

ТЕХНИЧЕСКИЕ НАУКИ

Дашиковская Анастасия Геннадиевна

магистрант

Мрыхин Сергей Николаевич

магистрант

Дробот Павел Николаевич

канд. физ.-мат. наук, доцент

ФГБОУ ВПО «Томский государственный университет

систем управления и радиоэлектроники»

г. Томск, Томская область

УСТРОЙСТВО ПЦР–АМПЛИФИКАТОРА, РАБОТАЮЩЕГО В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

Аннотация: в статье представлена схема устройства российской инновационной разработки – амплификатора для проведения ПЦР диагностики в режиме реального времени. Данное оборудование отличается от аналогов высокой чувствительностью и шестиканальным оптическим модулем. В то же время стоимость амплификатора значительно ниже, чем у конкурентов. Эти обстоятельства определяют конкурентные преимущества данной разработки.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция, ПЦР-диагностика, амплификация, амплификатор, режим реального времени, пробоподготовка.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – экспериментальный метод молекулярной биологии, способ значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале (пробе).

Метод исследования, построенный на использовании ПЦР, является высокоточным методом молекулярно-генетической диагностики, который позволяет выявить у человека инфекционные и наследственные заболевания, как в острой и хронической стадии, так и задолго до проявления заболевания.

В настоящее время в практику внедряется новая технология ПЦР – *в реальном времени*. Ее принципиальной особенностью является мониторинг и количественный анализ накопления продуктов ПЦР и автоматическая регистрация и интерпретация полученных результатов. Этот метод можно выполнить с помощью современного прибора – амплификатора. В настоящий момент амплификатор используется в клиничко-диагностических лабораториях медучреждений для амплификации ДНК/РНК методом полимеразной цепной реакции [1].

Командой разработчиков ЗАО «Электроника Сибири» разработан амплификатор «БИОМС-01» (48 лунок) – высокоскоростной прибор для проведения ПЦР с возможностью регистрации продуктов реакции в режиме реального времени. Прибор является оптимальным решением для медицинских лабораторий. Надёжный и компактный «БИОМС-01-48», при сопоставимых технических параметрах, не уступает в качестве результата зарубежным аналогам. Оптическая система 6-канальной детекции обеспечивают беспрецедентно высокую скорость и удобство работы на приборе и по праву гарантируют «БИОМС-01-48» место на рынке ПЦР-диагностики.

Также активно ведется разработка амплификатора «БИОМС-01» (96 лунок). Данные приборы оборудованы флуоресцентным детектором и автоматической крышкой, что позволит встроить их в автоматизированную систему. Дополнительную актуальность этим приборам придает современная российская тенденция импортозамещения. В связи с этим проводится активная работа по коммерциализации и продвижению этих разработок на российский рынок.

Устройство амплификатора. Схема прибора для проведения ПЦР приведена на рисунке 1. Прибор выполняет регистрацию флуоресцентного излучения, возникающего при облучении возбуждающим светом окрашенного участка искомой (целевой) ДНК. Возбуждающее излучение от источника света (светодиода) с помощью световодного оптоволокну подаётся на реакционную смесь с исследуемым образцом, находящуюся в пробирке. Пробирки с образцами размещены в амплификаторе, обеспечивающем требуемый температурный режим ре-

акционной смеси. Возникшее в пробирке свечение вещества (флуоресценция) передаётся по световодному оптоволокну на фотоприёмник, формирующий электрический сигнал пропорционально световому потоку. Контроллер прибора измеряет уровень электрического сигнала и вырабатывает цифровые данные, которые и пересылаются в компьютер по линии связи. Компьютер выполняет финальную обработку данных.

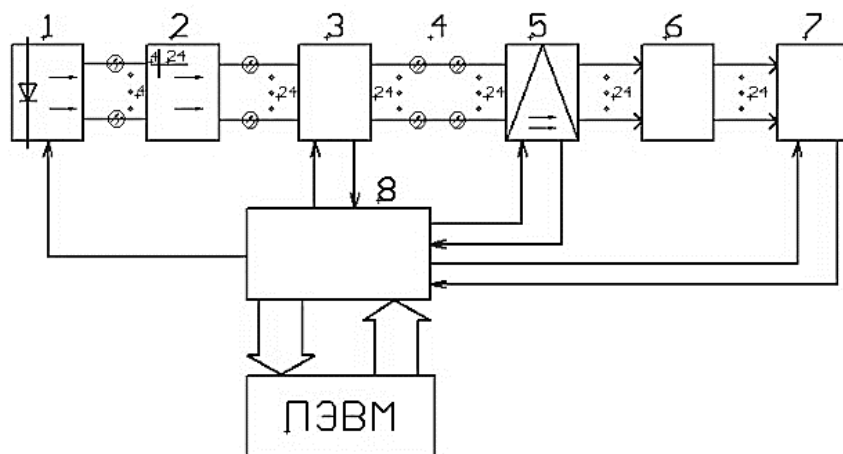


Рис. 1. Схема функциональных связей компонентов прибора для ПЦР

Главным компонентом амплификатора является блок термоциклера 3, обеспечивающий необходимые для проведения ПЦР температурные режимы. Вспомогательным компонентом, вносящим свой вклад в поддержание заданного температурного режима амплификатора, является подогреваемая крышка амплификатора. На внутренней поверхности крышки поддерживается заданная температура. Когда крышка закрыта, её внутренняя поверхность механически контактирует с крышками пробирок, помещённых в термоциклер, благодаря чему поддерживается нужный тепловой режим в объёме пробирки.

В качестве элементов нагрева-охлаждения термоциклера используются термоэлектрические модули (элементы Пельтье), управляемые силовыми электронными ключами. Избыточное тепло из термоциклера отводится воздушным радиатором с обдувом управляемым вентилятором.

Флуориметр прибора образован следующими компонентами: 1 – блок осветителей; 2,4 – световодные коллекторы; 5 – блок светофильтров; 6 – объектив; 7 – многоканальный фотоприёмник.

Блок осветителей 1 собран на основе шагового электропривода, на валу которого смонтирована ступица с несколькими гнёздами (слотами). В каждое гнездо установлен осветитель светодиодного типа с оптическим коллиматором. Оптическое излучение из блока осветителей через световодный коллектор 2 подаётся к лункам рабочего стола амплификатора 3, где и происходит экспонирование реакционной смеси в пробирках из прозрачного материала. Во время экспонирования в реакционной смеси возбуждается флуоресцентный сигнал. Флуоресцентный световой поток с помощью световодного коллектора 4 подаётся в блок светофильтров 5, где происходит спектральная селекция полезного сигнала. Отфильтрованный световой поток поступает в фотоприёмный узел, образованный объективом 6 и фотоприёмником 7. В фотоприёмнике 7 происходит регистрация и преобразование оптического сигнала в электрический аналоговый. Выходной электрический аналоговый сигнал фотоприёмника передаётся в контроллер 8. Контроллер преобразует аналоговый электрический сигнал в цифровые данные, которые по каналу связи с компьютером передаются в компьютер и обрабатываются программным приложением «ПЦР-менеджер».

Контроллер прибора отвечает за связь прибора с «ПЦР-менеджером» и за правильное функционирование прочих электронных и электрических узлов прибора: управление осветителями и светофильтрами, управление регуляторами температуры в амплификаторе.

Общее управление прибором во всех режимах эксплуатации производится «ПЦР-менеджером» с внешнего или внутреннего компьютера. Приложение «ПЦР-менеджер» обеспечивает генерацию последовательности команд для контроллера прибора и контроль их исполнения, в том числе управление прибором и сбор данных в ходе ПЦР в реальном времени. ПЦР-менеджер отвечает также за обработку и анализ полученных данных [2].

Список литературы

1. Основы полимеразной цепной реакции (ПЦР): Методическое пособие / Сост. В.В. Зорина. – М.: ДНК-технология, 2012. – 80 с.
2. Касаткин А.В. Комплекс программно-аппаратный для проведения ПЦР-реакций: Руководство по эксплуатации / А.В. Касаткин. – Томск–Северск, 2013. – 124 с.