

© Коллектив авторов, 2016

УДК 57.088.2

*Е.А. Селиванова¹, Ю.А. Хлопко¹, Д.В. Пошвина¹,
Н.Е. Гоголева², С.Д. Борисов³, А.О. Плотников^{1,3}*

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ ТОТАЛЬНОЙ ДНК ИЗ ОБРАЗЦОВ ЦИАНО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ МАТОВ

¹ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

² Казанский институт биохимии и биофизики РАН, Казань, Россия

³ Оренбургский государственный медицинский университет, Оренбург, Россия

Цель. Разработка оптимальной методики выделения тотальной ДНК из образцов циано-бактериальных матов.

Материалы и методы. Объектом исследования послужили образцы циано-бактериального мата с высокой концентрацией прокариот из устьевой части солоноватой реки Чернавка (природный парк Эльтонский, Волгоградская область). ДНК выделяли методом химического лизиса (основная методика), модификация методики заключалась в использовании лизоцима. Из полученной ДНК были приготовлены ДНК-библиотеки. 16S метагеномное секвенирование ДНК-библиотек проводилось на секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Данные по составу сообществ обрабатывались комплексом биоинформационных программ. Эффективность методики оценивали по количеству ридов и ОТЕ, а также качественному и количественному составу сообщества.

Результаты. Всего из образца циано-бактериального мата было выделено 158849 и 140463 ридов прокариот, с использованием основной методики выделения ДНК и методики с модификацией, соответственно. Таксономический состав прокариот в образцах был идентичным, вне зависимости от использованного метода, тогда как относительная численность микроорганизмов различных таксонов значительно отличалась.

Заключение. Для выделения ДНК из образцов циано-бактериальных матов предпочтительно использовать модификацию метода химического лизиса с дополнительной обработкой клеток лизоцимом или механической гомогенизацией для более полного разрушения клеточных стенок цианопрокариот.

Ключевые слова: экстракция ДНК, метагеномный анализ, циано-бактериальные маты, секвенирование следующего поколения, Illumina.

*Е.А. Selivanova¹, Y.A. Khlopko¹, D.V. Poshvina¹,
N.E. Gogoleva², S.D. Borisov³, A.O. Plotnikov^{1,3}*

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF TOTAL DNA ISOLATION METHODS FROM THE SAMPLES OF CYANOBACTERIAL MATS

¹ Institute for Cellular and Intracellular Symbiosis UB RAS, Orenburg, Russia

² Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics RAS, Kazan, Russia

³ Orenburg State Medical University, Orenburg, Russia

Objective. Development of the optimal method of the total DNA extraction from the samples of cyanobacterial mats.

Materials and methods. For the study samples of cyanobacterial mat with a high concentration of prokaryotes from the mouth of the brackish river Chernavka (Natural Park Eltonsky, Volgograd region) were taken. A total genomic DNA was extracted by chemical lysis (the main method). A modification of the method included an additional treatment with lysozyme. The

DNA libraries were prepared from the isolated DNA. 16S metagenomic sequencing of the DNA libraries was conducted in MiSeq (Illumina). Data analysis was carried out using a complex of bioinformatic programs. An efficiency of method was evaluated by the number of reads and OTUs, as well as by qualitative and quantitative composition of the community.

Results. In total, 158 849 and 140 463 prokaryotic reads were produced with the main method of DNA extraction and modified method, respectively. Taxonomic composition of prokaryotes in the samples was identical, regardless of the method used, while relative abundances of microbial taxa differed significantly.

Conclusion. For total DNA extraction from the samples of cyanobacterial mat the modified method of chemical lysis with additional lysozyme treatment or mechanical homogenization for complete destruction of the cyanoprokaryotes cell walls is preferable.

Key words: extraction of DNA, metagenome analysis, cyanobacterial mats, NGS, Illumina.