

УДК 57.088

## **ПРОФИЛИРОВАНИЕ ГЕНОМНЫХ БИБЛИОТЕК МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО НЕДЕНАТУРИРУЮЩЕГО ГЕЛЬ-ЭЛЕКТРОФОРЕЗА НА ПРИБОРЕ «НАНОФОР 05».**

**Ващенко К. Д.** (ИТМО, ИАП РАН, НПФ «Синтол»), **Адельшина Э. В.** (ИТМО, ИАП РАН)

**Научный руководитель – кандидат биологических наук Пушкин А. А.**

(ИАП РАН, НПФ «Синтол»)

**Введение.** Технология массового параллельного секвенирования (МПС) активно используется в современных молекулярно-генетических исследованиях, позволяя получать и анализировать значительные объемы геномных данных с высокой точностью и в короткие сроки, что существенно превосходит возможности классического ДНК-секвенирования. Для обеспечения стабильных и надежных результатов МПС требуется предварительный качественный и количественный контроль исследуемых геномных библиотек, которые представляют собой специально фрагментированную ДНК с добавлением адаптеров и индексов. В настоящее время для оценки качества и относительного количества геномных библиотек используются приборы капиллярного гель-электрофореза, такие как Agilent 2100 Bioanalyzer, TapeStation 4150 и TapeStation 4200 (США), а также Qsep100 и Qsep400 (Китай). Цель данной работы заключается в профилировании геномных библиотек методом капиллярного неденатурирующего гель-электрофореза с использованием прибора «Нанофор 05».

**Основная часть.** Алгоритм анализа геномных библиотек включает следующие этапы: к исследуемой геномной библиотеке добавляют два фрагмента ДНК известной длины и концентрации, которые образуют реперные пики. Эти реперные пики также входят в состав набора фрагментов ДНК известной длины, используемого в качестве стандарта. На основе этого набора строится калибровочная кривая, которая позволяет определять длину и относительное количество пиков в геномных библиотеках [1]. Двухцепочечные фрагменты стандарта длин были синтезированы методом полимеразной цепной реакции с использованием готовой реакционной смеси (М-428, «Синтол», Россия) на амплификаторе «ДТклассик» («ДНК-Технология», Россия). В качестве матрицы применялась ДНК стандартной плазмиды pGEM 3Z. После амплификации полученные продукты очищались с помощью набора СинМАГ («Синтол», Россия). Концентрация очищенных фрагментов измерялась на флуориметре Qubit («Айвок», Россия) с использованием набора для количественного определения двуцепочечной ДНК СинКвант HS ДНК («Синтол», Россия). Геномные библиотеки были подготовлены с помощью набор реагентов для подготовки геномных библиотек для массового параллельного секвенирования «SyntEra-DNA» («Синтол», Россия). Для сокращения времени анализа геномных библиотек были разработаны укороченная линейка капилляров длиной 24 см до оптического окна и менее вязкий полимер на основе линейного полидиметилакриламида ПДМА-1,5-НД. Благодаря их применению и оптимизации протокола гель-электрофореза общее время анализа восьми образцов удалось сократить с 45 минут (при использовании стандартной линейки капилляров длиной 36 см до оптического окна и полимера ПДМА-4-НД) до 7 минут.

**Выводы.** Разработанный метод профилирования геномных библиотек будет внедрен в протоколы неденатурирующего гель-электрофоретического анализа для приборов капиллярного электрофореза серии «Нанофор». Это позволит расширить функциональные возможности оборудования и повысить его эффективность [2].

### **Список использованных источников:**

1. DNA Fragment Analysis by Capillary Electrophoresis User Guide. 2014. No. 4474504. Rev. B–C. 220.

2. Алексеев Я.И., Белов Ю.В., Малюченко О.П., Монахова Ю.А., Натыров А.Н., Орехов В.А., Коновалов С.В., Курочкин В.Е., Петров А.И. Генетический анализатор для фрагментного анализа ДНК // Научное приборостроение. 2012. Т. 22. № 4. С. 86–92.