

Проверка качества ДНК, выделенной из различных тканей

Брыкова Анастасия Леонидовна

Приамурский государственный университет им. Шолом-Алейхема

студент

Аннотация

В статье приведен анализ качества ДНК выделенной из разных типов тканей методом горизонтального электрофореза в агарозном геле, а также рассмотрены особенности используемых тканей.

Ключевые слова: анализ ДНК, метод гель-электрофореза, агарозный гель, ткани.

Checking the quality of DNA isolated from various tissues

Brykova Anastasia Leonidovna

Sholom-Aleichem Priamursky State University

Student

Abstract

Presents the analysis of the quality of DNA isolated from different types of tissues by the method of horizontal electrophoresis in agarose gel, and also considered the features of the tissues used are viewed in the article.

Keywords: DNA analysis, gel-electrophoresis method, agarose gel, tissue.

Введение

Анализ ДНК получил широкое распространение в разных областях науки, например, в криминалистике, медицине, юриспруденции, генной инженерии, в исследовании биоразнообразия, в экологических и эволюционных исследованиях. Исследование нуклеиновых кислот проводится для многих целей, таких как поиск преступника, установление родства, диагностика заболеваний, геномная селекция, анализ биоразнообразия и экологической обстановки. Следовательно, требования к качеству и количеству ДНК, содержащейся в тканях, будут отличаться. К примеру, для определения родства потребуется провести сбор клеток слизистой внутренней поверхности щеки, а для поимки преступника иногда достаточно генетического материала, содержащегося в потожировых следах, при исследовании биоразнообразия использование этих материалов нецелесообразно, поэтому с натуральных образцов чаще всего отбираются мышечные, хрящевые или ткани печени.

На сегодняшний день эколого-генетические исследования получили широкое распространение. Все чаще в этих исследованиях используется анализ ДНК. В статье И.М. Головачевой, О.Н. Жигилевой рассматриваются

особенности изучения генетического материала соболей [2]. В.Ю. Башмаков, С.А. Солодских, А.В. Паневина, М.Л. Шматкова, В.Н. Попов подробно описывают способы получения качественной ДНК из печени крыс и методы ее проверки [3].

Цель исследования: подбор ткани, наиболее подходящей для исследований в области экологической генетики, при помощи метода геле-электрофореза.

Для анализа использовались образцы тканей полевой мыши (*Apodemus agrarius*) 2017 года сбора такие, как: мышечная (м), ткани печени (п) и семенников (с), хрящевая ткань ушей (у). Ткани хранились в этаноле при температуре -20°C . Для контроля взята ДНК фага λ концентрацией 10 и 30 нг/мкл (рис.1).

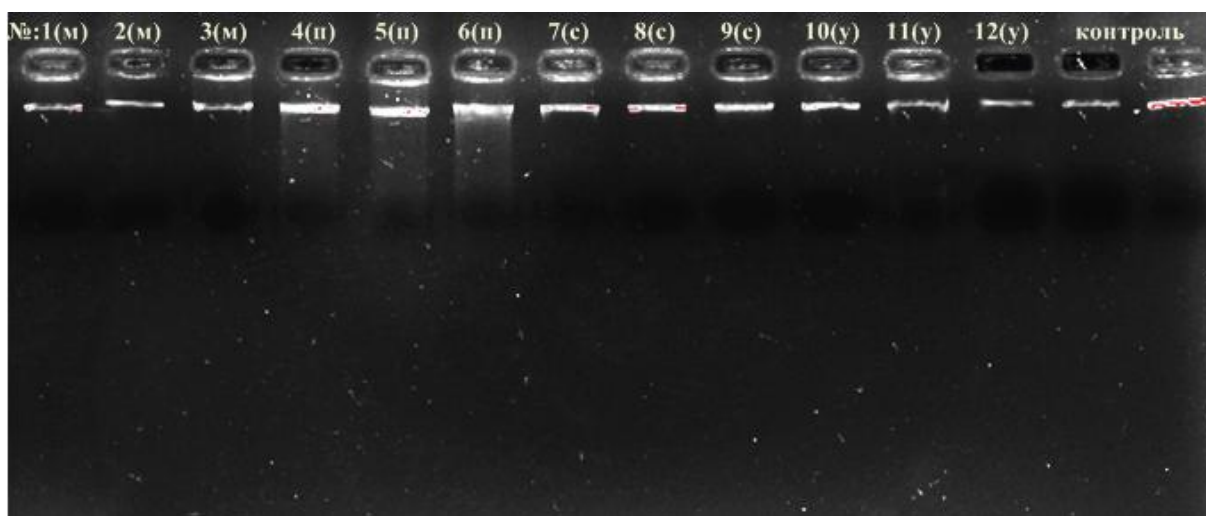


Рис.1. Фотография результатов электрофореза ДНК в УФ-излучении

На фотографии видно, что все образцы содержат ДНК в количестве достаточном для дальнейших исследований, что свидетельствует о корректном сборе и хранении тканей. Однако по степени яркости полос можно судить о том, что концентрация ДНК в разных тканях отличается (табл.1).

Таблица 1 - Концентрация экстрагированной ДНК

№ образца	Ткань	Концентрация, (нг/мкл)
1	Мышцы	<10
2		<10
3		<10
4	Печень	<30
5		<30
6		<30
7	Семенники	≈20
8		20
9		20

10	Ушной хрящ	≈20
11		≈10
12		>10

На фотографии видно, что наибольшую концентрацию ДНК имеют ткани печени, что соответствует научным источникам [1]. Однако линии на фотографии не четкие, размазаны в направлении анода. Светлая градиентная область является разложившейся ДНК (т.е. крупная молекула распалась на короткие фрагменты). Это связано с тем, что под действием ферментов печени, нуклеиновые кислоты со временем при хранении разрушаются. Такие образцы подходят не для всех видов исследований, так как отсутствует возможность полного анализа молекулы [3]. Однако, данные образцы подойдут для анализа микросателлитов (небольших отдельных участков ДНК – локусов), активно используемого в исследовании биоразнообразия и экологической генетике [2].

Ткани семенников также содержат большое количество ДНК, даже после нескольких лет хранения. Немного уступает им по содержанию нуклеиновых кислот мышечная ткань. Данные образцы можно использовать как для экологических исследований, так и для более детального анализа.

В данном случае, ДНК экстрагированная из хрящевой ткани ушей полевых мышей (образцы № 10-12), показала наименьшую концентрацию. Возможно необходимо скорректировать протокол выделения ДНК, т.к. хрящ наиболее плотная ткань, нежели мышцы, семенники и печень. Есть необходимость в продлении гомогенизации хрящевой ткани на термошейкере.

Далее рассмотрен анализ ткани печени и мышц соболя (*Martes zibellina*) 2018 года сбора (рис.2).

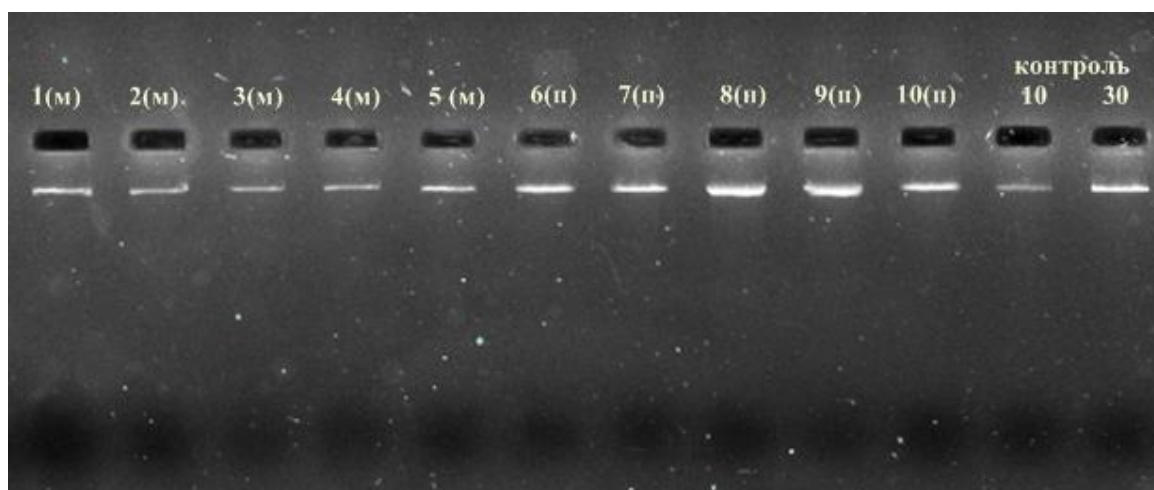


Рис.2. Фотография результатов электрофореза ДНК в УФ-излучении тканей печени (п) и мышц (м) 2018 года сбора

На фотографии видно, что из тканей печени (п) получено наибольшее количество ДНК (<30 нг/мкл). Так как ткани хранились непродолжительное

время, градиента разложения нуклеиновых кислот не наблюдается, что нельзя сказать о тканях 2014 года сбора (рис.3).

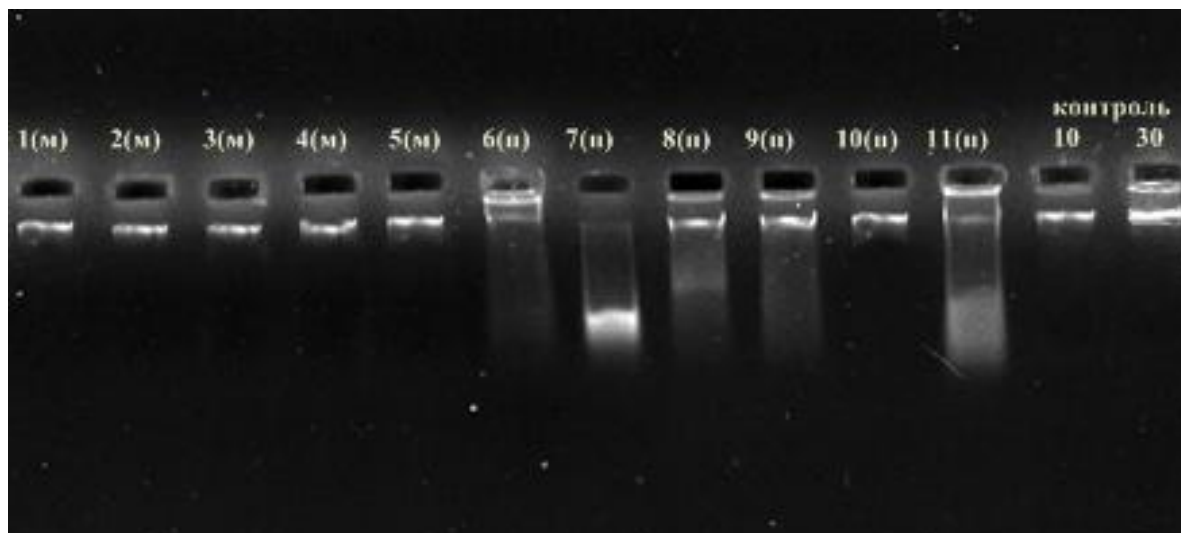


Рис.3. Фотография результатов электрофореза ДНК в УФ-излучении тканей печени (п) и мышц (м) 2014 года сбора

Нуклеиновые кислоты в образцах печени под номерами 8, 9 за время хранения сильно разложились, существует риск того, что анализ отдельных локусов может не дать результатов. Образцы 6, 7, 11 не пригодны для дальнейших исследований. Только образец ДНК №10 целесообразно использовать для фрагментного анализа.

ДНК выделенная из мышечных тканей (м) 2014 и 2018 года сбора составляет ≈ 10 нг/мкл, разложения не наблюдается. Образцы подходят как для микросателитного анализа, так и для более подробных исследований.

Все ткани, использованные в исследовании, имеют свои преимущества и недостатки. С целью экономии времени и используемых реактивов, эффективнее всего выделять ДНК из мышц, семенников и печени (при условии непродолжительного хранения). Хрящевые ткани также подходят для анализа, но есть необходимость корректировки протокола выделения нуклеиновых кислот. Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод о том, что для эколого-генетических исследований подойдут все перечисленные виды тканей, при условии корректного сбора и хранения.

Библиографический список

1. Корниенко И.В., Водолажский Д.И., Вейко В.П., Щербаков В.В., Иванов П.Л. Подготовка биологического материала для молекулярно-генетических идентификационных исследований при массовом поступлении неопознанных тел. Ростиздат, 2001. 256 с.
2. Головачева И.М., Жигилева О.Н. Генетические особенности соболя на территории западной Сибири по данным биохимических и ДНК-маркеров // Современное естествознание и охрана окружающей среды Труды

Международной молодежной конференции. 2013. С. 17-18.

3. Башмаков В.Ю., Солодских С.А., Паневина А.В., Шматкова М.Л., Попов В.Н. Оптимизация изоляции ДНК из тканей печени крысы с использованием техники, основанной на сорбции нуклеиновых кислот // Сорбционные и хроматографические процессы. 2012. Т. 12. № 5. С. 764-769.