



ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 577.29

doi: 10.17308/sorpchrom.2022.22/10896

Оптимизация метода выделения нуклеиновых кислот из кефира с помощью сорбента на основе диоксида кремния

Екатерина Юрьевна Нестерова^{1,2}, Мария Ивановна Гладких^{1,2},
Михаил Юрьевич Сыромятников^{1,2}✉, Василий Николаевич Попов^{1,2}

¹Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия,
mihan.vrn@mail.ru✉

²Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

Аннотация. Методы выделения нуклеиновых кислот, основанные на использовании сорбционных носителей, являются самыми распространенными. Общий принцип методов твердофазной экстракции основывается на использовании силики, чьи уникальные свойства обеспечивают селективное связывание ДНК и РНК. Цель работы заключалась в проведении анализа качества выделительных систем на основе сорбции с применением гуанидин тиоционата различной концентрации и 4 типов детергентов в составе лизирующего раствора при экстракции нуклеиновых кислот из кефира, как пищевого кисломолочного продукта, содержащего бактериальные и грибковые клетки.

В качестве объекта исследования был использован коммерчески доступный кисломолочный продукт «Кефир» с содержанием бактерий не менее 10^7 КОЕ/г и дрожжей не менее 10^4 КОЕ/г. Для выделения ДНК использовали 99% силику (Sigma-Aldrich, США). В рамках эксперимента рассматривались 3 варианта концентраций гуанидин тиоционата – 3.5 М, 5 М и 6.5 М, а также 4 варианта детергентов – 1% Triton X-100, 1% Tween 20, 1% Tween 80 и 1% СТАВ. Таким образом, экстракция ДНК осуществлялась 12 различными вариантами. ДНК, полученную после экстракции, визуализировали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Концентрацию ДНК измеряли с помощью флуориметра Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США). Полимеразная цепная реакция проводилась с использованием Taq-полимеразы на приборе CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, США). Статистическая обработка данных проводилась с использованием дисперсионного анализа ANOVA в программе STATISTICA.

При проведении электрофореза в агарозном геле было установлено, что использование концентраций гуанидин тиоционата 5 М и 6.5 М способствовало получению более выраженных полос рРНК на электрофореграмме в случае применения Tween 80, а при использовании Tween 20 оптимальная концентрация гуанидин тиоционата для экстракции ДНК составила 5 М.

Анализ влияния детергентов на качество выделения ДНК показал, что минимальная концентрация экстрагированной ДНК была получена в результате использования СТАВ и составляла 1.03 нг/мкл. Применение в качестве детергента Triton X-100 позволило получить концентрацию ДНК в 5.9 раз выше, чем с помощью детергента СТАВ ($p < 0.001$). Значения, полученные в результате экстракции с использованием Tween 80 и Tween 20, превышали значения концентраций при использовании СТАВ в 3.1 и 3.9 раза соответственно ($p < 0.05$).

Проведение Real-Time PCR для оценки параметра порогового цикла (C_t) показало, что полученные значения C_t с праймерами ITS1 и ITS4 во всех вариантах экстракции ДНК не позволяют оценить качество выделения нуклеиновых кислот из грибов. Анализ C_t с праймерами 337F и 1100R позволяет предположить, что оптимальным значением концентрации гуанидин тиоционата является 5 М (среднее значение C_t по всем детергентам составляло 25.0).

По результатам эксперимента было установлено, что при выделении нуклеиновых кислот из кефира необходимо использовать гуанидин тиоционат в концентрации 5 М или 6,5 М. Концентрация выделенной ДНК была выше при использовании Triton X-100 и Tween 20 в качестве детергента. Использование Tween 20 или Tween 80 в качестве детергентов значительно повышало фракцию РНК в препарате нуклеиновых кислот.

Ключевые слова: выделение ДНК, детергент, гуанидин тиоционат, Real-Time PCR.

Благодарности: работа поддержана грантом Российского научного фонда (проект 21-74-00065).



Для цитирования: Нестерова Е.Ю., Гладких М.И., Сыромятников М.Ю., Попов В.Н. Оптимизация метода выделения нуклеиновых кислот из кефира с помощью сорбента на основе диоксида кремния // Сорбционные и хроматографические процессы. 2022. Т. 22, № 6. С. 893-900. <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/10896>

Original article

Optimising the method of isolating nucleic acids from kefir using a silica-based sorbent

Ekaterina Yu. Nesterova^{1,2}, Maria I. Gladkikh^{1,2},
Mikhail Yu. Syromyatnikov^{1,2}✉, Vasily N. Popov^{1,2}

¹Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russian Federation, mihan.vrn@mail.ru✉

²Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

Abstract. The most common methods of nucleic acid isolation are those using sorption carriers. The general principle of the methods for solid-phase extraction is based on the use of silica whose unique properties provide for selective DNA and RNA binding. The purpose of the work was to analyse the quality of sorption-based extraction systems using guanidine thiocyanate of various concentrations and 4 types of detergents in the lysis solution when extracting nucleic acids from kefir as a fermented dairy food product containing bacterial and fungal cells.

For the study, we used a commercially available fermented dairy food product “Kefir” with the bacteria content of at least 10^7 CFU/g and yeast content of at least 10^4 CFU/g. 99% silica (Sigma-Aldrich, USA) was used to isolate DNA. The experiment considered 3 variants of guanidine thiocyanate concentrations: 3.5 M, 5 M, and 6.5 M, as well as 4 variants of detergents: 1% Triton X-100, 1% Tween 20, 1% Tween 80, and 1% CTAB. Thus, DNA extraction was carried out in 12 different variants.

DNA obtained after extraction was visualised by electrophoresis in 2% agarose gel. The DNA concentration was measured using a Qubit 4 fluorometer (Thermo Fisher Scientific, USA). The polymerase chain reaction was performed using Taq polymerase on the CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, USA). Statistical data processing was carried out using ANOVA dispersion analysis in the Statistica software.

Electrophoresis in agarose gel showed that using 5 M and 6.5 M concentrations of guanidine thiocyanate contributed to obtaining more pronounced rRNA bands on the electropherogram when using Tween 80, whereas when using Tween 20, the optimal concentration of guanidine thiocyanate for DNA extraction was 5 M.

The analysis of the effect of detergents on the quality of DNA isolation showed that the minimum concentration of extracted DNA was obtained when using CTAB and it was 1.03 ng/μl. Triton X-100 used as a detergent allowed obtaining a DNA concentration 5.9 times higher than with the CTAB detergent ($p < 0.001$). The values obtained from the extraction using Tween 80 and Tween 20 were 3.1 and 3.9 times higher, respectively, than the concentrations when using CTAB ($p < 0.05$). Real-Time PCR conducted to assess the threshold cycle parameter (Ct) showed that the obtained Ct values with ITS1 and ITS4 primers in all variants of DNA extraction do not allow assessing the quality of isolation of nucleic acids from fungi. The analysis of Ct with primers 337F and 1100R suggests that the optimal concentration value for guanidine thionation was 5 M (the average value of Ct for all detergents was 25.0). According to the results of the experiment, it was found that when isolating nucleic acids from kefir, it is necessary to use guanidine thionation at a concentration of 5 M or 6.5 M. The concentration of isolated DNA was higher when using Triton X-100 and Tween 20 as a detergent. The use of Tween 20 or Tween 80 as detergents significantly increased the RNA fraction in the nucleic acid preparation.

Keywords: DNA isolation, detergent, guanidine thiocyanate, Real-Time PCR.

Acknowledgments: this work was supported by Russian Science Foundation (project 21-74-00065)

For citation: Nesterova E.Yu., Gladkikh M.I., Syromyatnikov M.Yu., Popov V.N. Optimising the method of isolating nucleic acids from kefir using a silica-based sorbent. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2022. 22(6): 893-900. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2022.22/10896>

Введение

Выделение нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) является первичным этапом в

прикладных молекулярно-генетических исследованиях [1], методиках идентификации микроорганизмов [2], клонирование [3], а также диагностике [4,5]. При



выборе метода выделения нуклеиновых кислот учитываются такие параметры, как скорость и качество выделения геномной ДНК, которые получают благодаря стандартизации протоколов [6]. Однако следует отметить, что несмотря на то, что методики выделения нуклеиновых кислот из года в год заметно модифицируются и улучшаются, основные параметры, например, применение гуанидин тиоционата и силики (диоксида кремния), остаются неизменными с момента появления данной технологии [7].

Общий принцип методов твердофазной экстракции нуклеиновых кислот основывается на использовании силики, чьи уникальные свойства обеспечивают селективное связывание ДНК. За счет высокой афинности отрицательно заряженного остова ДНК к положительно заряженным силикатным частицам происходит связывание ДНК с неорганическим носителем, с последующими этапами отмывки от примесей и элюцией очищенного продукта [8-11].

Стандартный набор экстракции нуклеиновых кислот с сорбентом состоит из следующих растворов: лизирующий, сорбент, промывочный, элюирующий буфер [12]. Для полного разрушения всех клеточных структур и высвобождения нуклеиновых кислот из биологического материала необходимо выбрать подходящий вариант пробоподготовки [13]. Применение детергентов способствует разрушению клеточной мембраны и ее компартментов [14]. Детергенты являются компонентами лизирующего раствора благодаря своему солибилизирующему (растворяющему) действию [15]. К основным детергентам, используемым в различных исследованиях для разрушения сложной клеточной организации объектов исследования, относят: Triton, Tween, SDS и СТАВ [16-19]. Следует отметить, что при использовании СТАВ необходима обязательная дополнительная очистка экстрагируемой ДНК/РНК

перед постановкой ПЦР за счет присутствия в элюирующем растворе, помимо нуклеиновой кислоты, дополнительных компонентов – полисахаридов [20]. Оптимизации методики экстракции нуклеиновых кислот происходит за счет преодоления специфические проблем выделения, среди которых высокое фоновое загрязнение (гуминовые кислоты, фульвокислоты и полисахариды), низкий выход и чистота ДНК [21].

Цель исследования – сравнительный анализ качества выделительных систем на основе сорбции с применением гуанидин тиоционата различной концентрации и 4 типов детергентов в составе лизирующего раствора при экстракции нуклеиновых кислот из кефира, как пищевого кисломолочного продукта, который содержит в себе как бактериальный, так и грибковые клетки.

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования был использован коммерчески доступный кисломолочный продукт «Кефир» с содержанием бактерий не менее 10^7 КОЕ/г и дрожжей не менее 10^4 КОЕ/г.

Для выделения ДНК и РНК использовали 99% силику (Sigma-Aldrich, США). В основе лизирующего раствора для экстракции нуклеиновых кислот лежали компоненты (гуанидин тиоционат, Tris-HCl, ЭДТА и детергент), описанные ранее [22]. В рамках эксперимента рассматривались 3 варианта концентраций гуанидин тиоционата – 3.5 М, 5 М и 6.5 М, а также 4 варианта детергентов – 1% Triton X-100, 1% Tween 20, 1% Tween 80 и 1% СТАВ. Таким образом, экстракция нуклеиновых кислот осуществлялась 12 различными вариантами. ДНК, полученную после экстракции, визуализировали с помощью электрофореза в 2% агарозном геле. Концентрацию ДНК измеряли с помощью флуориметра Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США). Измерение на приборе осуществлялось в соответствии

с инструкцией производителя с использованием специализированных тонкостенных пробирок объемом 0.5 см³.

Полимеразная цепная реакция проводилась с использованием Taq-полимеразы на приборе CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, США). Смешивали в пробирке следующие компоненты: 5X реакционная смесь qPCRmix-HS SYBR (Евроген, Россия) – 5 мкл; 5 мкМ прямой праймер – 1 мкл; 5 мкМ обратный праймер – 1 мкл; ДНК – 2 мкл; деионизованная вода – до 25 мкл. Использовали следующий температурный цикл: 95°C 5 мин, 38 циклов: 95°C 15 сек 54°C 30 сек, 72°C 30 сек. В качестве праймеров использовали следующие: для амплификации ДНК грибов –

Статистическая обработка данных проводилась с использованием дисперсионного анализа ANOVA в программе STATISTICA.

Обсуждение результатов

На рисунках 1 и 2 представлены результаты электрофореза образцов, полученных в результате экстракции на основе использования буферов с различной концентрацией гуанидин тиоционата и 4 видов детергентов. При проведении электрофореза в агарозном геле было установлено, что использование Tween 80 и Tween 20 в качестве детергентов в лизирующем растворе обеспечивают эффективную экстракцию РНК, в отличие от та-

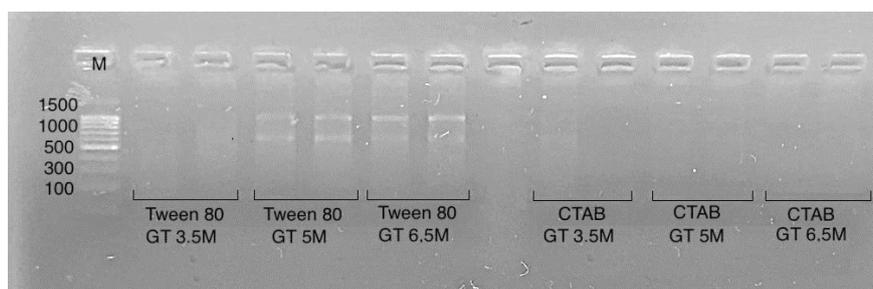


Рис. 1. Электрофореграмма нуклеиновых кислот, полученных в результате экстракции с использованием детергентов Tween 80 и СТАВ. М – маркер известной длины. GT – гуанидин тиоционат

Fig. 1. Electropherogram of nucleic acids obtained by extraction using Tween 80 and CTAB detergents. (M) a marker of known length. (GT) guanidine thiocyanate

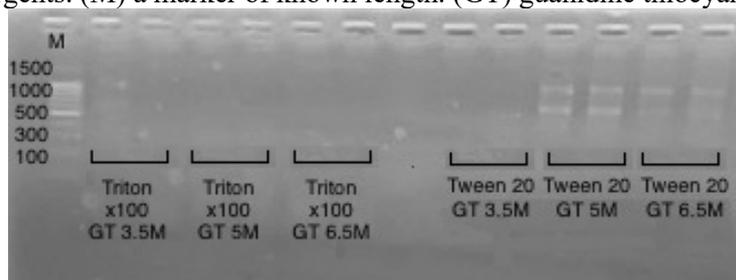


Рис. 2. Электрофореграмма нуклеиновых кислот, полученных в результате экстракции с использованием детергентов Triton X-100 и Tween 20. М – маркер известной длины. GT – гуанидин тиоционат

Fig. 2. Electropherogram of nucleic acids obtained by extraction using Triton X-100 and Tween 20 detergents. (M) a marker of known length. (GT) guanidine thiocyanate

ITS1 TCCGTAGGTGAACCTGCGG, ITS4 TCCTCCGTTATTGATATGC [23]. Для амплификации ДНК бактерий – 337F GACTCCTACGGGAGGCWGCAG, 1100R GGGTTGCGCTCGTTG [24].

ких детергентов, как Triton X-100 и СТАВ. Было показано, что при концентрациях гуанидин тиоционата 5 М и 6.5 М наблюдались более выраженные полосы рРНК на электрофореграмме в случае

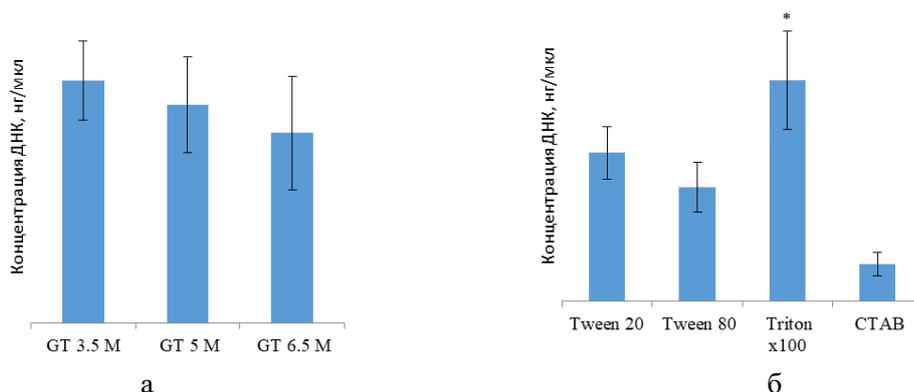


Рис. 3. Диаграммы зависимости концентраций экстрагированной ДНК от молярности гуанидин тиоционата с Tween 80 (а) и детергентов при концентрации гуанидин тиоционата 5 М (б) (различия с Tween 80 и СТАВ статистически достоверны, * $p < 0.05$)

Fig. 3. Diagrams of the dependence of the concentrations of extracted DNA on the molarity of guanidine thiocyanate with Tween 80 (A) and detergents at a concentration of guanidine thiocyanate of 5 M (B) (differences with Tween 80 and CTAB are statistically valid, * $p < 0.05$)

Таблица 1. Средние значения Ct (\pm стандартное отклонение), полученные в результате Real-Time PCR с парами праймеров 337F/1100R и ITS1/ITS4

Table 1. Average Ct (\pm standard deviation) values obtained as a result of Real-Time PCR with 337F/1100R and ITS1/ITS4 primer pairs

Концентрация GT Детергент	3.5 М		5 М		6.5 М	
	337F/ 1100R	ITS1/ ITS4	337F/ 1100R	ITS1/ ITS4	337F/ 1100R	ITS1/ ITS4
Triton X100	20.70 \pm 9.4	36.27 \pm 1.2	24.40 \pm 6.4	32.72 \pm 1.0	32.60 \pm 0.5	34.10 \pm 1.2
Tween 20	19.17 \pm 8.7	35.09 \pm 0.1	26.68 \pm 8.6	35.59 \pm 0.7	18.60 \pm 10.4	34.47 \pm 0.8
Tween 80	15.36 \pm 5.1	34.19 \pm 1.9	24.16 \pm 12.4	34.18 \pm 0.8	31.06 \pm 0.9	33.27 \pm 1.0

применения Tween 80, а при использовании Tween 20 оптимальная концентрация гуанидин тиоционата для экстракции ДНК составила 5 М.

На рисунке 3 представлены полученные при выделении нуклеиновых кислот концентрации ДНК при использовании различных концентраций гуанидин тиоционата с детергентом Tween 80 (А) и 4 типов детергентов при концентрации гуанидин тиоционата 5 М (б).

Было установлено, что различные комбинации концентраций гуанидин тиоционата в буфере не способствовали получению статистически достоверных результатов в изменении концентрации ДНК ($p < 0.05$). Анализ влияние детергентов на качество выделения ДНК показал, что

минимальная концентрация экстрагированной ДНК была получена в результате использования СТАВ и составляла 1.03 нг/мкл. Применение в качестве детергента Triton X-100 позволило получить концентрации в 5.9 раз превышающее предыдущее значение ($p < 0.001$). Значения, полученные в результате экстракции с использованием Tween 80 и Tween 20, превышали значения концентраций при использовании СТАВ в 3.1 и 3.9 раза соответственно ($p < 0.05$).

Далее осуществляли постановку Real-Time PCR для оценки параметра порогового цикла (Ct). В таблице 1 представлены средние значения Ct образцов ДНК с парами праймеров к бактериальной

ДНК (337F/1100R) и грибковой ДНК (ITS1/ITS4).

Значения C_t с праймерами ITS1 и ITS4 во всех вариантах экстракции ДНК варьировало от 32.72 до 37.25, что не позволяет оценить качество выделения нуклеиновых кислот из грибов на основе Real-Time PCR. Анализ значений порогового цикла с праймерами 337F и 1100R позволяет предположить, что оптимальным значением концентрации гуанидин тиоционата является 5 М (среднее значение C_t по всем детергентам составляло 25,0).

Заключение

В рамках эксперимента осуществляли сравнительный анализ качества выделительных систем на основе сорбции на силিকে с применением гуанидин тиоционата различной концентрации и 4 типов

детергентов в составе лизирующего раствора. Концентрация выделенной ДНК была выше при использовании Triton X-100 и Tween 20 в качестве детергента. Использование Tween 20 или Tween 80 в качестве детергентов значительно повышало фракцию РНК в препарате нуклеиновых кислот. Также установлено, что при выделении нуклеиновых кислот из кефира необходимо использовать гуанидин тиоционат в концентрации 5 М или 6.5 М.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

Список литературы/References

1. Cheng H.R., Jiang N. Extremely Rapid Extraction of DNA from Bacteria and Yeasts. *Biotechnol. Lett.* 2006; 28: 55-59. <https://doi.org/10.1007/s10529-005-4688-z>
2. Niemi R.M., Heiskanen I., Wallenius K. et al. Extraction and purification of DNA in rhizosphere soil samples for PCR-DGGE analysis of bacterial consortia. *J. Microbiol. Methods.* 2001; 45: 155-165. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(01\)00253-6](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(01)00253-6)
3. Madhu B., Lakdawala M.F., Gumienny T.L. Small-Scale Extraction of *Caenorhabditis elegans* Genomic DNA. *J. Vis. Exp.* 2022; 184. <https://doi.org/10.3791/63716>
4. Muller F.M., Werner K.E., Kasai M. et al. Rapid extraction of genomic DNA from medically important yeasts and filamentous fungi by highspeed cell disruption. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36: 1625-1629. <https://doi.org/10.1128/JCM.36.6.1625-1629.1998>
5. Paul R., Ostermann E., Wei Q. Advances in point-of-care nucleic acid extrac-

- tion technologies for rapid diagnosis of human and plant diseases. *Biosens. Bioelectron.* 2020; 169: 112592. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112592>
6. Greathouse K.L., Sinha R., Vogtmann E. DNA extraction for human microbiome studies: the issue of standardization. *Genome Biol.* 2019; 20: 212. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1843-8>
 7. Boom R., Sol C.J., Salimans M.M. et al. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.* 1990; 28: 495-503. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.3.495-503.1990>
 8. Cady N.C., Stelick S., Batt C.A. Nucleic acid purification using microfabricated silicon structures. *Biosensors & Bioelectronics.* 2003; 19: 59-66. [https://doi.org/10.1016/s0956-5663\(03\)00123-4](https://doi.org/10.1016/s0956-5663(03)00123-4)
 9. Rimola A., Costa D., Sodupe M. et al. Silica surface features and their role in the adsorption of biomolecules: computational modeling and experiments. *Chemical Reviews.* 2013; 113: 4216-4313. <https://doi.org/10.1021/cr3003054>



10. Zhang Y., Cremer P.S. Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2006; 10: 658-663. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.09.020>
11. Poeckh T., Lopez S., Fuller A.O. et al. Adsorption and elution characteristics of nucleic acids on silica surfaces and their use in designing a miniaturized purification unit. *Analytical Biochemistry*. 2008; 373: 253-262. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2007.10.026>
12. Günal G., Kip Ç., Eda Öğüt S. et al. Comparative DNA isolation behaviours of silica and polymer based sorbents in batch fashion: monodisperse silica microspheres with bimodal pore size distribution as a new sorbent for DNA isolation. *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 2018; 46: 178-184. <https://doi.org/10.1080/21691401.2017.1304404>
13. Chen Y., Guo Z., Wang X. et al. Sample preparation. *J. Chromatogr. A*. 2008; 1184: 191-219. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.026>
14. Campos P.F., Gilbert M.T.P. DNA Extraction from Keratin and Chitin. *Methods Mol. Biol.* 2019; 1963: 57-63. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9176-1_7
15. Linke D. Detergents: an overview. *Methods Enzymol.* 2009; 463: 603-617. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(09\)63034-2](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(09)63034-2)
16. Lõoke M., Kristjuhan K., Kristjuhan A. Extraction of genomic DNA from yeasts for PCR-based applications. *Biotechniques*. 2011; 50: 325-328. <https://doi.org/10.2144/000113672>
17. Barazesh A., Sarkari B., Ebrahimi S. et al. DNA extraction from hydatid cyst protoscolices: Comparison of five different methods. *Vet. World*. 2018; 11: 231-234. <https://doi.org/10.14202/vet-world.2018.231-234>
18. Chen F., Ye J., Chio C. et al. A simplified quick microbial genomic DNA extraction via freeze-thawing cycles. *Mol. Biol. Rep.* 2020; 47: 703-709. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05176-w>
19. Teyssier N.B., Chen A., Duarte E.M. et al. Optimization of whole-genome sequencing of Plasmodium falciparum from low-density dried blood spot samples. *Malaria J.* 2021; 20: 116. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03630-4>
20. Demeke T., Ratnayaka I., Phan A. Effects of DNA Extraction and Purification Methods on Real-Time Quantitative PCR Analysis of Roundup Ready Soybean. *J. AOAC Int.* 2009; 92: 1136-1144. <https://doi.org/10.1093/jaoac/92.4.1136>
21. Kuhn R., Böllmann J., Krahl K. et al. Comparison of ten different DNA extraction procedures with respect to their suitability for environmental samples. *J. Microbiol. Methods*. 2017; 143: 78-86. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.10.007>
22. Boom R., Sol C.J., Salimans M.M. et al. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.* 1990; 28: 495-503. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.3.495-503.1990>
23. White T.J., Bruns T., Lee S. et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics. In: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. New York: Academic Press, 1990, vol. 18, P. 315-322.
24. Techo S., Shiwa Y., Tanaka N. et al. *Enterococcus florum* sp. nov., isolated from a cotton flower (*Gossypium hirsutum* L.) *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2019; 69: 2506-2513. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003524>

Информация об авторах / Information about the authors

Е.Ю. Нестерова – младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий, ВГУИТ, Воронеж. Аспирант кафедры генетики, цитологии и биоинженерии ВГУ, Воронеж, Россия

E.Yu. Nesterova – Junior Researcher, Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology, VSUIT, Voronezh. Post-graduate student of the Department



М.И. Гладких – младший научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий, ВГУИТ, Воронеж, Россия

М.Ю. Сыромятников – ведущий научный сотрудник лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий, Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж. Доцент кафедры генетики, цитологии и биоинженерии ВГУ, Воронеж, Россия

В.Н. Попов – ректор Воронежского государственного университета инженерных технологий, Воронеж. Заведующий кафедрой генетики, цитологии и биоинженерии ВГУ, Воронеж, Россия

of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Russian Federation, e-mail: katya.nesterova.1997@mail.ru

M.I. Gladkikh – Junior Researcher, Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology, VSUIT, Voronezh, Russian Federation, e-mail: mariya221095@yandex.ru

M.Yu. Syromyatnikov – Leading Researcher, Laboratory of Metagenomics and Food Biotechnology, Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh. Associate Professor of the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: mihan.vrn@mail.ru

V.N. Popov – Rector of the Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh. Head of the Department of Genetics, Cytology and Bioengineering, Voronezh State University, Russian Federation, e-mail: pvn@vsuet.ru

Статья поступила в редакцию 18.11.2022; одобрена после рецензирования 19.12.2022; принята к публикации 21.12.2022.

The article was submitted 18.11.2022; approved after reviewing 19.12.2022; accepted for publication 21.12.2022.