

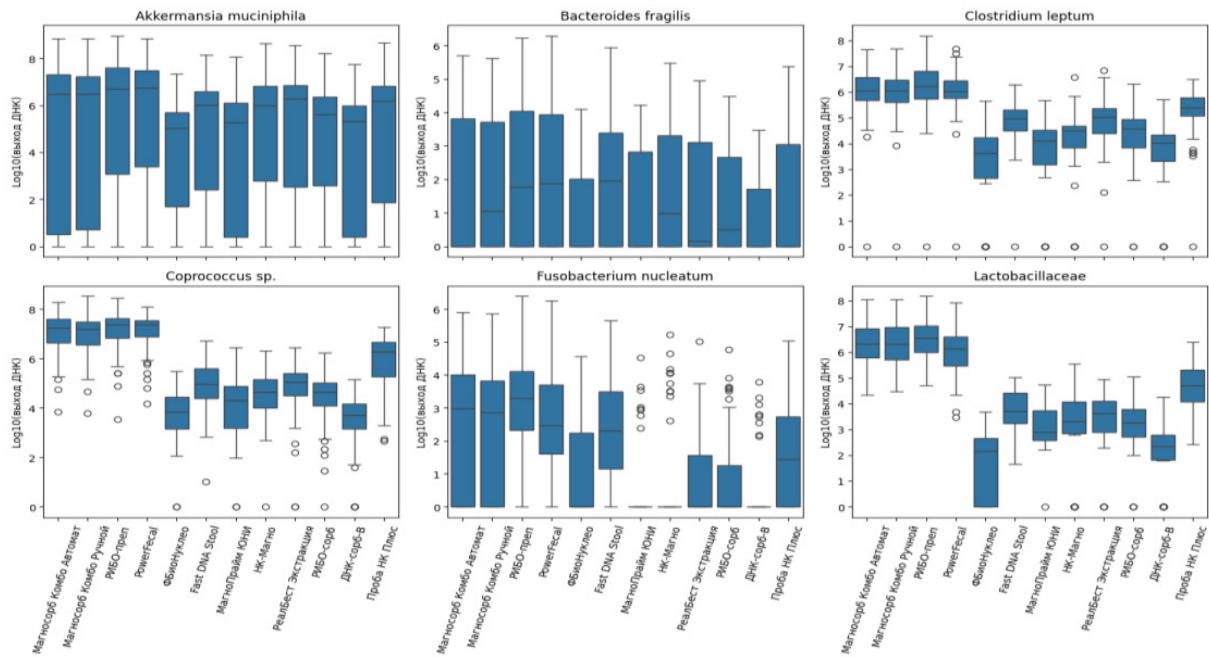
## ПРИЛОЖЕНИЕ

Сравнительная оценка методов экстракции ДНК из фекалий: статистический анализ коммерческих наборов и лабораторных протоколов по данным ПЦР-РВ

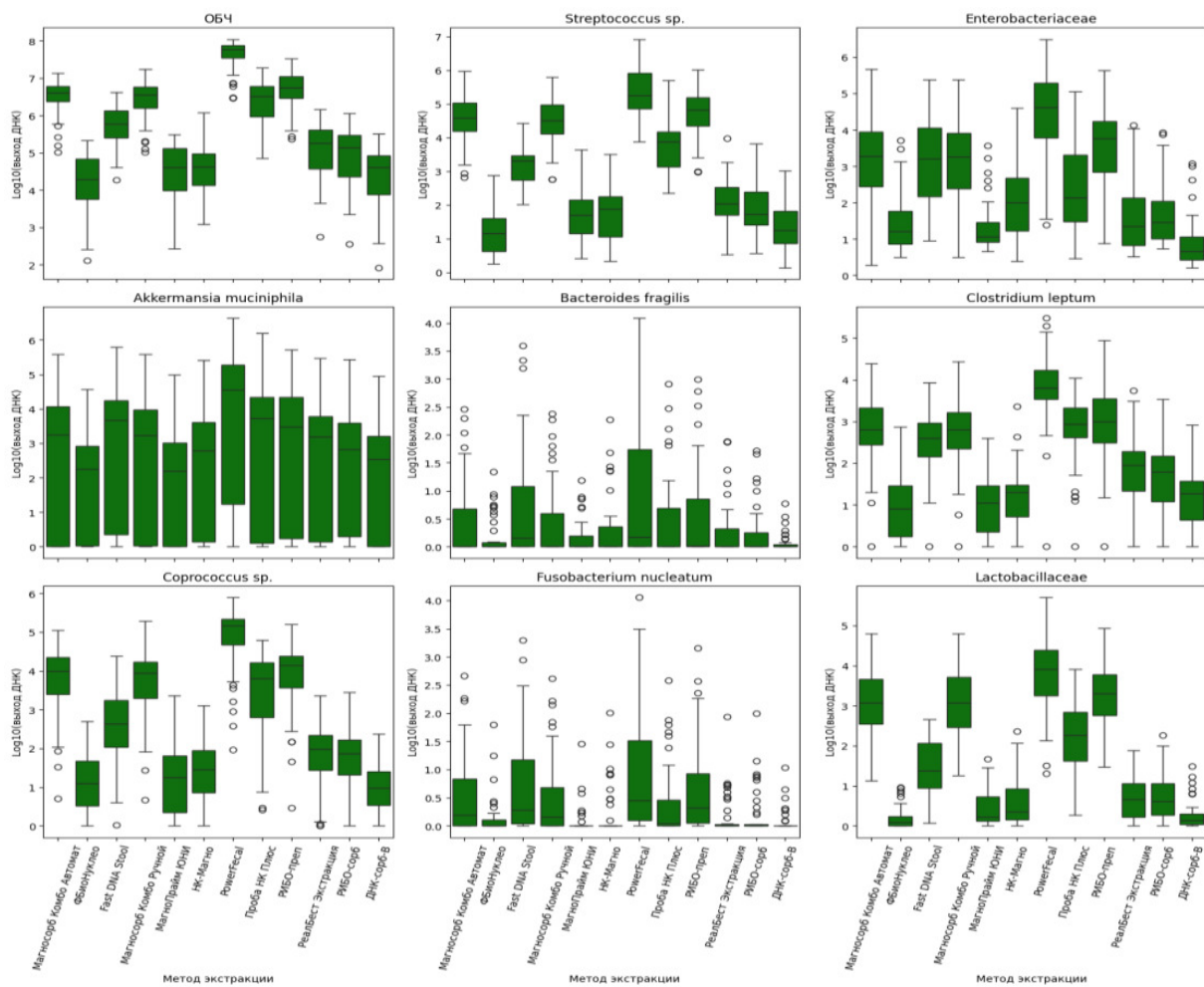
**Таблица S1.** Используемые последовательности олигонуклеотидов

Система	Последовательности, 5'-3'
ОБЧ	F: GTGBCAGCMGCCGCGGTAA probe: CTACGMATTTACCKCTACACCT R: GACTACNVGGGTMTCTAATCC
<i>Lactobacillaceae</i>	F: TTGCCAGCATTAAGTTGGG probe: AGCTAATCTCTTAAAGCCGTTCTCAG R: GTTACAAACTCTCATGGTGTGAC
<i>Coprococcus spp.</i>	F: CCTGATGACGGTTTCTTAACC probe: TCTTCGGAGCATCAGAGACAGG R: GTTGCGGGACTTAACCCA
<i>Streptococcus sp.</i>	F: GGGGATAACTATTGGAAACGATA probe: AGATGGACCTGCGTTGTATTAGC R: CAGGTCGGCTATGTATCGTC
<i>Clostridium leptum</i>	F: AAAGGAGCAATCCGCTGG probe: TGGACTCGCGTCCGATTAGCCA R: CGGCTACCGATCGTCGCT
<i>Enterobacteriaceae</i>	F: GTGBCAGCMGCCGCGGTAA probe: GACTACNVGGGTMTCTAATCC R: CTACGMATTTACCKCTACACCT
<i>Akkermansia muciniphila</i>	F: TGGAACAGGTGCTAATACCG probe: AAAGCGATAGCTTACGCC R: CCATTGTGGAAGATTCCC
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	F: ACTTAGCAAATCAAGAAGAAGCAAG probe: ACAAGCACTAGCACAAAATGAACAAGTTT R: CATTTAGCTTCTAATTTCTTTAAAGC
<i>Bacteroides fragilis</i>	F: AAAGGATTCCGGTAAAGGAT probe: AGGTAACGGCCCACCAAGC R: GGCTGGTTCAGGCTCG

**А**



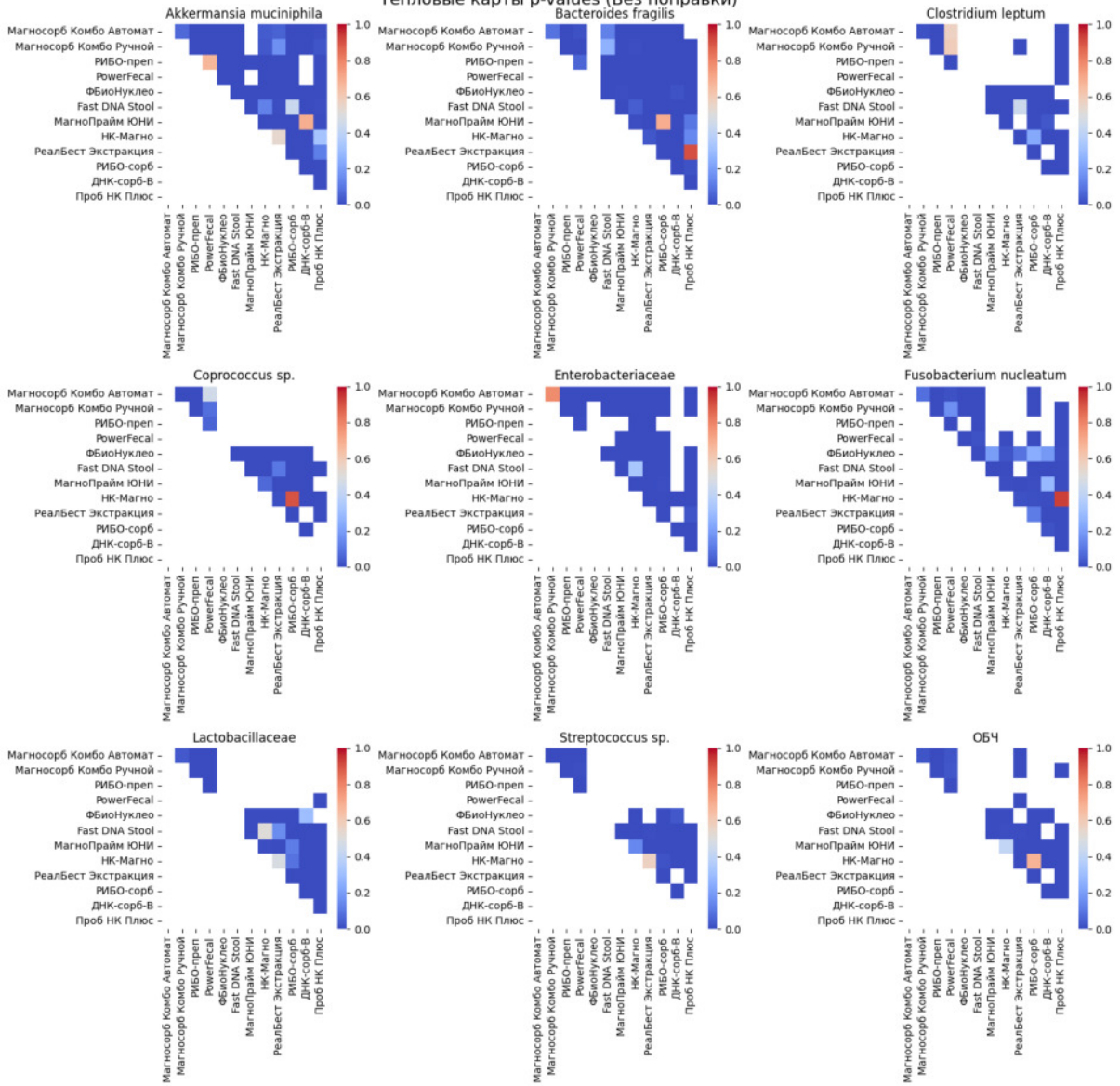
**Б**

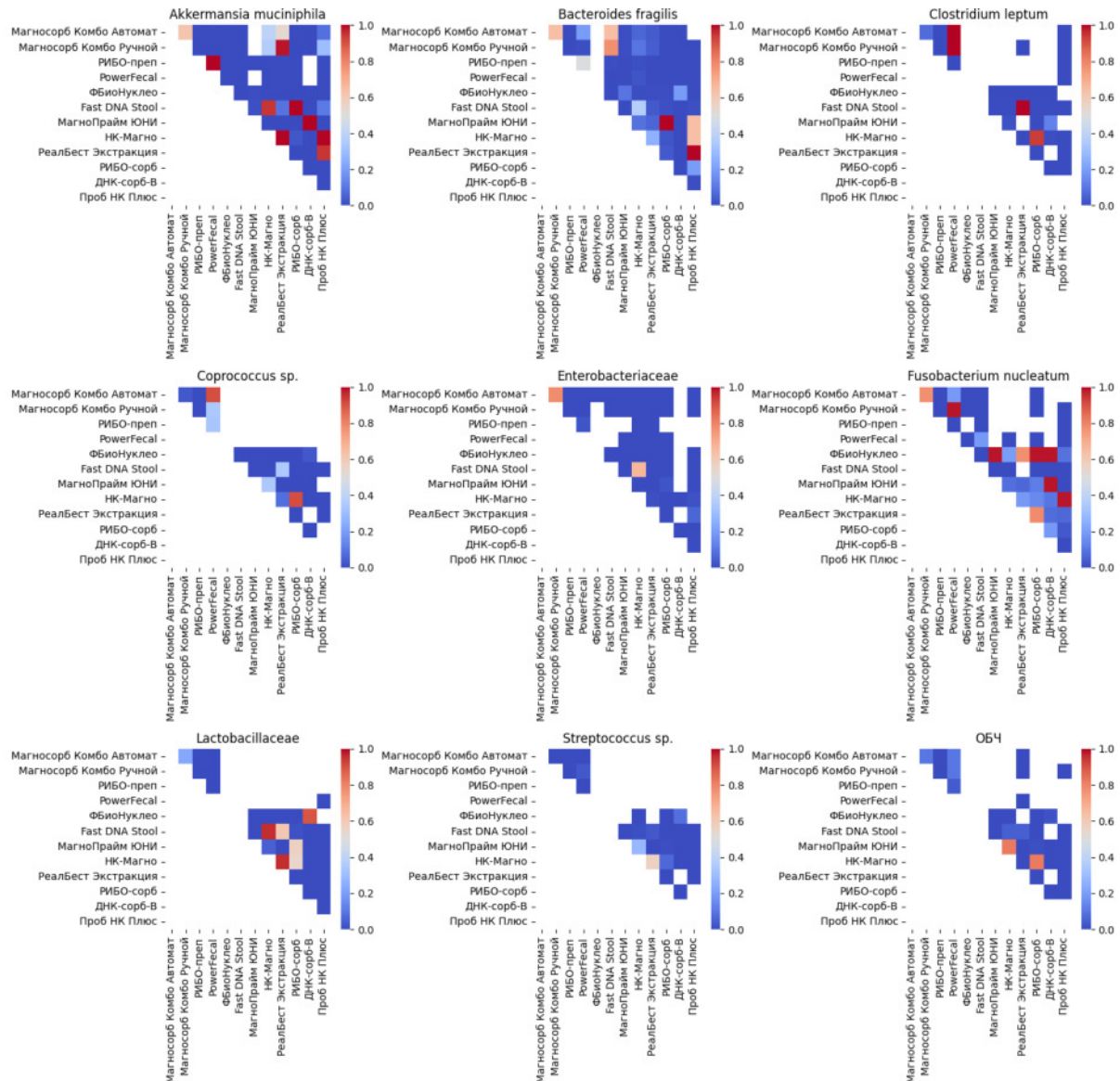


**Рисунок S2.** Распределение логарифмированных значений выходов ДНК в зависимости от метода выделения для таксонов *Lactobacillaceae*, *Clostridium leptum*, *Coprococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis*, *Akkermansia muciniphila*: А - ГЭ/г фекалии; Б - ГЭ/мкл элюата.

A

Тепловые карты p-values (Без поправки)



**Б**

**Рисунок S3.** Тепловые карты по методу Вилкоксона (ГЭ/г фекалии): А - без поправки на множественное сравнение; Б - с поправкой на множественные сравнений методом Холма-Бонферонни. Цветовые обозначения согласно значениям p-value.

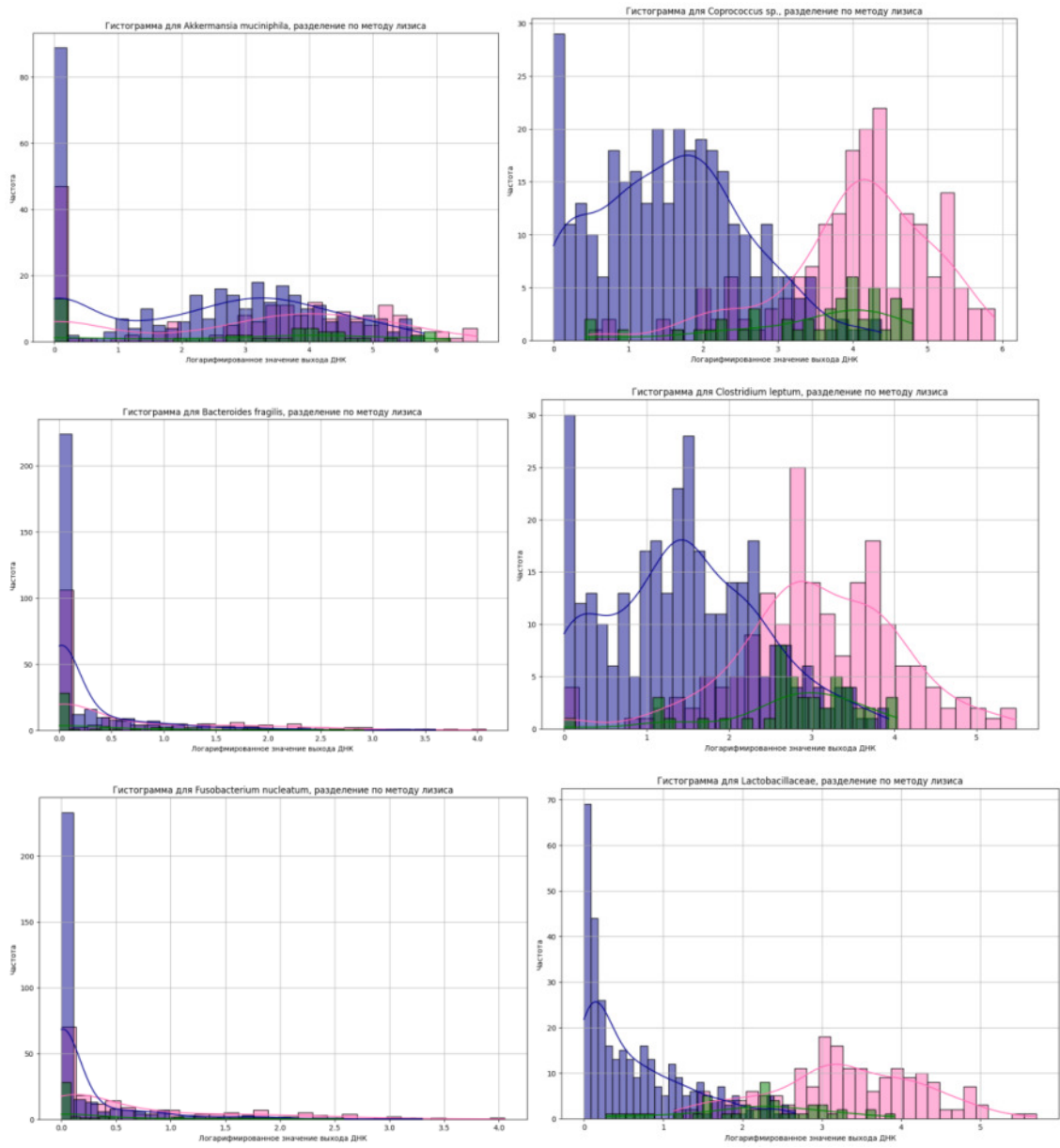
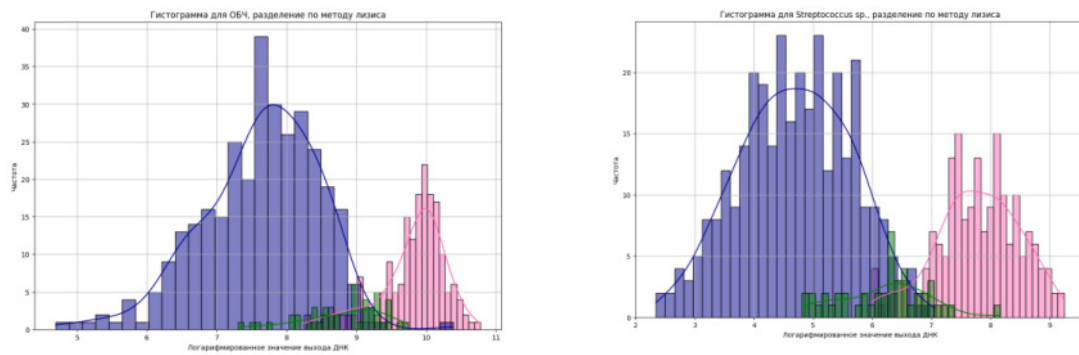
Диагональ и нижний левый угол не отображаются для удобства чтения. Белый цвет над диагональю означает невозможность применения метода Вилкоксона для данной пары ввиду односторонних различий для всех образцов.

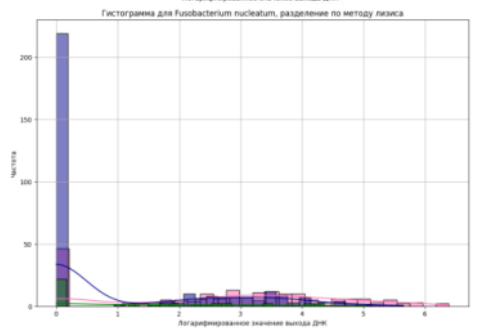
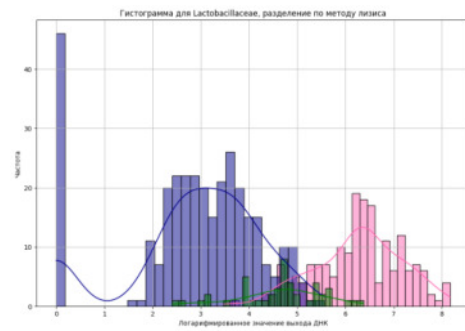
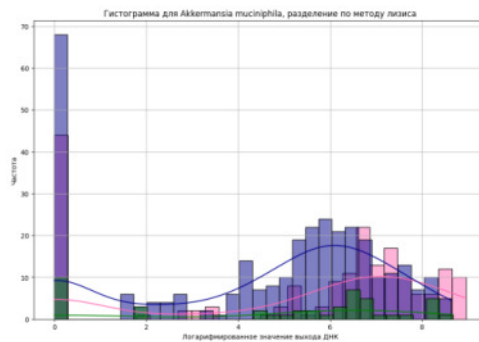
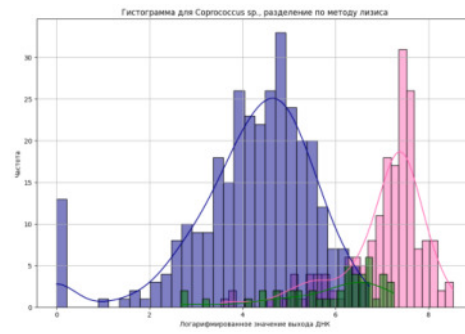
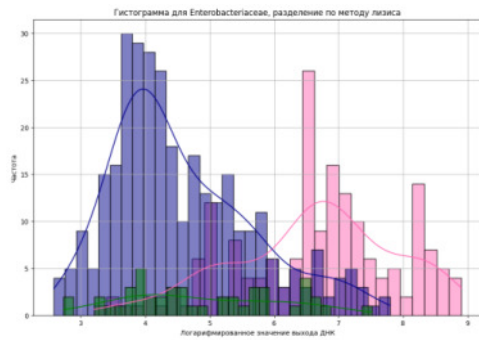
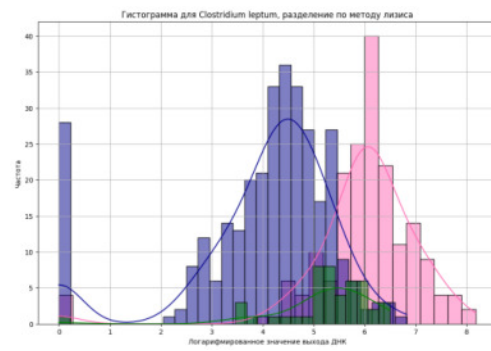
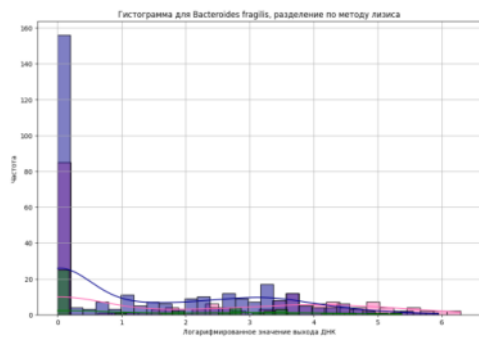
**Таблица S4. Результаты расчетов методом Bootstrap**

<b>Таксон</b>	<b>Метод</b>	<b>Медиана (log10)</b>	<b>Нижняя граница ДИ (log10)</b>	<b>Верхняя граница ДИ (log10)</b>
ОБЧ	РИБО-преп	9,99	9,86	10,16
ОБЧ	PowerFecal	9,99	9,85	10,05
ОБЧ	Магно-Сорб-Комбо Автоматический	9,84	9,71	9,98
ОБЧ	Магно-Сорб-Комбо Ручной	9,80	9,64	9,95
ОБЧ	ПРОБА НК плюс	8,97	8,64	9,13
ОБЧ	РеалБест Экстракция	8,34	7,98	8,64
ОБЧ	Fast DNA Stool	8,12	7,95	8,35
ОБЧ	РИБО-сорб	7,91	7,41	8,07
ОБЧ	НК-Магно	7,82	7,54	8,10
ОБЧ	МагноПрайм ЮНИ	7,69	7,30	7,97
ОБЧ	ДНК-сорб-В	7,39	6,96	7,59
ОБЧ	ФБиоНуклео	7,07	6,83	7,37
<i>Coprococcus</i> sp.	РИБО-преп	7,38	7,19	7,54
<i>Coprococcus</i> sp.	PowerFecal	7,38	7,09	7,46
<i>Coprococcus</i> sp.	Магно-Сорб-Комбо Автоматический	7,23	7,04	7,41
<i>Coprococcus</i> sp.	Магно-Сорб-Комбо Ручной	7,19	6,94	7,34
<i>Coprococcus</i> sp.	ПРОБА НК плюс	6,27	5,96	6,50
<i>Coprococcus</i> sp.	РеалБест Экстракция	5,06	4,80	5,18
<i>Coprococcus</i> sp.	Fast DNA Stool	4,97	4,62	5,36
<i>Coprococcus</i> sp.	НК-Магно	4,64	4,23	4,87
<i>Coprococcus</i> sp.	РИБО-сорб	4,64	4,35	4,83
<i>Coprococcus</i> sp.	МагноПрайм ЮНИ	4,30	3,94	4,63
<i>Coprococcus</i> sp.	ФБиоНуклео	3,83	3,55	4,03
<i>Coprococcus</i> sp.	ДНК-сорб-В	3,70	3,46	3,84
Lactobacillaceae	РИБО-преп	6,54	6,31	6,78
Lactobacillaceae	Магно-Сорб-Комбо Ручной	6,31	6,13	6,42
Lactobacillaceae	Магно-Сорб-Комбо Автоматический	6,31	6,14	6,53
Lactobacillaceae	PowerFecal	6,12	5,71	6,39
Lactobacillaceae	ПРОБА НК плюс	4,72	4,57	4,88
Lactobacillaceae	Fast DNA Stool	3,71	3,53	4,06
Lactobacillaceae	РеалБест Экстракция	3,63	3,35	3,85
Lactobacillaceae	НК-Магно	3,31	3,18	3,69
Lactobacillaceae	РИБО-сорб	3,27	2,94	3,58
Lactobacillaceae	МагноПрайм ЮНИ	2,88	2,69	3,45
Lactobacillaceae	ДНК-сорб-В	2,33	1,96	2,49

Lactobacillaceae	ФБиоНуклео	2,16	0,94	2,47
<i>Streptococcus</i> sp.	РИБО-преп	8,05	7,79	8,23
<i>Streptococcus</i> sp.	Магно-Сорб-Комбо Автоматический	7,81	7,60	8,15
<i>Streptococcus</i> sp.	Магно-Сорб-Комбо Ручной	7,73	7,47	8,01
<i>Streptococcus</i> sp.	PowerFecal	7,45	7,33	7,89
<i>Streptococcus</i> sp.	ПРОБА НК плюс	6,32	6,05	6,41
<i>Streptococcus</i> sp.	Fast DNA Stool	5,64	5,41	5,72
<i>Streptococcus</i> sp.	РеалБест Экстракция	5,11	4,97	5,36
<i>Streptococcus</i> sp.	НК-Магно	5,08	4,64	5,31
<i>Streptococcus</i> sp.	МагноПрайм ЮНИ	4,77	4,56	4,99
<i>Streptococcus</i> sp.	РИБО-сорб	4,50	4,34	4,90
<i>Streptococcus</i> sp.	ДНК-сорб-В	4,00	3,85	4,23
<i>Streptococcus</i> sp.	ФБиоНуклео	3,89	3,63	4,15
<i>Clostridium leptum</i>	РИБО-преп	6,24	6,07	6,45
<i>Clostridium leptum</i>	Магно-Сорб-Комбо Ручной	6,04	5,70	6,13
<i>Clostridium leptum</i>	Магно-Сорб-Комбо Автоматический	6,04	5,84	6,26
<i>Clostridium leptum</i>	PowerFecal	6,01	5,84	6,18
<i>Clostridium leptum</i>	ПРОБА НК плюс	5,39	5,16	5,68
<i>Clostridium leptum</i>	РеалБест Экстракция	5,02	4,65	5,30
<i>Clostridium leptum</i>	Fast DNA Stool	4,95	4,70	5,19
<i>Clostridium leptum</i>	РИБО-сорб	4,57	4,06	4,81
<i>Clostridium leptum</i>	НК-Магно	4,48	4,23	4,59
<i>Clostridium leptum</i>	МагноПрайм ЮНИ	4,08	3,69	4,41
<i>Clostridium leptum</i>	ДНК-сорб-В	4,03	3,59	4,26
<i>Clostridium leptum</i>	ФБиоНуклео	3,63	3,25	4,00
<i>Akkermansia muciniphila</i>	PowerFecal	6,75	5,69	7,10
<i>Akkermansia muciniphila</i>	РИБО-преп	6,72	6,03	7,27
<i>Akkermansia muciniphila</i>	Магно-Сорб-Комбо Автоматический	6,48	5,18	6,92
<i>Akkermansia muciniphila</i>	Магно-Сорб-Комбо Ручной	6,46	5,60	6,82
<i>Akkermansia muciniphila</i>	РеалБест Экстракция	6,27	4,93	6,71
<i>Akkermansia muciniphila</i>	ПРОБА НК плюс	6,19	5,17	6,53
<i>Akkermansia muciniphila</i>	Fast DNA Stool	6,01	5,34	6,40
<i>Akkermansia muciniphila</i>	НК-Магно	5,98	5,28	6,43
<i>Akkermansia muciniphila</i>	РИБО-сорб	5,60	4,66	6,17
<i>Akkermansia muciniphila</i>	ДНК-сорб-В	5,32	4,03	5,78
<i>Akkermansia muciniphila</i>	МагноПрайм ЮНИ	5,27	4,07	5,73
<i>Akkermansia muciniphila</i>	ФБиоНуклео	5,02	4,12	5,45

<i>Bacteroides fragilis</i>	Fast DNA Stool	1,95	0,77	3,01
<i>Bacteroides fragilis</i>	PowerFecal	1,87	0,43	3,37
<i>Bacteroides fragilis</i>	РИБО-преп	1,78	0,00	3,62
<i>Bacteroides fragilis</i>	Магно-Сорб-Комбо Ручной	1,04	0,00	3,23
<i>Bacteroides fragilis</i>	НК-Магно	0,99	0,00	2,69
<i>Bacteroides fragilis</i>	РИБО-сорб	0,50	0,00	1,84
<i>Bacteroides fragilis</i>	РеалБест Экстракция	0,16	0,00	2,36
<i>Bacteroides fragilis</i>	Магно-Сорб-Комбо Автоматический	0,00	0,00	3,44
<i>Bacteroides fragilis</i>	ФБиоНуклео	0,00	0,00	1,11
<i>Bacteroides fragilis</i>	МагноПрайм ЮНИ	0,00	0,00	1,95
<i>Bacteroides fragilis</i>	ДНК-сорб-В	0,00	0,00	1,04
<i>Bacteroides fragilis</i>	ПРОБА НК плюс	0,00	0,00	2,52
Enterobacteriaceae	РИБО-преп	7,00	6,63	7,23
Enterobacteriaceae	PowerFecal	6,82	6,61	7,16
Enterobacteriaceae	Магно-Сорб-Комбо Автоматический	6,51	6,33	6,79
Enterobacteriaceae	Магно-Сорб-Комбо Ручной	6,50	6,41	6,83
Enterobacteriaceae	Fast DNA Stool	5,54	5,32	5,82
Enterobacteriaceae	НК-Магно	5,21	4,73	5,51
Enterobacteriaceae	ПРОБА НК плюс	4,58	4,23	5,37
Enterobacteriaceae	РеалБест Экстракция	4,46	4,14	5,08
Enterobacteriaceae	РИБО-сорб	4,22	3,89	4,67
Enterobacteriaceae	МагноПрайм ЮНИ	4,10	3,98	4,24
Enterobacteriaceae	ФБиоНуклео	3,95	3,71	4,12
Enterobacteriaceae	ДНК-сорб-В	3,33	3,07	3,65
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	РИБО-преп	3,28	2,90	3,75
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Магно-Сорб-Комбо Автоматический	2,99	2,70	3,52
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Магно-Сорб-Комбо Ручной	2,86	1,41	3,49
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	PowerFecal	2,46	2,01	3,27
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Fast DNA Stool	2,31	2,05	2,98
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ПРОБА НК плюс	1,44	0,00	1,94
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ФБиоНуклео	0,00	0,00	0,00
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	МагноПрайм ЮНИ	0,00	0,00	0,00
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	НК-Магно	0,00	0,00	0,00
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	РеалБест Экстракция	0,00	0,00	0,00
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	РИБО-сорб	0,00	0,00	0,00
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ДНК-сорб-В	0,00	0,00	0,00

**А****Б**



**Рисунок S5.** Гистограмма распределения выхода ДНК в зависимости от типа лизиса: А - ГЭ/г фекалии, Б - ГЭ/мкл элюата.

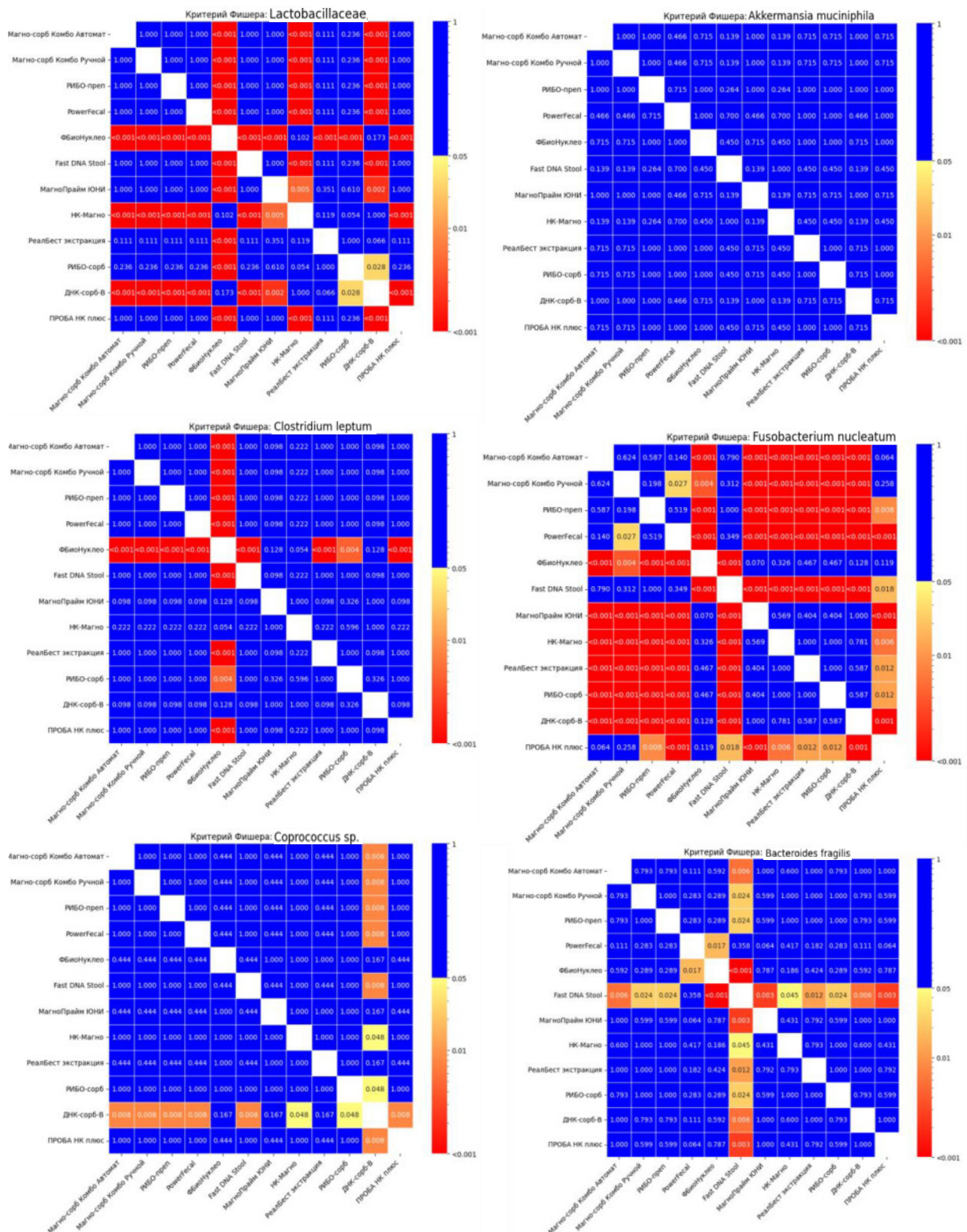
Розовым цветом – результаты для методик с механическим дроблением; голубым – для химического лизиса; зеленым – для энзиматического лизиса.

**Таблица S6.** Распределение методов выделения согласно РСА анализу для количественного выхода ДНК в ГЭ/г фекалий по кластерам в процентах

Название набора	Кластер 1	Кластер 2
<b>Механический лизис</b>		
АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо (Автоматический)	94,1	5,9
АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо (Ручной)	94,1	5,9
АмплиТест РИБО-преп	97,1	2,9
QIAamp® PowerFecal® Pro DNA Kit	94,4	5,6
<b>Химический лизис</b>		
ДНК-сорб-В	0	100
ФБиоНуклео	0	100
МагноПрайм ЮНИ	0	100
РИБО-сорб	0	100
QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit	2,6	97,4
РеалБест экстракция 100	3	97
НК-Магно	7,1	92,9
<b>Энзиматический лизис</b>		
ПРОБА НК плюс	48,6	51,4

**Таблица S7.** Распределение методов выделения согласно РСА анализу для количественного выхода ДНК в ГЭ/мкл элюата по кластерам в процентах

Название набора	Кластер 1	Кластер 2
<b>Механический лизис</b>		
АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо (Автоматический)	88,2	11,8
АмплиТест® Магно-Сорб-Комбо (Ручной)	88,2	11,8
АмплиТест РИБО-преп	94,3	5,7
QIAamp® PowerFecal® Pro DNA Kit	100	0
<b>Химический лизис</b>		
ДНК-сорб-В	0	100
ФБиоНуклео	0	100
МагноПрайм ЮНИ	0	100
РИБО-сорб	0	100
QIAamp® Fast DNA Stool Mini Kit	60,5	39,5
РеалБест экстракция 100	3	97
НК-Магно	0	100
<b>Энзиматический лизис</b>		
ПРОБА НК плюс	88,6	11,4



**Рисунок S8.** Тепловые карты статистически значимой разницы результатов выделения для таксонов *B. fragilis*, *C. leptum*, *F. nucleatum*, *Lactobacillaceae*. Анализ проведен критерием Фишера с последующей поправкой методом Бенджамина-Хохберга (уровень значимости 0.05).

Для *A. muciniphila* и *Coprococcus sp.* статистически значимых различий касательно ложноотрицательных результатов выделения не выявлено.

**Таблица S9.** Абсолютное количество ложноотрицательных результатов в зависимости от метода и бактериального вида

<b>Название набора</b>	<i>Coprococcus sp</i>	<i>C. leptum</i>	Lactobacillaceae	<i>A. muciniphila</i>	<i>B. fragilis</i>	<i>F. nucleatum</i>	<i>Итого</i>
Fast DNA Stool	0	0	0	4	5	8	17
PowerFecal	0	0	0	6	9	4	19
РИБО-преп	0	0	0	8	14	7	29
Магно-Сорб-Комбо Автоматический	0	0	0	9	16	10	35
Магно-Сорб-Комбо Ручной	0	0	0	9	14	13	36
ПРОБА НК плюс	0	0	0	7	17	19	43
РИБО-сорб	1	1	3	7	14	31	57
РеалБест Экстракция	2	0	4	7	15	31	59
НК-Магно	1	3	10	4	13	32	63
МагноПрайм ЮНИ	2	4	1	9	17	35	68
ДНК-сорб-В	5	4	11	9	16	34	79
ФБиоНуклео	2	9	17	7	19	27	81