

Биоорганическая химия

Одномолекулярное ДНК секвенирование в реальном времени. Основные принципы, возможности и ограничения.

Биньяо Ли¹, Смирнов А.Н.², Савко П.Ю.³

¹ Кафедра Электрохимии СПбГУ

² Кафедра Физической Химии СПбГУ

³ Кафедра Физической Органической Химии СПбГУ

Первые результаты секвенирования человеческого генома дал проект «Геном человека» в 2001 году в результате 11 лет работы [1]. Благодаря развитию технологий к 2010 аналогичный проект стал подъемной задачей для отдельных научных групп [2]. Оставалась проблема отнесения повторяющихся фрагментов генома при картировании, возникающая в результате того, что существующие методы секвенирования могли анализировать лишь короткие последовательности (< 1 kb).

Настоящий обзор посвящен технологии одномолекулярного ДНК секвенирования в реальном времени. Методика основана на регистрации оптического сигнала меченых флуорофорами нуклеотидов непосредственно во время работы отдельной полимеразы, благодаря чему метод не требует последующей амплификации (Рис. 1) [3]. Таким образом достигается не только минимальное время секвенирования, зависящее только от скорости работы полимеразы, но и возможность чтения длинных последовательностей (10–16 kb) [4]. Точность обеспечивается за счет одновременного проведения реакции в тысячах отдельных наноразмерных ячеек. К недостаткам метода можно отнести высокую стоимость прибора и высокий уровень ошибок. Последнее можно компенсировать повторным экспериментом.

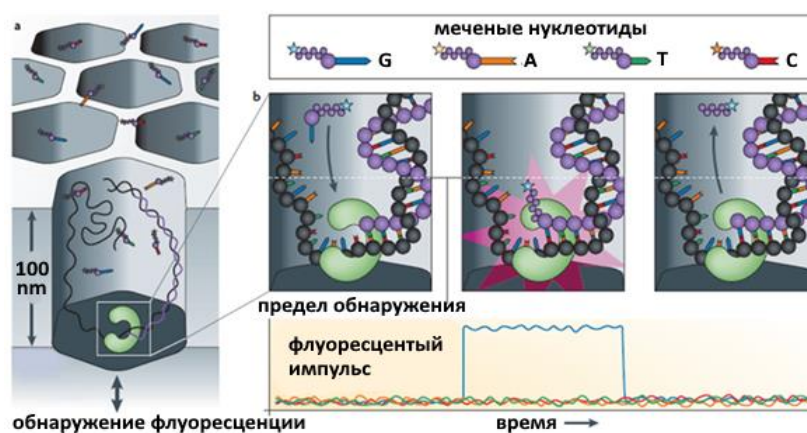


Рис. 1. Принцип одномолекулярного ДНК секвенирования в реальном времени [3]

Материал построен таким образом, чтобы обеспечить восприятие для читателей с широким естественно-научным образованием, поэтому содержит рассмотрение как новых возможностей технологии последних лет, так и ее принципиальных основ.

1. E. S. Lander et al., Nature, 409 (2001) 860–921; IF 43.070
2. R. Li, H. Zhu, J. Ruan, W. Qian, X. Fang, Z. Shi, Y. Li, S. Li, G. Shan, K. Kristiansen, S. Li, H. Yang, J. Wang, and J. Wang, Genome Res. 20(2) (2010) 265–272; IF 10.101
3. A. Ameur, W. P. Kloosterman, and M. S. Hestand, 37(1) (2019) 72–85; IF 2.370
4. G. Ning, X. Cheng, P. Luo, F. Liang, Z. Wang, G. Yu, X. Li, D. Wang, and M. Bao, Sci. Rep. 7(1) (2017) 1–12; IF 4.122