

ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОТОКОЛА ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ИЗ ГЕРБАРНОГО МАТЕРИАЛА РАСТЕНИЙ

С.С. Исламова^{1,2}, А.С. Нұртаза¹, И.Н. Саматова^{1,2}, А.А. Какимжанова¹

¹Национальный центр биотехнологии

Республика Казахстан, 010000, г. Астана, Кургальжинское шоссе 13/5

²Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева

Республика Казахстан, 010000, г. Астана, Сампаева 2

e-mail: islamovasimbat@gmail.com

В настоящее время количество гербарного материала свидетельствует о богатстве растительного мира. Данные, зафиксированные в гербариях, не устаревая со временем, остаются актуальными и служат основой для изучения биоразнообразия. За последние десятилетия использование ДНК-технологий в изучении гербарных материалов стало значимым прорывом, благодаря разработке новых методов выделения. Это позволяет проводить комплексные исследования по систематике, филогении и генетике растений. Однако, использование гербарного материала представляет собой сложный процесс, который зависит от методов сбора и обработки растений, проводимых при подготовке гербария. Важно учитывать, как физические, так и химические изменения, возраст гербарных образцов, которые играют значительную роль в сохранении ДНК.

В качестве объектов исследований использовали гербарные растительные материалы *Ribes janczewskii*, *Ribes nigrum* и *Ribes aureum*. Для оптимизации изучены четыре протокола выделения ДНК из гербарного материала, которые различались между собой составом лизирующего буфера. Образцы из сухого растительного материала выделены по протоколу 1 (контроль), в котором использовали набор реактивов Kit (Omega BIO-TEK E.Z.N.A. Plant DNA Kit).

В результате сравнительного анализа оптимальным среди четырех протоколов выделения

ДНК из гербарного растительного материала является протокол 2 (состав лизирующего буфера СТАВ с 2% цетилтриметиламмония бромида, 20 мМ ЭДТА, 100 мМ Трис-НСl, 1,4 мМ NaCl). Хотя концентрация ДНК в образцах находилась в оптимальном диапазоне от 270 до 621 нг/мкл, соотношение A260/A230 указывало на возможное присутствие загрязнений полифенолами. В связи с этим, изучено воздействие 1% PVP на лизирующий буфер с целью улучшения чистоты ДНК. Также, проведена двойная экстракция хлороформом, после которой все образцы ДНК были выделены успешно.

Таким образом, оптимизирован эффективный метод выделения ДНК из гербарных растений. Использование лизирующего буфера СТАВ с добавлением 2% цетилтриметиламмония бромида, 20 мМ ЭДТА, 100 мМ Трис-НСl, 1,4 мМ NaCl и 1% PVP позволило получить высококачественную ДНК из сложных образцов. Двойная очистка хлороформом позволила устранить белковые загрязнения ДНК без применения токсичного β-меркаптоэтанола.

Научное исследование проводится в рамках программы BR18574125 «Изучение современного состояния видового разнообразия сосудистых растений Казахстана с использованием современных методов ботаники, молекулярной генетики и биоинформатики» при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.