

Усавршавање протокола за изолацију ДНК високе молекуларне масе из кичице (*Centaureum erythraea*)

Ана Симоновић¹, Биљана Филиповић¹, Тијана Бањанац¹, Милан Којић², Катарина Ћуковић¹, Ангелина Суботић¹

¹Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Одељење за физиологију биљака, Београд, Србија, ana.simonovic@ibiss.bg.ac.rs

²Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, Лабораторија за молекуларну микробиологију, Београд, Србија

Биљка кичица (*Centaureum erythraea*) је интересантна не само због својих лековитих својстава, већ и због изузетне развојне пластичности и регенеративне способности у *in vitro* култури. Како би идентификовали гене укључене у морфогенетске процесе, секундарни метаболизам и одговоре на стрес, поред секвенцираних транскриптома¹ је потребан и секвенциран геном. За секвенцирање генома најмодернијом *PacBio* технологијом, неопходна је веома чиста високомолекуларна ДНК, чијих 90% чине ланци > 20 kb. ДНК је изолована из младих листова диплоидног варијетета кичице гајене *in vitro*, коришћењем четири различита протокола: (1) Quick-DNA HMW MagBead Kit (Zymo Research, #D6060); (2) модификовани ЦТАБ протокол;² (3) протокол за изолацију бактеријске ДНК прилагођен биљним ткивима и (4) измењен протокол за изолацију РНК из бора.³ Квалитет ДНК изолата је провераван спектрофотометријски Nano Drop апаратом, обичном електрофорезом, пулсном електрофорезом и Фемто Пулсном анализом. Протокол (1) даје веома ниске приносе, било кад се користи самостално или као вид пречишћавања ДНК изоловане на други начин. Протоколом (3) се добија висок принос ДНК незадовољавајућег квалитета. Најквалитетнију ДНК у количинама довољним за секвенцирање су дали протоколи (2) и (4).

1. Ćuković, K., Dragičević, M., Bogdanović, M., *et al.*, 2020, *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 141:417-433.
2. Murray, M.G., Thompson, W.F., 1980, *Nucleic Acids Res.* 8:4321-4325.
3. Chang, S., Puryear, J., Cairney, J., 1993, *Plant Mol. Biol. Rep.* 11:113-116.

Захвалница: Овај рад је финансиран од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, Уговор бр. 451-03-68/2022-14/200007.