

Модификация протокола выделения ДНК из контурных перьев птиц

Научный руководитель – Авилова Ксения Всеволодовна

Рулёва Ольга Сергеевна

Студент (бакалавр)

Российский государственный аграрный университет МСХА имени К.А. Тимирязева,
Зоотехнии и биологии, Зоологии, Москва, Россия

E-mail: rulevaolga72@gmail.com

Выделение ДНК из перьев птиц имеет высокую актуальность в современных исследованиях в таких сферах как, например, эволюционная биология, генетика, филогения и идентификация организмов. Перья представляют собой уникальный источник ДНК, который гораздо проще собрать, чем другие ткани. Кроме того, при его сборе нет необходимости наносить урон животному. Стоит отметить, что методика выделения ДНК из других источников уже хорошо изучена и не требует модификаций, в отличие от техники выделения ДНК из перьев, которая реже применяется в современных исследованиях.

Мы следовали технике из статьи [1], внося ряд изменений.

Методика выделения ДНК по нашему протоколу имеет следующие стадии:

1) Замачивание отрезанного кончика пера в течение 30 мин. вначале в пробирке с семидесятипроцентным этанолом, затем в пробирке с дистиллированной водой. Измельчение пера стерильными ножницами.

2) Инкубирование в термостате при температуре 55°C в растворе для лизиса (1X TNE, Proteinase K, SDS (25%), DTT). В изначальном протоколе рекомендовалось инкубировать 3-4 дня, но, по нашим наблюдениям, более качественный лизис происходил спустя неделю.

3) Осаждение белков с помощью ацетата аммония, замораживание в морозильной камере 30 мин. и центрифугирование (4°C) при 14000 об./мин на протяжении 30 мин.

4) Добавление в пробирку с изопропанолом (100%) супернатанта и 1 мкл гликогена. Инвентирование (переворачивание) пробы и замораживание в морозильной камере на неделю (в изначальном протоколе – на ночь).

5) Центрифугирование (4°C) при 14000 об./мин, сбор супернатанта, добавление этанола (70%), центрифугирование 2 мин., выливание и высушивание остатка этанола.

6) Добавление TE для регидрации, встряхивание пробирки.

В полученных данным методом пробах средняя концентрация ДНК составила 651,72 нг/мкл, диапазон варьирует от 8,2 нг/мкл до 1467 нг/мкл. Средняя концентрация ДНК, полученной по нашей методике, оказалась в 24 раза выше, чем в статье [1] (27,3 нг/мкл). С помощью данного модифицированного протокола можно получить ДНК достаточно высокой концентрации и достаточно хорошего качества, пригодную для амплификации микросателлитных локусов, используемых в популяционно-генетических исследованиях.

Источники и литература

- 1) De Volo S.B., Reynolds R.T., Douglas M.R., Antolin M.F. An improved extraction method to increase DNA yield from molted feathers // The Condor. 2008. Vol. 110. No. 4. P. 762–767.