

## **РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ДНК МИКРОЧИПОВ МЕТОДОМ ФОТОЛИТОГРАФИИ ДЛЯ МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ**

**Кот Е.А., Логачева С.А.**

**Научный руководитель – кандидат химических наук, Карцев Д.Д.**

Университет ИТМО

udjin.kot@gmail.com

### **Введение**

Благодаря стремительному развитию геномики ДНК микрочипы стали незаменимым инструментом в генетических исследованиях, находя широкое применение в медицине, науке и сельском хозяйстве. Необходимость в качественном и быстром секвенировании большого объема генетического материала привела к появлению методов NGS (next generation sequencing), которые позволяют одновременно исследовать сразу несколько участков генома, что является их главным отличием от более ранних методов, основанных на обрыве цепи (метод Сэнгера) [1]. ДНК микрочип представляет собой миниатюрный твердотельный носитель, на котором расположены олигонуклеотиды – короткие одноцепочечные фрагменты ДНК, ковалентно пришитые к твердому основанию [3]. ДНК микрочипы обеспечивают производительное и точное секвенирование, но одновременно дороги и сложны в производстве. В связи с этим, разработка альтернативных технологий их производства является актуальным и востребованным направлением исследований.

### **Основная часть**

Среди группы технологий NGS выделяется SBS (sequencing by synthesis) – методика, разработанная компанией Illumina [2]. Одноцепочечные фрагменты ДНК модифицируются и закрепляются на чипе за счет гибридизации с олигонуклеотидами, размещенными на нем. После закрепления происходит стадия мостиковой амплификации, за счет чего формируются кластеры из фрагментов ДНК. Затем, с помощью фермента ДНК-полимеразы, начинается синтез комплементарных цепей ДНК по одному нуклеотиду за раз, так как на них находятся блокаторы, предотвращающие самопроизвольное удлинение цепи. Полимераза присоединяет один нуклеотид, модифицированный блокатором и флуоресцентной меткой, остальные вымываются. Поверхность чипа освещается коротким импульсом лазера, чтобы возбудить флуорофор на нуклеотиде, излучение которого детектируется камерой. В зависимости от того, какой нуклеотид был присоединен к цепи, каждый кластер загорается определенным цветом. Затем блокатор смывается, полимеразы присоединяет следующий нуклеотид и цикл повторяется вновь. Помимо дороговизны и сложности в производстве, современные ДНК микрочипы обладают еще одним существенным недостатком – из-за того, что кластеры из фрагментов ДНК формируются неконтролируемо, они вплотную прилегают друг к другу, вследствие чего затрудняется детекция отдельных флуоресцентных сигналов. Решение данной проблемы уже было предложено, новый подход предполагает создание заранее размеченных областей для прохождения реакции амплификации, при этом, кластеры образуются в заданном порядке, что упрощает анализ. Данная модификация, предложенная компанией Illumina, еще больше затрудняет процесс создания ДНК микрочипов. В настоящей работе предложено более простое решение проблемы структурирования кластеров при использовании новой технологии изготовления ДНК микрочипов. Основное упрощение касается метода селективного нанесения олигонуклеотидов на поверхность стекла и достигается за счет использования

инновационного материала - омнифобного фоторезиста, позволяющего получить готовое устройство за 3 стадии. Данная технология позволит сделать генетический анализ на основе NGS проще и доступнее, что, в свою очередь, приведет к развитию данной области и прорывным открытиям в будущем.

### **Выводы**

Разработана новая методика изготовления ДНК микрочипов на основе фотолитографии на стеклянной подложке, предназначенных для массового параллельного секвенирования. Такие чипы дешевле и проще в изготовлении и позволяют контролируемо создавать кластеры из фрагментов ДНК благодаря паттернированной поверхности, что облегчает детектирование флуоресцентных сигналов во время секвенирования.

### **Литература**

1. Ahmadian A., Svahn H. A. Massively parallel sequencing platforms using lab on a chip technologies // Lab Chip. 2011. Vol. 11. P. 2653. DOI: 10.1039/C1LC90035H.
2. Moti T. B. Review on Public Importance and Diagnostic Method of Listeria Monocytogenes, Ethiopia // Biomedical Sciences. 2022. Vol. 8, № 3. P. 92–98.
3. Miniaturized DNA microarray for small-volume sample processing. Пат. WO 2019/075321 A1 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/WO2019075321A1> (дата обращения 18.02.2026).