погрешность измерения и регулирования температуры не более 0.5 °С;
- 4) количество пластинок с образцами 4 шт.;
- 5) потребляемая мощность не более 300 Вт;
- 6) габариты 240×185×470 мм;
- 7) масса прибора 7 кг.

Прибор прошел испытания на соответствие требованиям технического задания, имеется комплект конструкторской и технологической документации.

ВВЕДЕНИЕ

Активно развиваемые в настоящее время методы диагностики генетических нарушений и вирусных заболеваний на основе метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) широко применяются в современной медицине. Несомненным достоинством метода является его высокая чувствительность. Технология выполнения ПЦР в пробирке предполагает этап экстракции ДНК, а метод амплификации ДНК in situ обеспечивает выполнение ПЦР над генетическим материалом клеток, зафиксированных на стеклянных пластинках. Сущность метода иллюстрирует рис. 1.

Данный метод позволяет более эффективно (с точки зрения затрат времени, реагентов и оборудования) решать конкретную задачу генетических исследований, а именно соотнести результат амплификации пространственно с морфологией клеток. Целью таких исследований могут быть:

- идентификация клеток со скрытой вирусной инфекцией;
- определение точечных уникальных генетических изменений;
- локализация клеток с генетическими разрывами и хромосомными транслокациями;
- контроль прогрессирования болезней или эффекта терапии на молекулярном и клеточном уровнях.

В Институте биологического приборостроения РАН разработан и изготовлен прибор для амплификации ДНК in situ.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ПРИБОРА

Структурная схема амплификатора ДНК in situ показана на рис. 2. ПЦР происходит в термокамере 1, нагреваемой и охлаждаемой с помощью термоэлектрических модулей 2. Процесс нагревания-охлаждения происходит по специальному термопрофилю, параметры которого задаются пользователем с помощью клавиатуры и отображаются на жидкокристаллическом дисплее блока 6. Прибор имеет девять фиксированных программ амплификации. Оператор может связать в последовательное выполнение до четырех программ. Выполнение программ контролируется микропроцессором 4. Сигналы от него поступают на блок усилителей 5, управляющих током через термоэлектрические модули. Источник питания 7 выполнен по схеме конвертора и питает все цепи прибора. Измерение температуры термокамеры производится аналоговым датчиком температуры 3, сигнал с которого поступает в микропроцессор.

Перед началом работы оператор задает требуемые параметры термоцикла, их число и запускает прибор. По окончании выполнения всех заданных программ прибор переходит в режим хранения образцов при заданной температуре хранения.

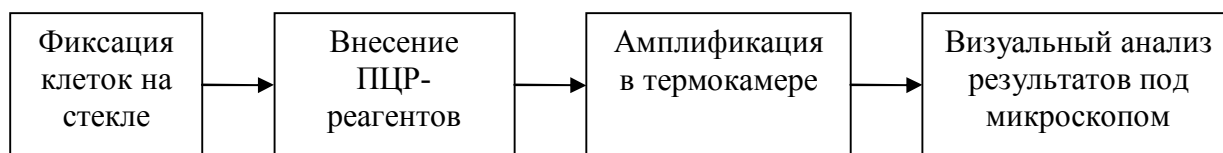


Рис. 1. Технология амплификации ДНК in-situ

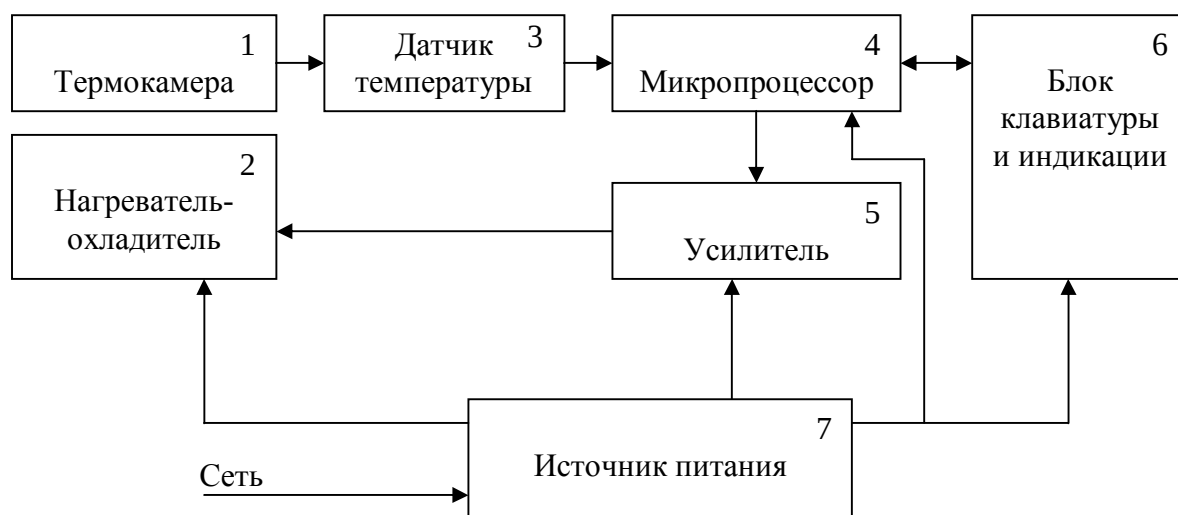


Рис. 2. Структурная схема амплификатора ДНК in situ

Основные параметры прибора

- | | |
|--|---------------------------|
| 1. Диапазон температур нагрева и охлаждения образцов | — от 4 до 99 °С |
| 2. Среднее значение скорости нагрева-охлаждения | — не менее 1 °С в секунду |
| 3. Погрешность измерения и регулирования температуры | — не более 0.5 °С |
| 4. Количество пластинок с образцами | — 4 шт. |
| 5. Потребляемая мощность | — не более 300 Вт |
| 6. Габариты | — 240 × 185 × 470 мм |
| 7. Масса прибора | — 7 кг |

*Институт биологического приборостроения РАН,
г. Пущино, Моск. обл.*

Материал поступил в редакцию 7.12.2007.

IN SITU DNA AMPLIFIER

S. A. Kostenko, M. S. Sivashev, V. V. Shugaylo

Institute for Biological Instrumentation RAS, Moscow region, Pushchino

The problems of diagnostics and selection of methods for treating various viral diseases can be solved if information on the quantity and location of the viral genome in the cells of organs and tissues is available. This problem can be solved by the method of in situ DNA amplification, when the polymerase chain reaction (PCR) is carried out directly in the cells of tissue samples, and the reaction results can be obtained after its completion visually (with a microscope), without additionally processing the materials.

The RAS Institute for Biological Instrumentation located in Pushchino has developed and constructed an in situ DNA amplifier with the following performances characteristics:

1. Sample heating and cooling temperature range is 4 to 99 °C.
2. Average value of the heating-cooling rate is at least 1 °C per second.
3. Temperature measurement and control error is no more than 0.5 °C.
4. Number of plates with samples — 4.
5. Power consumption is no more than 300 W.
6. Dimensions: 240 × 185 × 470 mm.
7. Weight of the device: 7 kg.

The device was successfully tested for conformity with the requirements specification; a set of design and process documentation is available.