

Report summary

<i>Titill / Title</i>	Bestun á undirbúningi og meðhöndlun sjósýna fyrir sameinda-líffræðilegar örverurannsóknir/ Optimization of sample preparation – filtration and DNA extraction – for the analysis of sea water samples		
<i>Höfundar / Authors</i>	<i>Eyjólfur Reynisson, Árni Rafn Rúnarsson, Sveinn Haukur Magnússon, Desiree Seehafer, Viggó Þór Marteinsson</i>		
<i>Skýrsla / Report no.</i>	36-10	<i>Útgáfudagur / Date:</i>	Nóvember 2010
<i>Verknr. / project no.</i>	1698 og 1987	Skýrsla lokuð til 01.12.2011	
<i>Styrktaraðilar / funding:</i>	<i>Verkefnasjóður sjávarútvegsins, Sjávarútvegs- og landbúnaðar-ráðuneyti</i>		
<i>Ágríp á íslensku:</i>	<p>Lítið er vitað um örverur eða fjölbreytileika örverusamfélaga á Íslandsmiðum en þær gegna mikilvægu hlutverki í vistkerfi hafsins. Nauðsynlegt er að rannsaka örverufræði hafsins í kring um Ísland með nýjum og öflugum aðferðum sem byggja á sameindalíffræði. Við slíka vinnu skiptir gæði sýna og sýnaundirbúningur mjög miklu máli.</p> <p>Í þessari rannsókn var gerð forkönnun á sjósýnum, sýnatöku og sýna-meðhöndlun áður en sýni verða tekin í miklu magni. Fyrst voru sýni tekin úr smábátahöfninni í Reykjavík til forathugunar og svo var haldið lengra með sýnum úr rúmsjó. Skoðaðar voru heimtur með tilliti til DNA magns og hversu vel tókst til að magna upp erfðaeefni örveranna með PCR. Niðurstöðurnar sýndu að besta aðferðin var aðkeypt DNA einangrunarsett sem einangraði mest af DNA og var magnanalegt með PCR. Ódýrari og fljótvirkari aðferð með sjálfvirku einangrunartæki og heimatilbúnum hvarfefnum reyndist einnig mjög vel þar sem sambærilegar niðurstöður fengust úr PCR mögnun þó svo að lægri DNA heimtur fengust. Út frá þessum niðurstöðum er unnt að setja upp verkferla sem byggja á sjálfvirkri DNA einangrun sýna en notkun aðkeyptra einangrunarsetta á erfiðari sýni. Fyrirhugað er að nota þessar niðurstöður við sjósýni úr vorralli Hafrannsóknarstofnunarinnar.</p>		
<i>Lykilorð á íslensku:</i>	<i>Íslandsmið, sjór, örverur, fjölbreytileiki, sýnaundirbúningur</i>		
<i>Summary in English:</i>	<p>The knowledge on microbial diversity and community structure in Icelandic seawater is scarce at present despite their important role in ocean ecology. The agenda is to increase our knowledge in this field by applying recent and powerful analytical tools. In order to do that it is essential to have access to high quality samples and sample preparation procedures.</p> <p>In the present study sea sample preparation was studied with aim of comparing different methods and optimizes the workflow. Samples from a harbour in Reykjavík and open sea samples were used for this purpose. The results showed that an extraction method based on an Epicentre kit gave the best results regarding DNA recovery from the samples and suitability in a PCR amplification. However, a method based on semi-automatic protocol and in house reagents proved to be more cost effective and showed comparable performance with PCR suitability of the samples although a lower DNA recovery was obtained. From these results it is now possible to establish an efficient work flow for microbial diversity analysis of sea samples using an automated method as a first choice with the option of more costly method for more challenging samples.</p>		
<i>English keywords:</i>	<i>Icelandic seawater, microbes, diversity, sample preparation</i>		