

*Уркумбаева Сауле Курмангалиевна*

студентка

*Петрякова Юлия Александровна*

студентка

*Жукова Юлия Дмитриевна*

младший научный сотрудник

ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет»

г. Астрахань, Астраханская область

## **ПОДБОР ИНФОРМАТИВНЫХ ПРАЙМЕРОВ И ОПТИМАЛЬНЫХ УСЛОВИЙ ПЦР ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ISSR- И ПДРФ-АНАЛИЗА ГЕНОМНОЙ ДНК ЛОТОСА ОРЕХОНОСНОГО**

*Аннотация:* в статье описывается процесс изучения полиморфизма генома лотоса орехоносного с помощью ПЦР. По результатам исследований были подобраны маркеры, реакционная смесь и температурный режим для оптимального проведения ПЦР.

*Ключевые слова:* лотос орехоносный, ПЦР, случайные праймеры, конституционные праймеры, спектр поглощения.

Сохранение биологического разнообразия занимает особое место среди современных глобальных проблем. На территории Астраханской области существуют порядка трехсот видов растений и животных, находящиеся под угрозой исчезновения [3]. Одним из таких видов считается лотос орехоносный. Лотос орехоносный (*Nelumbo nucifera*) является реликтовым растением Астраханской области [2]. Еще с 70-х годов прошлого столетия занесен в Красную Книгу.

В связи с этим, целью представленной работы стало изучение молекулярно-генетического полиморфизма генома лотоса орехоносного (*Nelumbo nucifera*) с помощью полимеразной цепной реакции со случайными и конституционными праймерами [1].

Чистота выделения ДНК оценивалась по показателям спектрофотометра DU-800 (Учебный корпус АГУ №4 с. Начало). Оценка чистоты выделения ДНК

из лотоса орехоносного осуществлялась исходя из двух основных принципов: физиологического состояния листовой пластинки (свежий или замороженный) и методики выделения (коммерческий набор и СТАВ метод).

Таблица 1

Показатели спектрофотометра DU 800 (метод СТАВ)

| Sample ID  | Abs @ 260,0 nm | Abs @ 280,nm | Bkg@ 320,nm | Ratio 260/280 | Ratio 280/260 | Protein ug/ml | Nuc Acid ug /ml |
|------------|----------------|--------------|-------------|---------------|---------------|---------------|-----------------|
| Sample 1-1 | 0,1737         | 0,1343       | 0,0916      | 1,9243        | 0,5197        | 4,0411        | 3,6275          |
| Sample 1-2 | -0,3000        | -0,3000      | -0,3000     | 0,0000        | 0,0000        | 0,0000        | 0,0000          |
| Sample 2-1 | 0,2486         | 0,2071       | 0,1337      | 0,5656        | 0,6387        | 26,8991       | 4,5863          |
| Sample 2-2 | -0,3000        | -0,3000      | -0,3000     | 0,0000        | 0,0000        | 0,0000        | 0,0000          |

Чтобы определить чистоту выделения необходимо установить соотношение адсорбции 260 nm (длина волны свойственная для нуклеиновых кислот) к 280 nm (длина волны специфичная белкам).

Таблица 2

Оценка чистоты выделения ДНК СТАВ методом

| № пробы | Соотношение 260/280 |
|---------|---------------------|
| 1-1     | 1,3                 |
| 2-1     | 1,2                 |

Итак, проба №1 имеет спектр поглощения почти 0,027, а проба №2-0,018 (мкг/мл)-1см-1. Судя по этим данным: проба №1-одноцепочечная ДНК, а проба №2 -загрязнена иными органическими соединениями и не имеет в своем составе нуклеиновой кислоты.

Подбор праймеров осуществлялся на основе литературных данных.

При использовании RAPD – и ISSR – маркеров, полиморфных между различными популяциями лотоса, было проведено исследование RAPD и ISSR -методом ДНК трех популяций лотоса орехоносного с использованием 23 праймеров. Были получены полиморфные RAPD и ISSR -фрагменты, которые могут

быть использованы в дальнейшем для фило-генетической паспортизации данных генотипов.

В результате работы проведен подбор ISSR и RAPD-маркеров на основании консервативных и лабильных генетических последовательностей лотоса орехоносного, а также экспериментальным путем подобрана реакционная смесь и температурный режим для оптимального и эффективного проведения ПЦР ISSR- и RAPD-анализа, что немаловажно в проведении данных исследований.

### *Список литературы*

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. – М.: ИКЦ «Академ-книга», 2003. – 431 с.
2. Пилипенко В.Н. Красная книга Астраханской области / В.Н. Пилипенко, М.В. Лозовская, В.И. Закутнова, А.П. Лактионов, Ю.С. Чуйков [и др.]. – Астрахань: Астраханский государственный университет, Астраханский университет, 2014. – с. 413.
3. Супрун И.И. Апробация микросателитных ДНК-маркеров для идентификации клоновых форм сортовой яблони / И.И. Супрун, С.Н. Артюх, С.В. Токмаков, И.В. Степанов // КубГАУ. – 2012. – №84. – С. 48–57.