

20-2431

ДУБЛЕТ

**ПЦР-ДИАГНОСТИКА
ВРЕДНЫХ ОРГАНИЗМОВ ГУАРА**

20-02432



МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений
имени Н.И. Вавилова (ВИР)

ПЦР-ДИАГНОСТИКА ВРЕДНЫХ ОРГАНИЗМОВ ГУАРА
(МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ)

Санкт-Петербург
2019

УДК 633.37:581.573.4
ББК 42.113.9
П91

Утверждено к печати Ученым советом ВИР (протокол № 11 от 25 декабря 2019 г.)

Авторы:

**канд. биол. наук Н. В. Алпатьева,
канд. биол. наук О. Ю. Антонова, д-р биол. наук Е. Е. Радченко,
канд. биол. наук Р. А. Абдуллаев, Ю. И. Карабидина,
д-р биол. наук И. Н. Анисимова**

Рецензент: д-р биол. наук Е. И. Гулятьева

Под научной редакцией д-ра биол. наук Е. К. Потокиной

П91 ППР-диагностика вредных организмов гуара : (методические указания) /
Н. В. Алпатьева, О. Ю. Антонова, Е. Е. Радченко, Р. А. Абдуллаев, Ю. И. Карабидина,
И. Н. Анисимова ; под научной редакцией Е. К. Потокиной. – Санкт-Петербург :
ВИР, 2019. – 36 с.

ISBN 978-5-907145-44-3

Для идентификации вредных организмов гуара предлагается использовать нуклеотидный полиморфизм фрагментов митохондриального и ядерного геномов патогенов и вредителей. Описываются разработка праймеров к полиморфным участкам геномов исследуемых организмов, их амплификация, клонирование ППР-продуктов, подготовка проб для секвенирования отдельных клонов, идентификация вредных организмов с использованием международных информационных баз нуклеотидных последовательностей.

УДК 633.37:581.573.4
ББК 42.113.9

ISBN 978-5-907145-44-3
DOI 10.30901/978-5-907145-44-3

© Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических
ресурсов растений имени Н.И. Вавилова
(ВИР), 2019

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр..
Введение	5
Пробоподготовка	6
Выделение суммарной ДНК из отобранного материала	6
Метод А. Выделение ДНК из насекомых	6
Метод Б. Выделение ДНК грибных патогенов из листьев гуара	7
Разработка праймеров	8
Постановка ПЦР	14
Оценка результатов ПЦР методом электрофореза	15
Выделение фрагмента из ПЦР-смеси	18
Клонирование ПЦР-фрагментов (общие положения)	19
Лигирование ампликонов в вектор pAL2-T	20
Трансформация рекомбинантной ДНК в <i>E. coli</i>	21
Подготовка проб для секвенирования	22
Идентификация полученных последовательностей с помощью информационно-поисковой системы BLAST	24
Приложение	29
Буферы и растворы	29
Среды и добавки	30
Протокол приготовления химически компетентных клеток	32
Список литературы	34