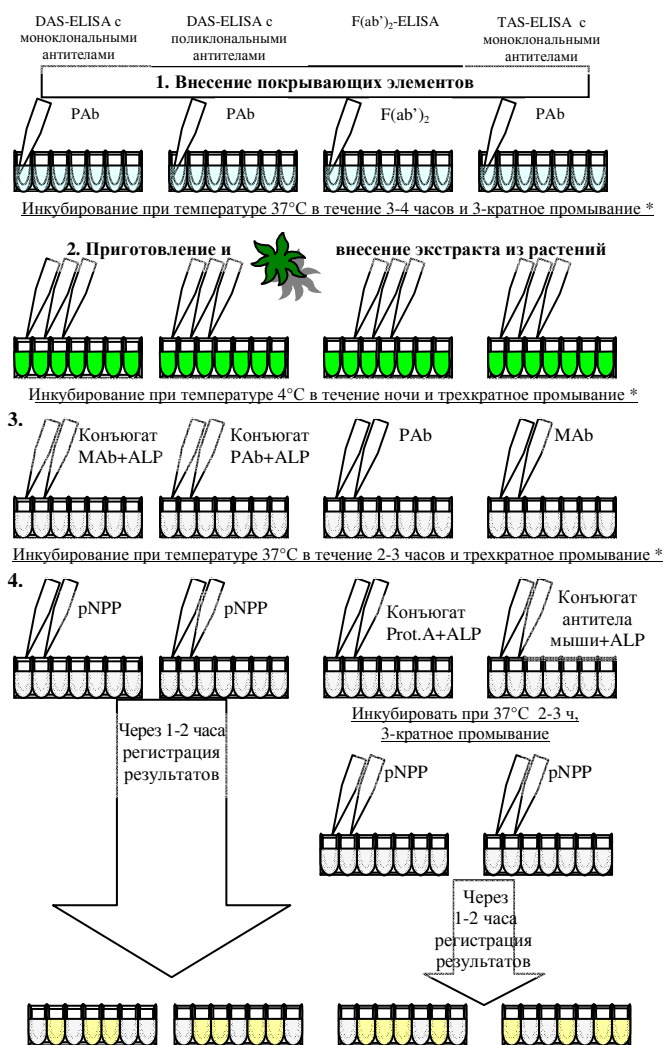


НАУЧНАЯ СТАЖИРОВКА В ИНСТИТУТЕ САДОВОДСТВА И ЦВЕТОВОДСТВА (СКЕРНЕВИЦЫ, ПОЛЬША)

Научная стажировка проходила под руководством доктора Тадеуша Малиновского с 15 по 27 ноября 2010 г. в отделе физиологии и биохимии растений Института садоводства и цветоводства в Скерневицах.

Выбор данного института представлялся целесообразным для проведения стажировки в связи с тем, что в Институте садоводства и цветоводства уже более 20 лет проводятся исследования такого вирусного заболевания косточковых культур как Шарка, его распространенности, а также осуществляется молекулярно-генетический анализ его генома.

За время стажировки были освоены различные методики иммуноферментного анализа (DAS-ELISA, TAS-ELISA, F(ab')₂-ELISA), а также использование поликлональных (Скерневицы) и моноклональных антител ('Magic' kit from AMR lab consultants). Данные методы отличаются не только схемой проведения, но и чувствительностью (рисунок 1).



Примечание. * - схема может быть изменена, необходимо смотреть инструкцию производителя.

Рисунок 1 – Проведение различных методов иммуноферментного анализа.

Помимо этого, был освоен метод диагностики вируса Шарки при помощи IC-RT-PCR (immune-capture reverse transcription polymerase chain reaction) (рисунок 2).

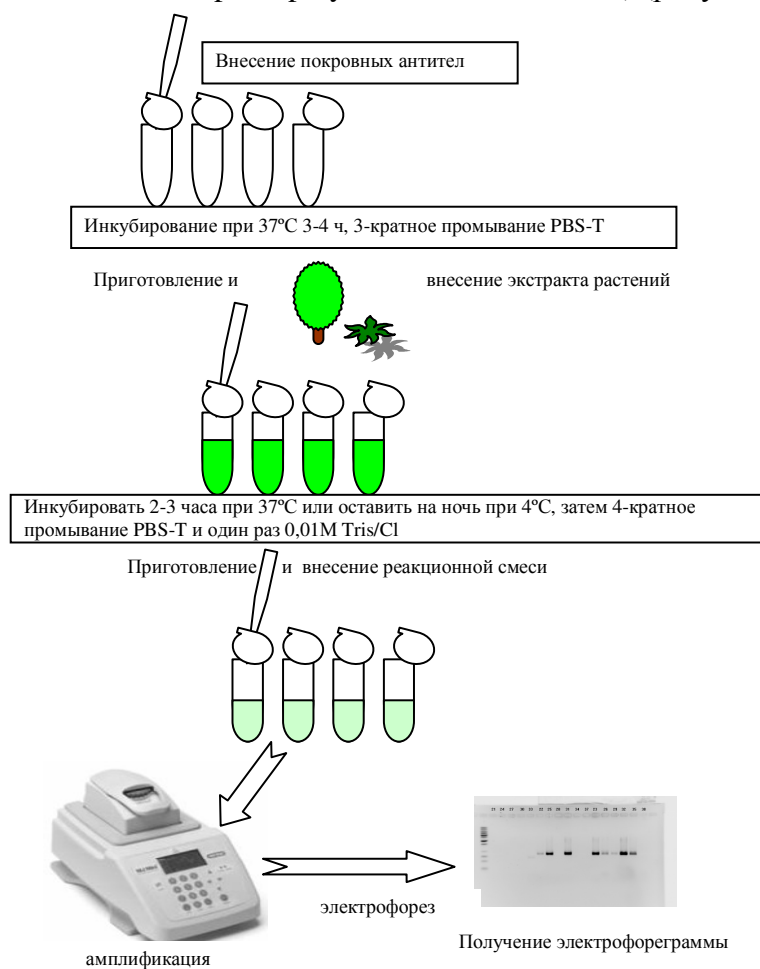


Рисунок 2 – Проведение IC-RT-PCR анализа.

Диагностику осуществляли с использованием набора Titan One Tube RT-PCR System (Roche) и Expand High Fidelity PCR System (Roche). В ходе исследований оценили эффективность использования двух пар праймеров (PPV P1-P2, PPV PP3-PC1) для диагностики вируса. Отработана схема проведения электрофореза (рисунок 3).



Рисунок 3 – Проведение электрофореза.

В результате чего получены электрофореграммы продуктов амплификации. Освоена методика очистки амплифицированных фрагментов ДНК с целью последующего секвенирования. Секвенирование проводилось в лаборатории ДНК секвенирования в Институте биохимии и биофизики (Варшава, Польша). В результате проведенных исследований были получены данные о нуклеотидной последовательности 2 изолятов вируса Шарки.

Были оценены возможности каждого из методов, проведен сравнительный анализ их чувствительности.

Проанализировано более 20 литературных источников по диагностике вируса Шарки при помощи молекулярно-биологических методов (IC-RT-PCR) и иммуноферментных методов, которые будут использованы в дальнейшей работе. Копии статей представлены в отделе биотехнологии РУП «Институт плодородства».

Кроме того, было проведено ознакомление с работой Центра элитного материала для садоводства (ЦЭМС) в Прусах, который был основан в 1995 г. (рисунок 4).



Рисунок 4 – Центр элитного материала для садоводства (ЦЭМС) в Прусах.

Центр является интегральной частью Института садоводства и цветоводства в Скерневицах. Данный ЦЭМС является главным поставщиком исходного садоводческого материала, свободного от вирусов, для польских садоводов. В Центре есть Лаборатория тестов ELISA и микроразмножения. Растения, свободные от вирусных заболеваний, получают методами селекции, термотерапии и микроразмножения. Также в ЦЭМС осуществляют сохранение материала для садоводства.

Благодарность. Автор выражает искреннюю благодарность доктору Тадеушу Малиновскому и всему коллективу отдела физиологии и биохимии растений Института садоводства и цветоводства в Скерневицах за предоставленную возможность стажировки, научное руководство, а также за антитела для диагностики вируса Шарки посредством IC-RT-PCR и иммуноферментного анализа, что дало возможность использования данного метода на базе отдела биотехнологии РУП «Институт плодородства».

Выводы. Стажировка в лабораториях мирового уровня позволяет приобрести знания, расширить кругозор и применить полученные знания на практике.

СОЛОВЕЙ Оксана Викторовна,
аспирант отдела биотехнологии