



DOI 10.21178/2079–6080.2021.4.4
УДК 630.165

Апробация MS-ISSR-метода для оценки профилей метилирования ДНК ели европейской в зоне антропогенного загрязнения

© А.Б. Пекедова¹, Г.В. Калько²

Approbation of the MS-ISSR method for assessing the DNA methylation profiles of Norway spruce
A.B. Pekedova, G.V. Kalko (Saint Petersburg State Forest Technical University; Saint Petersburg Forestry Research Institute)

The article is devoted to the approbation of the MS-ISSR (methylation-sensitive inter simple sequence repeats) method for determining variations in the DNA methylation profiles of Norway spruce trees growing at 5 km from the metallurgical enterprise LLC Orion-Spetsplav-Gatchina, located in the city of Gatchina and in background planting of the Leningrad region. Earlier, the content of the metals Mn, Zn, Cu, Fe, Pb, Cr, Ni, Cd and sulfur was determined in the needles of the spruce trees used to test the method. The aim of the work was to determine the possibility of using the MS-ISSR method to assess the genetic stability of Norway spruce in the zone of anthropogenic emissions, namely, the stability of DNA methylation profiles. We used DNA isolated from fir needles by a modified method with CTAB. DNA restriction was performed using isoschizomer restriction enzymes Msp I or Hpa II (SibEnzyme, Russia) under conditions recommended by the enzyme manufacturer. The efficiency of using seven ISSR primers was evaluated. The amplification results were detected by electrophoresis in 1.5 % agarose gel in the presence of ethidium bromide. The four primers M 2, M 4, M 9 and M 14 have been shown to be useful in detecting changes in DNA methylation profiles. Primer M 9 showed the highest efficiency in detecting DNA methylation – 75 %, primers M 2 and M 4 had an efficiency of 50 %, primer M 14 – 25 %. It was concluded that the use of the MS-ISSR method is promising for the analysis of DNA methylation profiles of Norway spruce.

Keywords: Norway spruce, DNA methylation profiles, restriction, Msp I, Hpa II, ISSR

Апробация MS-ISSR-метода для оценки профилей метилирования ДНК ели европейской в зоне антропогенного загрязнения

А.Б. Пекедова, Г.В. Калько

Статья посвящена апробации MS-ISSR (methylation-sensitive inter simple sequence repeats) метода для определения вариаций в профилях метилирования ДНК деревьев ели европейской, растущих в 5 км от металлургического предприятия ООО «Орион-Спецсплав-Гатчина», расположенного в г. Гатчине и в фоновом насаждении Ленинградской области. Ранее в хвое елей, использованных для тестирования метода, было определено содержание элементов Mn, Zn, Cu, Fe, Pb, Cr, Ni, Cd и S. Целью работы было определение возможности использования метода MS-ISSR для оценки генетической стабильности ели европейской в зоне антропогенных выбросов, а именно стабильности профилей метилирования ДНК. В работе использовали ДНК, выделенную из хвои елей модифицированным методом со СТАВ. Рестрикцию ДНК осуществляли с помощью рестриктаз-изошизомеров Msp I или Hpa II (СибЭнзим, Россия) в условиях, рекомендованных производителем ферментов. Оценена эффективность использования семи ISSR-праймеров. Детекцию результатов амплификации проводили с помощью электрофореза в 1,5 %-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Четыре праймера (M 2, M 4, M 9 и M 14) показали свою пригодность к выявлению изменений профилей метилирования ДНК. Наибольшую эффективность в оценке уровня метилирования ДНК ели показал праймер M 9 – 75 %, праймеры M 2 и M 4 имели эффективность 50 %, праймер M 14 – 25 %. Сделан вывод о перспективности использования метода MS-ISSR для анализа профилей метилирования ДНК ели европейской.

Ключевые слова: ель европейская, рестрикция, Msp I, Hpa II, ISSR, профили метилирования ДНК

Пекедова Анастасия Борисовна – студент Санкт-Петербургского государственного лесотехнического университета им. С.М. Кирова

Калько Галина Валентиновна – заведующий исследовательской лабораторией

E-mail: gkalko@spb-niilh.ru; kagava0720@gmail.com

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова»

194021, Санкт-Петербург, Институтский пер., 5

Телефон: +7 (812) 670-92-46

²ФБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства»

194021, Санкт-Петербург, Институтский пр., 21

Телефон: (812) 552-80-21

Факс: (812) 552-80-42