

Тестирование экономичного и быстрого метода выделения ДНК на различных таксономических группах водорослей

Научный руководитель – Кривина Елена Сергеевна

Карпенко Александра Алексеевна

Студент (бакалавр)

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П.

Королева, Естественнонаучный институт, Самара, Россия

E-mail: asund3r@yandex.ru

Микроводоросли в широком смысле представляют собой древнюю экологическую группу, объединяющую разнообразные таксономические организмы про- и эукариотической природы – такие как цианобактерии, зеленые, диатомовые, желто-зеленые, харофитовые и другие водоросли. Эти организмы отличаются уникальной физиологией, высокой экологической адаптивностью и пластичностью, что позволяет им занимать доминирующие позиции в различных экосистемах. Благодаря своим особенностям, микроводоросли не только стали эволюционно успешной группой, но и нашли широкое применение в таких сферах как экологический мониторинг, сельское хозяйство, биоэнергетика, а также в фармацевтической и пищевой промышленности.

Неотъемлемой частью современной альгологии являются два направления: ДНК-таксономия и ДНК-баркодинг водорослей. Первое связано с описанием новых и ревизией известных видов, второе – с их идентификацией [1]. Определение таксономической принадлежности организмов осуществляется на основе ДНК-анализа, что, однако, не отменяет традиционные морфологические методы. Выделение ДНК представляет собой важнейший этап подготовки образцов для молекулярно-генетических исследований, биохимических и клинических анализов. Чистота и качество извлеченного материала напрямую влияют на точность и воспроизводимость последующих процедур, включая амплификацию и секвенирование. В настоящее время для выделения ДНК из растительных образцов, включая водоросли, имеется широкий ряд методов: выделение фенол-хлороформом [4], СТАВ-метод [6], выделение на спин-колонках [5], магнитных частицах [7], с помощью ионообменных смол [2] и т.д. Тем не менее, некоторые из них могут быть небезопасны за счёт токсичных веществ, а другие – дорогостоящи, так как реализованы в коммерческих наборах.

Целью настоящей работы являлась апробация экономичного и быстрого метода выделения ДНК из биомассы микроводорослей, предложенного Fei с соавт. [3], на широкой выборке различных таксономических групп микроводорослей из Всероссийской коллекции микроорганизмов: 16 штаммов – *Chlorophyta*, 2 штамма – *Heterokontophyta*, 2 штамма – *Charophyta* и 3 штамма – *Cyanobacteria*.

В результате работы было установлено, что процедура кипячения (100 °C) в течение 5 мин позволила получить препараты ДНК, которые успешно амплифицировались для 65% штаммов. В качестве преимуществ использованного протокола отметим простоту, экономичность, меньшее количество затраченного времени и манипуляций в целом, высокую воспроизводимость результатов в пределах одного штамма, а также сопоставимое качество полученных ДНК-препаратов по сравнению с коммерческим набором для выделения ДНК из растительных клеток. В качестве недостатков выделим низкую воспроизводимость результатов в пределах одного рода, класса и отдела.

Данный метод выделения суммарной ДНК рекомендуем для первичного массового рутинного анализа неидентифицированных штаммов в научно-исследовательских лабора-

ториях, а также при организации практических занятий по молекулярно-генетическому анализу в высших и средних учебных заведениях.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 122040100065-3).

Источники и литература

- 1) Темралеева А.Д., Кривина Е.С., Букин Ю.С. Современные подходы к изучению водорослей: ДНК-баркодирование и ДНК-таксономия // Вопросы современной альгологии. 2021. № 2 (26). С. 124–130.
- 2) Dash H.R., Shrivastava P., Das S. Extraction of DNA by using anion-exchange resin Chelex® / In: Principles and Practices of DNA Analysis: A Laboratory Manual for Forensic DNA Typing. Springer Protocols Handbooks. Humana Press, New York, NY, 2020. P. 97–101.
- 3) Fei C., Zou S., Wang T., Wang C., Kemuma N.D., He M., Amin S.A., Wang C. A quick method for obtaining high-quality DNA barcodes without DNA extraction in microalgae // Journal of Applied Phycology. 2020. V. 32. P. 1165–1175.
- 4) Liu A.W., Villar-Briones A., Luscombe N.M., Plessy C. Automated phenol-chloroform extraction of high molecular weight genomic DNA for use in long-read single-molecule sequencing // F1000Research. 2022. V. 11: 240.
- 5) Sánchez M.L., Peñaloza C.C., Avila Rodríguez M.I., Viaña M.P., Rivera Hernández G., Benavides J., Grasselli M. Nucleic acids isolation for molecular diagnostics: Present and future of the silica-based DNA/RNA purification technologies // Separation & Purification Reviews. 2023. V. 52. No. 3. P. 193–204.
- 6) Schenk J.J., Becklund L.E., Carey S.J., Fabre P.P. What is the «modified» CTAB protocol? Characterizing modifications to the CTAB DNA extraction protocol // Applications in Plant Sciences. 2023. V. 11. No. 3: e11517.
- 7) Tang C., He Z., Liu H., Xu Y., Huang H., Yang G., Xiao Z., Li S., Liu H., Deng Y., Chen Z., Chen H., He N. Application of magnetic nanoparticles in nucleic acid detection // Journal of Nanobiotechnology. 2020. V. 18: 62.