МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ

РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФГБОУ ВО (до февраля 2016 года ВПО) «БУРЯТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

 ФАКУЛЬТЕТ \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

КАФЕДРА \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**ОТЧЕТ**

**О прохождении практики по получению профессиональных умений и опыта профессиональной деятельности**

обучающегося \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ курса

(ФИО)

\_\_\_\_\_\_очной\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_формы обучения \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_группы

 (очная/заочная) (номер группы)

 направления подготовки 06.06.01 Биологические науки

 (код направления подготовки)

 Место прохождения практики\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Срок практики с «\_\_\_» \_\_\_\_\_\_\_\_\_20 г. по «\_\_»\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 20 г.

Практикант:

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(ФИО, подпись)

Согласовано:

Руководитель практики от Университета

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

(ФИО, должность, подпись)

М.П.

**1. Введение**

Целью данной практики являлось освоение методик выделения ДНК из чистых культур и природных образцов.

Объектами исследования послужили образцы каштановых почв, взятые согласно генетическим горизонтам.

В ходе данного этапа практики по получению профессиональных навыков и опыта профессиональной деятельности были поставлены следующие задачи:

**ЗДЕСЬ ЗАПИСЫВАЕМ ИЗ ДНЕВНИКА ИНДИВИДУАЛЬНОЕ ЗАДАНИЕ НА ПРАКТИКУ**

- освоение методики выделения ДНК из чистых культур бактерий;

- освоение метода выделения ДНК из природных образцов (почва).

**2. Основная часть.**

 ***2.1. Освоение методики выделения ДНК из чистых культур бактерий.***

1. Брали петлю суточной культуры бактерии с косого агара и переносили в пробирку эппендорф.

2. Добавляли 30 мкл ТЕ-буфера.

3. Варили при 96°С 3-5 минут.

4. Центрифугировали при 12 тыс.об.; при этом ДНК оставалась в растворе, который переносили в чистый эппендорф и хранили при -20°С.

 ***2.2. Освоение метода выделения ДНК из природных образцов (почва).***

Для выделения ДНК из каштановой почвы пользовались коммерческим набором FastDNATM SPIN Kit for Soil.

Выделение ДНК состояло из следующих шагов (протокол выделения):

1. Почвенную пробу (около 0,5 г) помещали в специальные пробирки Lysing Matrix E tube.
2. К пробе добавляли 978 мкл Sodium Phosphate Buffer и вортексовали 10-15 сек.
3. Добавляли 122 мкл МТ Buffer и вортексовали 10-15 сек.
4. Гомогенизировали полученную массу механически с помощью пестиков около 10 мин.
5. Центрифугировали 5-10 минут на 14 тыс.об.
6. Переносили полученный супернатант в чистую 2 мл микроцентрифужную пробирку. Добавляли к нему 250 мкл PPS (Protein Precipitation Solution), аккуратно перемешивали содержимое пробирки в руках (не на вортексе) 10 раз и инкубировали 10 минут при комнатной температуре.
7. Центрифугировали 5 мин. при 14 тыс.об. Далее переносили супернатант (600-800мкл) в 2 мл. микроцентрифужную пробирку. Добавляли к супернатанту эквивалентный объем Binding Matrix. Перемешивали получившуюся массу в руках 3-5 мин.
8. Пипеттировали раствор несколько раз и переносили 800 мкл в SPINTM Filter Tube – центрифугировали 5 мин при 14тыс.об., при этом ДНК оставалась на фильтре. Фугат сливали и повторяли операцию с оставшимся объемом раствора: осаждали ДНК при помощи центрифугирования на тот же самый фильтр.
9. Добавляли 500 мкл SEWS-M в SPINTM Filter Tube.Легким постукиванием сбивали осажденную ДНК со стенок и перемещивали с добавленным раствором.
10. Центрифугировали 5 мин при 14 тыс.об., сливали фугат и снова центрифугировали для избавления от остаточного этанола.
11. Переносили фильтр в чистую 2 мл. catch tube. Сушили фильтр на воздухе 5 мин при комнатной температуре.
12. Добавляли 100 мкл DES и легким постукиванием сбивали осажденную ДНК со стенок и перемещивали с добавленным раствором. Инкубировали 5 мин при 55ºС.
13. Центрифугировали 2 мин при 14 тыс.об., при этом ДНК смывалась с фильтра. Полученную ДНК хранили при - 20ºС.

Перед замораживанием определяли концентрацию выделенной ДНК на NanoDrop 2000/2000c:

1. Включаем NanoDrop и компьютер

2. Промываем деионизированной водой и протираем салфеткой

3. Запускаем программу «NanoDrop 2000»→NucleicAcid→OK

4. Капаем 1 мкл жидкости в которой растворена ДНК→Blank (устанавливаем нулевую точку)

5. Даем название образцу→капаем образец и закрываем NanoDrop→Measure. Появляются данные по концентрации ДНК и стпени ее загрязненности.

6. Report→Export (в Exell)

 **3. Выводы**

 В ходе данного этапа практики по получению профессиональных навыков и опыта профессиональной деятельности:

- выделена ДНК из чистой культуры протеолитической бактерии;

- выделена ДНК из образца каштановой почвы с помощью коммерческого набора FastDNATM SPIN Kit for Soil.

 **4. Список использованной литературы**

1. Lombard N. Soil-specific limitations for access and analysis of soil microbial communities by metagenomics / N. Lombard, E. Prestat, J. D. van Elsas & P. Simonet / FEMS Microbiology Ecology : Ecology and metagenomics of soil microorganisms. – 2011. – Volume 78. – Issue 1. – P. 31-49
2. Rousk J. Growth of saprotrophic fungi and bacteria in soil / J. Rousk, E. Baath // FEMS Microbiology Ecology : Ecology and metagenomics of soil microorganisms. – 2011. – Volume 78. – Issue 1. – P. 17–30.
3. Белькова Н.Л. Введение в молекулярную экологию микроорганизмов: учебно-методическое пособие / Н.Л. Белькова, А.М. Андреева. – Ярославль: Изд-во ООО «Принтхаус», 2009. – 91с.
4. Брюханов А.Л. Молекулярная биология: Учебник для вузов / А.Л. Брюханов, К.В. Рыбак, А.И. Нетрусов. – М.: Изд-во МГУ, 2012. – 480с.
5. Добровольский Г. В. Роль почвы в формировании и сохранении биологического биоразнообразия / Г. В. Добровольский, И. Ю. Чернов. – Москва : Товарищество научных изданий КМК, 2011. – 273 с.

6. Егорова Д.В. Влияние экологических условий на разнообразие микробных сообществ солоноватых озер Забайкалья / Д.В. Егорова: диссер. на соискание уч. ст. канд. биол. наук. – Улан-Удэ, 2013. – 146 с.