

ДНЕВНАЯ ФОРМА ОБУЧЕНИЯ

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

**Учреждение образования
«Международный государственный экологический институт
имени А.Д. Сахарова»
Белорусского государственного университета**

**ФАКУЛЬТЕТ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ
КАФЕДРА ИММУНОЛОГИИ**

**МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Дипломная работа

Специальность 1-80 02 01 Медико-биологическое дело

Исполнитель:

студентка 4 курса А91МЕД1 группы
дневной формы обучения _____

Эргашева Ирода Фахриддин кизи

Научный руководитель:

канд. биол. наук, доцент кафедры
иммунологии _____

Савицкая Татьяна Владимировна

К защите допущен:

Заведующий кафедрой иммунологии
д-р мед. наук, профессор _____

Зафранская Марина Михайловна

МИНСК 2023

РЕФЕРАТ

Дипломная работа: Методы выделения ДНК для молекулярно-генетических исследований: 54 страниц, 21 рисунок, 3 таблицы, 52 источников, 8 приложений.

ДНК, метод, реагент, образец, контаминация, экспрессия генов.

Цель работы: изучить методы выделения ДНК и их применение при молекулярно-генетических исследованиях.

Объект исследования: ДНК.

Методы исследований: аналитические, статистические.

Полученные результаты: определить количественный и качественный состав выделенной ДНК и свойства ДНК, полученных из разных типов тканей.

Отношение 260:230 имеет меньшую чувствительность при определении примеси белка в растворе нуклеиновой кислоты и имеет соотношение порядка 1,8-2,2. Такие отличия обусловлены более высоким значением коэффициента молярной экстинкции нуклеиновых кислот на длинах волн 260 и 280 нм в сравнении с белками. Поэтому даже для раствора белка относительно высокой концентрации вклад в поглощение на длинах волн 260 и 280 нм небольшой. Белковое загрязнение в растворе нуклеиновой кислоты не может быть определено по соотношению 260:230.

Загрязнения фенолом, который часто используют при выделении нуклеиновых кислот, может приводить к значительным погрешностям при измерении концентрации нуклеиновых кислот. Фенол имеет максимальное поглощение на длине волны 270 нм и соотношение $A_{260}/280$ около 1,2. Нуклеиновые кислоты, не содержащие фенол, имеют соотношение $A_{260}/280$ около 2. Примеси фенола могут значительно завесить концентрацию ДНК.

Поглощение на длине волны 230 нм может быть вызвано загрязнениями фенолятами, тиоцианатами и другими органическими соединениями. Для чистого образца РНК отношение $A_{260}/230$ должно быть около 2, для чистого образца ДНК $A_{260}/230$ около 1,8.

Отрицательные значения могут быть вызваны неверным выбором раствора, использованного в качестве пустого (blank) либо быть следствием наличия флюоресцентного красителя в растворе [48,50,51].

Область применения: медицина, образование, биотехнология, онкология.

РЭФЕРАТ

Дыпломная работа: Метады выдзялення ДНК для малекулярна-генетычных даследаванняў: 54 старонак, 21 малюнкаў, 3 табліцы, 52 крыніцы, 8 дадаток.

ДНК, метады, рэагент, ўзор, кантамінацыя, экспрэсія генаў.

Мэта працы: вывучыць метады выдзялення ДНК і іх прымяненне пры малекулярна-генетычных даследаваннях.

Аб'ект даследавання: ДНК.

Метады даследавання: аналітычныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі: вызначыць колькасны і якасны склад выдзеленай ДНК і ўласцівасці ДНК, атрыманых з розных тыпаў тканін. Стаўленне 260:230 мае меншую адчувальнасць пры вызначэнні прымешкі бялку ў раствору нуклеінавых кіслоты і мае суадносіны парадку 1,8-2,2. Такія адрозненні абумоўлены больш высокім значэннем каэфіцыента малярнай экстинкцыі нуклеінавых кіслот на даўжынях хваль 260 і 280 нм ў параўнанні з вавёркамі. Таму нават для раствора бялку адносна высокай канцэнтрацыі ўклад у паглынне на даўжынях хваль 260 і 280 нм невялікі. Бялковае забруджванне ў раствору нуклеінавых кіслоты не можа быць вызначана па суадносінах 260:230.

Забруджвання фенолам, які часта выкарыстоўваюць пры выдзяленні нуклеінавых кіслот, можа прыводзіць да значных хібнасцяў пры вымярэнні канцэнтрацыі нуклеінавых кіслот. Фенол мае максімальнае паглынне на даўжыні хвалі 270 нм і суадносіны A_{260}/A_{280} каля 1,2. Нуклеінавыя кіслоты, якія не змяшчаюць фенол, маюць суадносіны A_{260}/A_{280} каля 2. Прымешкі фенолу могуць значна завысіць канцэнтрацыю ДНК.

Паглынне на даўжыні хвалі 230 нм можа быць выклікана забруджваннямі фенолятамі, тиоцианатамі і іншымі арганічнымі злучэннямі. Для чыстага ўзору РНК стаўленне A_{260}/A_{230} павінна быць каля 2, для чыстага ўзору ДНК A_{260}/A_{230} каля 1,8.

Адмоўныя значэння могуць быць выкліканы няслушным выбарам раствора, выкарыстання ў якасці пустога (blank) альбо быць следствам наяўнасці флюарэсцэнтнага фарбавальніка ў раствору [48,50,51].

Вобласць прымянення: медыцына, адукацыя, біятэхналогія, анкалогія.

ABSTRACT

Graduate work: Methods of DNA isolation for molecular genetic studies: 54 pages, 21 figures, 3 tables, 52 sources, 8 applications.

DNA, method, reagent, sample, contamination, gene expression.

Purpose of work: to study the methods of DNA isolation and their application in molecular genetic studies.

Object of study: DNA.

Research methods: analytical, statistical.

Received results: to determine the quantitative and qualitative composition of the isolated DNA and the properties of DNA obtained from different types of tissues.

The ratio 260:230 has a lower sensitivity when determining the protein impurity in a nucleic acid solution and has a ratio of the order of 1.8-2.2. Such differences are due to the higher value of the molar extinction coefficient of nucleic acids at wavelengths of 260 and 280 nm in comparison with proteins. Therefore, even for a relatively high concentration protein solution, the contribution to absorption at wavelengths of 260 and 280 nm is small. Protein contamination in a nucleic acid solution cannot be determined by the ratio 260:230.

Contamination with phenol, which is often used in the isolation of nucleic acids, can lead to significant errors in measuring the concentration of nucleic acids. Phenol has a maximum absorption at a wavelength of 270 nm and an A₂₆₀/A₂₈₀ ratio of about 1.2. Nucleic acids that do not contain phenol have an A₂₆₀/A₂₈₀ ratio of about 2. Phenol impurities can significantly overestimate the concentration of DNA.

Absorption at a wavelength of 230 nm can be caused by contamination with phenolates, thiocyanates and other organic compounds. For a pure RNA sample, the ratio A₂₆₀/A₂₃₀ should be about 2, for a pure DNA sample A₂₆₀/A₂₃₀ about 1.8.

Negative values can be caused by an incorrect choice of the solution used as blank (blank) or be a consequence of the presence of a fluorescent dye in the solution [48,50,51].

Area of application: medicine, education, biotechnology, oncology.