

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	3
Обработка нуклеиновых кислот ферментами	5
Рестриктазы	5
ДНК-лигазы	6
ДНК- и РНК-полимеразы	7
Киназы и фосфатазы	10
Молекулярная гибридизация нуклеиновых кислот	11
Перенос нуклеиновых кислот из геля на твердый носитель	12
Подготовка зонда для гибридизации	14
Мечение зонда по всей длине	15
Концевое мечение зонда	16
Нерадиоактивное мечение зонда	18
Гибридизация in situ	22
Гибридизация на микрочипах (DNA microarray)	27
Вестерн-Блоттинг	31
Применение методов молекулярной гибридизации в генетическом анализе	33
Пример 1. Полиморфизм длин рестриктных фрагментов (ПДРФ)	33
Пример 2. Аллель-специфичная гибридизация	34
Пример 3. Построение рестрикционной карты	35
Пример 4. Анализ структуры гена	39
Пример 5. Комплексный анализ экспрессии гена	41
Полимеразная цепная реакция	43
Общие принципы ПЦР	43
Амплификация длинных фрагментов ДНК	47
Полуколичественная ПЦР	47
ПЦР в реальном времени	49
Применение ПЦР в генетическом анализе	53
Пример 1. Тестирование наличия мутации — ПДРФ-анализ	53
Пример 2. Тестирование наличия мутации — аллель-специфичная ПЦР	54
Пример 3. Введение модификаций и мутаций методом ПЦР	56
Пример 4. ДНК-фингерпринтинг	58

Пример 5. Исследование структурной организации генов	59
Пример 6. Быстрая амплификация концов кДНК	61
Пример 7. Исследование экспрессии большого числа генов на уровне транскрипции	64
Пример 8. Выявление полиморфизма в геномах организмов одного вида	66
Секвенирование ДНК	68
Химический метод секвенирования	68
Ферментативный метод секвенирования	69
Пиросеквенирование	71
Секвенирование геномов	73
Методы исследования функции гена	80
Биоинформатический анализ	80
Нокаут гена	84
Инактивация гена без гомологичной рекомбинации, основанная на применении транспозонов	86
Нокдаун гена	86
Репортерные системы	89
Исследование белковых продуктов генов	90
Сравнительная геномика	93
Вопросы для самоконтроля	97
Рекомендуемая литература и интернет-источники	100
Список используемых сокращений	101