

© И.А. Денисова, С.В. Андрющенко, 2014

УДК 579.873.13, 579.872.1

И.А. Денисова, С.В. Андрющенко

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ МНОЖЕСТВЕННОЙ ПЦР ДЛЯ РОДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ АКТИНОБАКТЕРИЙ

Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

Цель. Оптимизация тест-системы идентификации бактерий родов *Bifidobacterium* и *Propionibacterium* с помощью системы двухфазной множественной ПЦР.

Материалы и методы. Выделенная из 8 штаммов бактерий *Bifidobacterium spp.* и 6 штаммов бактерий рода *Propionibacterium* из коллекции лаборатории биомониторинга и молекулярно-генетических исследований ИКВС УрО РАН матричная ДНК подвергалась тесту на родовую принадлежность методом множественной ПЦР с помощью праймеров, разработанных на основе вариабельности гена 16S РНК с помощью ДНК-амплификатора «Терцик МС2» (НПФ «ДНК-Технология»). Отладка алгоритма амплификации проводилась в управляющей программе «TherCyc 2.1». Детекция ампликонов производилось методом агарозного гель-электрофореза.

Результаты. Проведенная оптимизация алгоритма ПЦР путем повышения температуры отжига до 72°C и сокращения всех фаз процесса позволило уменьшить общее время протекания реакции с 60 до 40 минут.

Заключение. Оптимизация алгоритма амплификации применительно к возможностям конкретного оборудования и праймеров позволяет добиться сокращения времени амплификации на 1/3.

Ключевые слова: множественная ПЦР, облигатные анаэробы, актинобактерии, бифидобактерии, пропионибактерии

I.A. Denisova, S.V. Andryuschenko

THE OPTIMISATION OF MULTIPLEX PCR ALGORITHM FOR GENUS IDENTIFICATION OF ACTINOBACTERIA

Institute of cellular and intracellular symbiosis, UrB RAS, Orenburg, Russia

Aim. To optimize PCR test-system of identification of Actinobacteria genus: *Bifidobacterium* and *Propionibacterium*.

Materials and methods. DNA matrix extracted from 8 strains of *Bifidobacterium spp.* and 6 strains of *Propionibacterium* (ICIS UrB RAS) and tested by multiplex PCR with primers to 16S RNA gene, in Thermal Cycler "MC2" ("DNA-technology", Russia). Amplification algorithm optimization was performed in «TherCyc 2.1» software. Detection of amplicons was performed by agarose gel electrophoresis.

Results. Amplification algorithm optimization by increase of the annealing temperature to 72°C and by decrease of duration of all phases allowed us to reduce the time of reaction from 60 to 40 minutes.

Conclusions. Amplification algorithm optimization in accordance with properties of using equipment and primers is allow to decrease the amplification time on 1/3.

Key words: multiplex PCR, obligate anaerobes, actinobacteria, bifidobacteria, propionibacteria.