

Институт теоретической
и экспериментальной биофизики РАН

МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ

«ДЕНЬ ДНК – 2025»

25 апреля 2025 года

СБОРНИК ТЕЗИСОВ



Издательство «Синхробук»
Пушино
2025

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт теоретической и экспериментальной биофизики
Российской академии наук

**МАТЕРИАЛЫ КОНФЕРЕНЦИИ
«ДЕНЬ ДНК — 2025»**

25 апреля 2025 года

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Издательство «Синхробук» (Synchrobook™)
Пушино
2025

Материалы конференции «День ДНК — 2025». 25 апреля 2025 года. Сборник тезисов / сост. сост. пресс-служба ИТЭБ РАН: к.б.н. Перевязова Т.А., к.б.н. Дюкина А.Р., к.б.н. Зубов В.В.; оформление Абакумовой Ю.Ю. — Пушкино : ИТЭБ РАН, изд-во «Синхробук» (Synchrobook™), 2025. 36 с.

ISBN 978-5-91874-914-2



© ИТЭБ РАН, Пушкино, 2025

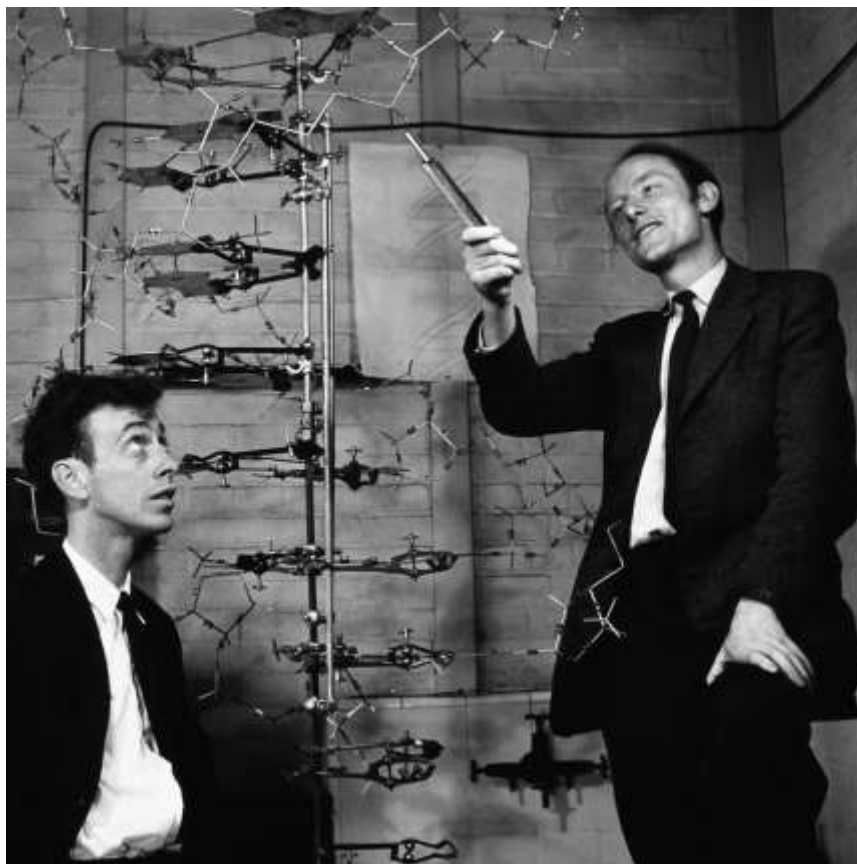
© Синхробук (Synchrobook™), Пушкино, 2025

© Абакумова Ю.Ю., оформление, 2025

СОДЕРЖАНИЕ

СОДЕРЖАНИЕ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	5
<i>Алексеев Я.И., Пушкин А.А., Ващенко К.Д., Квон Д.А., Волков А.А., Волков И.А., Алексеева А.Я., Малахова М.А., Герасимов К.Е., Воронцова А.С., Калашиников М.В., Кравцов И.Д., Яшкин А.С., Петров А.И., Резник В.С., Кавалер А.И., Козлова П.А., Чубинский-Надеждин И.В., Куликов Ю.В., Кудряшов А.В., Букатин А.С., Евстапов А.А., Мелентьев П.Н., Веретенников А.В., Курочкин В.Е.</i> СОВРЕМЕННЫЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК. УСПЕХИ И ПЕРСПЕКТИВЫ	6
<i>Ашина Н.П., Сузина Н.Е., Зимин А.А.</i> ТРАНСДУКЦИЯ INCN-ПЛАЗМИД БАКТЕРИОФАГАМИ RB43 И RB49.....	8
<i>Гриневиц А.А., Масулис И.С., Якушевич Л.В.</i> ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ И ДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФРАГМЕНТА <i>arrY</i> ДНК <i>ESCHERICHIA COLI</i> , ИНТЕГРИРОВАННОГО В ПЛАЗМИДУ <i>rPF1</i>	11
<i>Даниэль В.В., Каиштанова Д.А., Мамчур А.А., Иванов М.В., Зеленова Е.А., Бруттан М.В., Джуманиязова И.Х., Маткава Л.Р., Терехов М.В., Румянцева А.М., Грамматикати К.С., Митрофанов С.И., Юдин В.С., Максютин В.В., Маралова Е.Д., Ивашкин А.А., Некрасова А.И., Стражеско И.Д., Макаров В.В., Кескинов А.А., Ткачева О.Н., Юдин С.М., Скворцова В.И.</i> ДОЛГОЛЕТИЕ В РФ: КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ СРЕДОВЫХ, СОЦИО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ, КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ	14
<i>Зубов В.В.</i> СЕКВЕНИРОВАНИЕ — 2025	14
<i>Игнатъева О.А., Даниэль В.В., Зеленова Е.А., Чердакли А.А., Болашова Е.С., Маткава Л.Р., Шегурова А.Ф., Волков М.А., Загайнова А.В., Каиштанова Д.А., Иванов М.В., Бембеева Б.О., Зубков В.В., Гордеев А.Б., Припутневич Т.В., Юдин В.С., Макаров В.В., Кескинов А.А., Краевой С.А., Юдин С.М., Скворцова В.И.</i> ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ИНФЕКЦИИ COVID-19 ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ НА МИКРОБИОМ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И ИХ МЛАДЕНЦЕВ	17
<i>Кеер В.В., Зарипов М., Шустов А.В.</i> ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОИЗВОДСТВА ЛЕНТИВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ В НЕПРОМЫШЛЕННЫХ УСЛОВИЯХ ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ ТЕРАПИИ CAR-T В РАЗВИВАЮЩИХСЯ СТРАНАХ	20

<i>Клещенко Е.В.</i> НАНОПОРОВОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ДНК БЕЗ ДНК-РОСНЕ ПРЕДСТАВЛЯЕТ SEQUENCING-BY-EXPANSION	21
<i>Кочаровская Ю.Н., Богун А.Г., Делеган Я.А.</i> ОТ МИКРОСКОПА К МЕТАГЕНОМИКЕ: ЭВОЛЮЦИЯ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ПОЧВЕННОГО МИКРОБИОМА	23
<i>Краснов К.С., Кобякова М.И., Кузьмин В.В., Фадеев Р.С.</i> ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВАЦИИ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В РЕЗИСТЕНТНЫХ К ДЕЙСТВИЮ ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩИХ ХИМИОПРЕПАРАТОВ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА	26
<i>Мельников А.В.</i> «РОССИЙСКИЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ КАПИЛЛЯРНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПО СЭНГЕРУ»	28
<i>Чемерис А.В.</i> ГЕНОМЫ, ПАНГЕНОМЫ РАСТЕНИЙ И ГЕТЕРОГЕНОМНАЯ ТЕОРИЯ ГЕТЕРОЗИСА	30
СПОНСОРЫ	35



25 апреля в Институте теоретической и экспериментальной биофизики РАН традиционно отмечается День ДНК. Эта дата считается днем рождения молекулярной биологии, поскольку именно в этот день в 1953 году в журнале *Nature* вышла статья Джеймса Уотсона и Фрэнсиса Крика [*Watson J.D., Crick F.H.C. Molecular structure of nucleic acids // Nature. 1953. V. 171. P. 738—740*], посвященная строению молекулы ДНК, за которую в 1962 году была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине.

Очевидно, что открытие пространственной структуры ДНК совершило революцию в мире науки и повлекло за собой целый ряд новых открытий, без которых нельзя представить не только современную науку, но и современную жизнь в целом.

СОВРЕМЕННЫЕ ОТЕЧЕСТВЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК. УСПЕХИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*Алексеев Я.И.^{1,2}, Пушкин А.А.^{1,2}, Ващенко К.Д.^{1,2}, Квон Д.А.², Волков А.А.²,
Волков И.А.², Алексеева А.Я.², Малахова М.А.^{2,3}, Герасимов К.Е.²,
Воронцова А.С.², Калашиников М.В.², Кравцов И.Д.², Яшкин А.С.²,
Петров А.И.¹, Резник В.С.¹, Кавалер А.И.¹, Козлова П.А.^{2,4}, Чубинский-
Надеждин И.В.¹, Куликов Ю.В.¹, Кудряшов А.В.¹, Букатин А.С.¹,
Евстратов А.А.¹, Мелентьев П.Н.⁵, Веретенников А.В.⁶, Курочкин В.Е.¹*

- ¹ Институт аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург, Россия;
- ² Общество с ограниченной ответственностью «Научно-производственная фирма Синтол», Москва, Россия;
- ³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия;
- ⁴ Московский государственный технический университет им. Н.Э. Баумана, Москва, Россия;
- ⁵ Институт спектроскопии РАН, Троицк, Россия;
- ⁶ Акционерное общество «ЭЗАН», Черноголовка, Россия.

e-mail: jalex@syntol.ru

В настоящее время продолжается активное развитие и усовершенствование молекулярно-генетических технологий, наиболее значимыми из которых являются технологии секвенирования ДНК. Годовая динамика роста рынка молекулярно-генетических технологий в мире и в России за последние 3 года продолжает стабильно расти и составляет около 15% [1, 2].

В Российской Федерации также достигнуты значимые успехи как в области разработки [3] и масштабирования производства [4] всех трех поколений отечественных секвенаторов ДНК, так и вспомогательного оборудования, программного обеспечения для обработки и анализа геномных данных, новых методик [5] и расходных материалов и реагентов для молекулярно-биологических исследований.

Основными областями применения генетических технологий являются персонализированная медицина, фундаментальная и прикладная наука, обеспечение биологической, экологической и продовольственной безопасности.

Российская Федерация наряду с США и КНР относится к числу ведущих мировых держав, обладающих собственными технологиями се-

квенирования ДНК. В 2024 году было произведено более 100 классических секвенаторов ДНК Нанофор 05. Прибор наиболее востребован для решения судебно-медицинских и экспертно-криминалистических задач. Возрастает экспортная составляющая (Вьетнам, Индия, Венесуэла, Боливия), наращивается использование в составе приборов отечественной компонентной базы. Продолжается разработка более производительной модели классического секвенатора ДНК Нанофор 06. Прибор планируется выпустить на рынок в начале 2026 года.

В 2024 году выпущена первая серия отечественного полногеномного секвенатора ДНК Нанофор СПС [6]. С использованием отечественного набора реагентов для подготовки геномных библиотек СинтЭра (Синтол, Россия) получены и успешно расшифрованы геномы микроорганизмов, вирусов, проводится таргетное секвенирование панелей генов для диагностики онкологических заболеваний, а также секвенирование древней ДНК. В ближайших планах разработка следующей модели прибора Нанофор СПС2 по своей производительности сопоставимой с приборами серии NextSeq (Иллюмина, США).

Совершенствуются наборы реагентов, ячейки и программное обеспечение для секвенирования ДНК на опытном образце аппаратно-программного комплекса одномолекулярного секвенирования АПКОС (ИАП РАН, Россия) [7]. Достигнуто эффективное включение всех четырех флуоресцентно-меченных дзета-дезоксинуклеозид гексафосфатов высокопроцессивной BioHi 2.0 ДНК полимеразой. Разработаны методики и алгоритмы контроля компонентов реакционной смеси.

Важной составляющей в развитии и расширении применения современных отечественных генетических технологий является подготовка квалифицированных кадров. В настоящее время разработаны и регулярно проводятся программы обучения как для начинающих, так и для опытных специалистов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Алексеева А.Я.* Рынок технологий геномного анализа в России. Выпускная квалификационная работа НИУ ВШЭ. 2024 г. <https://www.hse.ru/ma/bioeconomics/students/diplomas/925076947>
2. *Белов Д.А., Пушкин А.А., Алексеев Я.И.* Тенденции развития технологий высокопроизводительного секвенирования, выявленные на основе анализа наиболее релевантных патентных документов В книге: АнализБиоПрибор-2024. Тезисы докладов Третьей ежегодной всероссийской молодежной конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов. Санкт-Петербург, 2024. С. 104—107.
3. *Мелентьев П.Н., Калмыков А.С., Григченко А.С., Шеметева М.П., Сафонова А.М., Марков М.С., Балькин В.И., Букатин А.С., Ваулин Н.В., Белов Д.А., Евстапов А.А., Баклыков Д.А., Андрияш А.В., Барбашева А.А., Кузук А.К.,*

- Рыжков В.В., Родионов И.А., Кудрявцев Д.С., Можяева В.А., Сон Л.В. и др.* Оптические методы детектирования единичных биомолекул: визуализация, сенсорика, секвенирование молекул ДНК *Успехи физических наук.* 2024. Т. 194. № 11. С. 1130—1145.
4. *Веретенников А.В., Бородин А.В., Бородин В.А., Новиков А.Е., Курочкин В.Е., Алексеев Я.И.* Практика передачи опытных образцов научных приборов в серийное производство. В книге: *АналитБиоПрибор-2024. Тезисы докладов Третьей ежегодной всероссийской молодежной конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов.* Санкт-Петербург, 2024. С. 42—43.
 5. *Адельшина Э.В., Ващенко К.Д., Петров А.И., Алексеев Я.И.* Разработка алгоритма анализа размеров фрагментов геномной библиотеки и тотальной РНК в капиллярном неденатурирующем гель-электрофорезе В книге: *Аналит-БиоПрибор-2024. Тезисы докладов Третьей ежегодной всероссийской молодежной конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов.* Санкт-Петербург, 2024. С. 118—120.
 6. *Букатин А.С., Алексеев Я.И., Петров Д.Г., Курочкин В.Е., Евстратов А.А.* Импортозамещение: отечественные приборы для молекулярно-генетического анализа. *Экономические стратегии.* 2023. Т. 25. № 3 (189). С. 36—41.
 7. *Букатин А.С., Мелентьев П.Н., Алексеев Я.И.* Разработка оптического одно-молекулярного секвенатора ДНК. В книге: *Тезисы докладов Второй ежегодной всероссийской молодежной конференции по методам и приборам для анализа биологических объектов «АналитБиоПрибор-2023».* 2023. С. 20—22.

ТРАНСДУКЦИЯ INCN-ПЛАЗМИД БАКТЕРИОФАГАМИ RB43 И RB49

Ашина Н.П., Сузина Н.Е., Зимин А.А.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина
Российской академии наук — обособленное подразделение ФИЦ
«Пушкинский научный центр биологических исследований Российской
академии наук», Пушкино, Россия.
e-mail: n.ashina550@gmail.com; suzina_nataliya@rambler.ru; dr.zimin8@yandex.ru

Фаговая трансдукция крупных плазмид может быть основным путем или одним из основных путей горизонтального распространения генов резистентности в водных средах, включая природные пресные и морские воды, и различные полостные и кишечные жидкости животных и человека. Способность к переносу плазмид наблюдается с достаточно высокой частотой у морфологически и физиологически сходных бактериофагов T4-типа [*Таняшин В.И. и др.*, 2003].

В настоящее время бактериофаги широко используются как в терапии заболеваний человека и животных, вызванных различными патогенными бактериями, так и в целях контроля микробной популяции сточных вод животноводческих предприятий и аквакультуре. Однако способность фагов к горизонтальному переносу генов, таких как гены патогенеза бактерий и антибиотикорезистентности, является естественным ограничением для их применения. Например, показано, что перенос небольшой части вирусома АРЕС — патогенных штаммов *E. coli* птиц плазмидами IncF имеет решающее значение для проявления их патогенности [Apostolakis et al., 2021]. В свете таких данных очевидно, что для фаговой терапии данного заболевания выбор стоит за нетрансдуцирующими бактериофагами Т4-типа семейства *Myoviridae*, инфицирующими *Escherichia coli*.

С целью подбора системы для проверки способности выделяемых из природы Т4-бактериофагов к переносу природных плазмид, и отработки метода трансдукции этих плазмид выделенными из природы бактериофагами, нами было проведено исследование параметров трансдукции *in vitro* на примере типовых Т4-родственных бактериофагов RB43 и RB49 крупных природных плазмид IncN группы несовместимости R46 (51 т.п.н., Drabble et al., 1968; Datta et al., 1971), N3 (55.4 т.п.н., Watanabe et al., 1964, Ando, Arai, 1981) и R15-3 (63.5 т.п.н., Watanabe et al., 1964, Добрица и др., 1986), которые представляют собой R-факторы группы несовместимости IncN и характеризуются широкой распространенностью среди бактерий родов семейства *Enterobacteriaceae*.

Для получения трансдуцирующих частиц фаг RB43 выращивали на культуре клеток штамма *E. coli* C600, содержащей плазмиду R15-3. Полученным трансдуцирующим фагом заражали клетки штамма *E. coli* B834 и отбирали клоны, устойчивые к стрептомицину. Фаг RB49 выращивали на клетках *E. coli* B834, содержащих плазмиду N3. Полученными трансдуцирующими частицами заражали клетки *E. coli* B834 и получали клоны, устойчивые как к стрептомицину, так и тетрациклину. Средняя частота возникновения антибиотикоустойчивых клонов составляла 8×10^{-8} кл/мл.

Показано, что плазмидная ДНК с электрофоретической подвижностью, соответствующей подвижности исходных плазмид R15-3 и N3 присутствовала во всех исследуемых клонах, что указывает на способность псевдо Т — четных бактериофагов RB43 и RB49 передавать плазмидную ДНК в трансдуцируемые ими штаммы.

Нами также было проведено сравнение профилей гидролиза дериватов плазмид R15-3 и N3, изолированных из антибиотикоустойчивых клонов трансдуктантов, с профилями исходных плазмид с использованием

эндонуклеаз рестрикции EcoRI, HindIII и BglI. Хотя в целом профили гидролиза сходны, однако наблюдался ряд отличий, которые могут говорить о генетических перестановках вследствие трансдукционного процесса. Подтвердить это предположение мы можем с помощью секвенирования вариантов плазмид, показавших наибольшее отличие от исходных.

Таким образом в ходе данной работы была подобрана система для изучения способности выделяемых из природы Т4-бактериофагов к трансдукции на основе переноса природных плазмид, а также получены трансдуцирующие бактериофаги RB43 и RB49, содержащие крупные природы плазмиды IncN группы несовместимости R15-3 и N3.

Работа выполнена за счет проектов РНФ № 24-26-00205 и № 24-64-00017.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Tanyashin V.I., Zimin A.A. & Boronin A.M.* The Cotransduction of pET System Plasmids by Mutants of T4 and RB43 Bacteriophages. *Microbiology* 72, 694—700 (2003). <https://doi.org/10.1023/B:MICL.0000008372.06477.43>
2. *Tanyashin V.I., Zimin A.A., Shlyapnikov M.G. et al.* Transduction of Plasmid Antibiotic Resistance Determinants with PseudoT-Even Bacteriophages. *Russian Journal of Genetics* 39, 761—772 (2003). <https://doi.org/10.1023/A:1024748903232>
3. *Apostolakis I., Laconi A., Mughini-Gras L., Yapicier Ö.Ş., Piccirillo A.* Occurrence of Colibacillosis in Broilers and Its Relationship With Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) Population Structure and Molecular Characteristics. *Front Vet Sci.* 2021 Sep 8;8:737720. doi: 10.3389/fvets.2021.737720.
4. *Datta N., Hedges R.W.* Compatibility groups among fi - R factors. *Nature.* 1971 Nov 26;234(5326):222-3. doi: 10.1038/234222a0. PMID: 5002028.
5. *Drabble W.T., Stocker B.A.* R (transmissible drug-resistance) factors in *Salmonella typhimurium*: pattern of transduction by phage P22 and ultraviolet-protection effect. *J Gen Microbiol.* 1968 Aug;53(1):109-23. doi: 10.1099/00221287-53-1-109. PMID: 4878051.
6. *Watanabe T., Nishida H., Ogata C., Arai T. and Sato S.* Episome-mediated transfer of drug resistance in *Enterobacteriaceae*, VII. Two types of naturally occurring R factors. *J. Bacteriol.*, 1964, Sep;88(3):716-26. doi: 10.1128/jb.88.3.716—726.1964.
7. *Ando T., Arai T.* Genetic structure of the IncN plasmid N3. *Plasmid.* 1981 Nov;6(3):293—301. doi: 10.1016/0147-619x(81)90037-8.
8. *Dobritsa A.P., Dergunova L.V., Mikhailova T.G., Zimin A.A.* Sravnitel'nyĭ analiz plazmid N, P i W grupp nesovmestimosti [Comparative analysis of the structure of incompatibility plasmids N, P and W]. *Mol Gen Mikrobiol Virusol.* 1987 Dec;(12):3—11. Russian. PMID: 2833696.
9. *Wood W.B.* Host specificity of DNA produced by *Escherichia coli*: bacterial mutations affecting the restriction and modification of DNA. *J Mol Biol.* 1966 Mar;16(1):118-33. doi: 10.1016/s0022-2836(66)80267-x.

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ И ДИНАМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФРАГМЕНТА *appY* ДНК *ESCHERICHIA COLI*, ИНТЕГРИРОВАННОГО В ПЛАЗМИДУ pPF1

Гриневич А.А., Масулис И.С., Якушевич Л.В.

Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Россия.
e-mail: grin_aa@mail.ru

Известно, что динамические и физико-химические свойства ДНК определяют связывание с ее функциональными последовательностями различных белков, для которых эти последовательности являются целевыми [1]. Так, для прокариот факторы транскрипции и РНК полимеразы связываются с промоторной последовательностью в ДНК для транскрибирования генетической информации. Считается, что динамика оснований молекулы ДНК играет важную роль в инициации и регуляции транскрипции [2, 3]. В инициации транскрипции ключевым моментом является процесс плавления ДНК, который приводит к формированию транскрипционного пузыря. Фундаментальной особенностью этого процесса является разрыв водородных связей между комплементарными основаниями и образование открытых состояний в двойной спирали. Важно понимать вклад динамики оснований в аспекте их механических свойств, характеризующихся кинетической энергией и потенциальной энергией взаимодействия с другими основаниями и окружающим раствором/средой, в формирование открытых состояний в промоторной области ДНК и в их распространение по молекуле.

Ранее в экспериментах с генетической конструкцией, полученной путем встраивания регуляторной части гена *appY* *E. coli* (от -251 до +144 относительно иницирующего ATG кодона) в репортерную плазмиду pPF1 [4], позволяющую регистрировать транскрипцию в двух направлениях, в область между генами флуоресцентных белков *mCherry* (красный белок), расположенного на основной нити, и *Egfp* (зеленый белок), расположенного на комплементарной нити, с помощью метода обратной транскрипции (реакция удлинения праймера) был выявлен 1 промотор с точкой старта в -81 положении относительно ATG кодона *appY*. Промотор был расположен на основной нити и инициировал транскрипцию в конструкции в направлении гена *mCherry*, совпадающем с направлением в *E. coli* в сторону гена *appY*. Он оказался единственным активным промотором на основной нити из множества потенциальных промоторов, находящихся на этом участке, судя по компьютерному предсказанию на основе текстового анализа последовательности [5].

Промотор «выключался» при мутации в его -10 области (ТАТААА на CGCAAA) и повышал свою активность при помещении плазмиды в штамм с повышенным уровнем отрицательной суперспирализации (мутация по гену топоизомеразы A).

Цель работы, используя математическую модель ДНК, учитывающую механические свойства оснований, построить энергетические профили формирования открытых состояний и проанализировать их динамику в плазмиде pPF1 со встроенным фрагментом из регуляторной части гена *appY* *E. Coli* с учетом влияния мутации и суперспирализации для случая с одним промотором.

Для моделирования открытых состояний в генетической конструкции, описанной выше, использовалась математическая модель, учитывающая вращательную динамику оснований вокруг сахарофосфатного остова в неоднородной ДНК. Основное уравнение модели имеет вид:

$$I(z) \frac{\partial^2 \phi}{\partial t^2} - K'(z) a^2 \frac{\partial^2 \phi}{\partial z^2} + V(z) \sin(\phi) - \frac{K'(z) a^2}{R(z)} \left(2 \frac{\partial \phi}{\partial z} \frac{\partial R}{\partial z} + \phi \frac{\partial^2 R}{\partial z^2} \right) + \lambda(z) \frac{\partial \phi}{\partial t} = M(z, t).$$

Здесь ϕ — угол отклонения оснований от положения равновесия, I — момент инерции основания, K' — крутильная жесткость сахаро-фосфатного остова, V — потенциал взаимодействия между комплементарными парами, R — радиус основания, λ — коэффициент трения, M — торсионный момент.

Уравнение имеет односолитонное решение в виде кинка. Кинк рассматривался как математический образ открытого состояния в ДНК.

Для исследования динамических свойств генетической конструкции ее последовательность разбивалась на области с функционально значимыми участками. По результатам численных расчетов были получены энергетические профили исследуемой конструкции, характеризующие энергию активации кинка, и оценены энергетические барьеры с учетом мутации в -10 области промотора и без нее. Показано, что наиболее глубокая энергетическая яма на основной нити формировалась в области промотора. При мутации глубина энергетической ямы в области промотора снижалась, а при рассмотрении ширины области, соответствующей транскрипционному пузырю (около 17 п.о.), там формировался барьер. Это согласуется с экспериментальными данными наличия активного промотора в исследуемом фрагменте и его «выключения» при мутации. На комплементарной нити, в области рассматриваемого промотора, также формировалась энергетическая яма еще более глубокая. Однако, полученной экспериментально точки старта транскрипции в этой области на комплементарной нити обнаружено не было.

Динамика движения открытых состояний вдоль молекулы ДНК анализировалась с помощью построения траекторий кинков для различных значений торсионного момента. Последний отражал разные значения отрицательной суперспирализации ДНК. Показано, что увеличение торсионного момента приводит к увеличению скорости движения кинка в направлении гена красного белка. Это можно рассматривать как увеличение скорости транскрипции за счет более быстрого движения транскрипционного пузыря, что соответствует экспериментальным данным по увеличению активности промотора в рассматриваемой конструкции.

Таким образом, используемая математическая модель ДНК показала: 1) более выгодные энергетические условия для формирования открытого состояния в области промотора по отношению к остальной последовательности анализируемого фрагмента из регуляторной части гена *appY*; 2) снижение этой выгоды при мутации в -10 области промотора; 3) увеличение скорости движения открытого состояния вдоль молекулы ДНК при увеличении отрицательной суперспирализации. Эти результаты хорошо согласуются с экспериментальными данными, что свидетельствует о значимом вкладе вращательно динамики оснований в процесс транскрипции. Однако, не все результаты моделирования соответствуют данным, наблюдаемым в эксперименте. Это может быть следствием упрощенного рассмотрения структуры ДНК и взаимодействующих в ней элементов, и требует дальнейшего развития модели, например, явного учета взаимодействия между вращательными колебаниями оснований в основной и комплементарной цепочках молекулы.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Shvets A.A., Kochugaeva M.P., Kolomeisky A.B.* Mechanisms of Protein Search for Targets on DNA: Theoretical Insights. *Molecules*. 2018 Aug 22;23(9):2106.
2. *Duzdevich D., Redding S., Greene E.C.* DNA dynamics and single-molecule biology. *Chemical Reviews*. 2014, Vol. 114, P. 3072—3086.
3. *Yakushevich L.V., Krasnobaeva L.A.* Ideas and methods of nonlinear mathematics and theoretical physics in DNA science: the McLaughlin-Scott equation and its application to study the DNA open state dynamics. *Biophysical Reviews*. 2021, Vol. 13, P. 315—338.
4. *Masulis I.S., Babaeva Z.Sh., Chernyshov S.V., Ozoline O.N.* Visualizing the activity of Escherichia Coli divergent promoters and probing their dependence on superhelical density using dual-color fluorescent reporter vector. *Scientific Reports*, 2015, Vol. 5, P. 11449.
5. *Shavkunov K.S., Masulis I.S., Tutukina M.N., Deev A.A., Ozoline O.N.* Gains and unexpected lessons from genome-scale promoter mapping. *Nucleic Acids Research*. 2009. 37:4919—4931.

ДОЛГОЛЕТИЕ В РФ: КОМПЛЕКСНЫЙ АНАЛИЗ СРЕДОВЫХ, СОЦИО-ЭКОНОМИЧЕСКИХ, КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Даниэль В.В.¹, Капитанова Д.А.¹, Мамчур А.А.¹, Иванов М.В.¹, Зеленова Е.А.¹, Бруттан М.В.¹, Джуманиязова И.Х.¹, Маткава Л.Р.¹, Терехов М.В.¹, Румянцева А.М.¹, Грамматикати К.С.¹, Митрофанов С.И.¹, Юдин В.С.¹, Максютин В.В.¹, Маралова Е.Д.¹, Ивашечкин А.А.¹, Некрасова А.И.¹, Стражеско И.Д.², Макаров В.В.¹, Кескинов А.А.¹, Ткачева О.Н.², Юдин С.М.¹, Скворцова В.И.³

- ¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России), Москва, Россия;
 - ² ОСП «Российский геронтологический научно-клинический центр» ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет), Москва, Россия;
 - ³ Федеральное медико-биологическое агентство (ФМБА России), Москва, Россия.
- * Автор, ответственный за переписку, Даниэль Вероника Вячеславовна.
e-mail: VDaniel@cspfmbaru

В настоящее время все больше людей достигают долголетия, что связано как с воздействием внешней среды и образом жизни, так и с молекулярно-генетическими процессами. Однако как в России, так и за рубежом, количество масштабных исследований, которые охватывали бы многочисленные факторы, способствующие долголетию довольно ограничено. Особенно мало таких исследований используют мультиомиксный подход, объединяющий геномные, эпигеномные, транскриптомные и метагеномные данные. В ФГБУ «ЦСП» ФМБА России и ОСП РГНКЦ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России на протяжении 5 лет проводилось исследование феномена долголетия в РФ, с помощью интегративного анализа факторов образа жизни, окружающей среды, социо-экономических, клинико-лабораторных, а также молекулярно-генетических факторов. За это время была собрана уникальная коллекция из более чем 20 000 биологических образцов долгожителей с детализированным анамнезом для каждого участника. В исследование были включены более 5000 долгожителей из 10 субъектов Российской Федерации, что делает его одним из крупнейших в мире. У каждого участника проводилось тщательное изучение анамнести-

ческих данных, комплексная гериатрическая оценка, широкий спектр клинико-лабораторных и молекулярно-генетических исследований.

Комплексный подход к исследованию долголетия позволил выявить основные фенотипы старения, их клинико-лабораторные маркеры и соответствующие факторы окружающей среды и образа жизни. Долгосрочный характер исследования позволил определить факторы, связанные со смертностью долгожителей по различным причинам, включая Covid-19. Полногеномное секвенирование нуклеиновых кислот дало возможность оценить молекулярно-генетические факторы феномена долголетия (в GWAS было выявлено 86 генетических маркеров долголетия, 2 из которых находились в кодирующей области гена APOE), так и социально значимых гериатрических синдромов, таких как когнитивные нарушения (порог полногеномной значимости преодолели 19 вариантов, некоторые из которых также располагались в гене APOE). Результаты полногеномных исследований послужили основой для создания полигенных шкал, позволяющих прогнозировать риски опасных состояний: с точностью 69% для риска когнитивных нарушений у долгожителей и 78% для оценки вероятности достижения возраста долголетия. Валидация результатов проводилась на независимых когортах, а также на *in vitro* и *in vivo* моделях. Кроме того, исследуются и эпигенетические аспекты долголетия. Анализ метилирования ДНК позволил разработать инструмент для оценки биологического возраста с точностью 95%.

Такой комплексный подход, учитывающий как мультиомиксные, так и клинические данные, даст возможность создать наиболее эффективные модели прогнозирования возраст-ассоциированных заболеваний и оценки биологического возраста, что поможет глубже разобраться в основах долголетия и улучшить качество оказания медицинской помощи.

СЕКВЕНИРОВАНИЕ — 2025

Зубов В.В.

Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия.
e-mail: genseq@mail.ru

Секвенирование ДНК — ключевая технология в современной биологии и медицине. С начала века стоимость секвенирования генома человека (WGS — Whole Genome Sequencing) снизилась с миллиардов долларов до уровня, доступного для массового применения. Этот прогресс стал возможен благодаря конкурентной борьбе между компаниями, разрабатывающими инновационные методы и оборудование. Доклад анализирует этапы развития технологий, ключевых игроков рынка и перспективы снижения стоимости WGS до 10 долларов США.

Первый геномный секвенатор (пиросеквенатор GS 20 System), разработанный компанией 454 Life Sciences, появился в продаже в 2005 г. Благодаря этому стоимость секвенирования генома человека уменьшилась примерно до 1 миллиона долларов. Но уже в 2007 г. начались продажи первого флуоресцентного секвенатора 1G, работающего по технологии SBS (sequencing by synthesis), а через год — улучшенной версии этого прибора (GA II). В результате стоимость WGS понизилась до 80 000 долларов. И вскоре после этого начались геномные гонки — острая конкурентная борьба между разработчиками новых технологий секвенирования ДНК и новых секвенаторов.

В геномных гонках приняли участие около десятка крупных компаний, которым удалось вывести свои разработки на рынок, и больше двух десятков мелких, застрявших на стадии НИР. В период с 2009 по 2015 год лидерами этих гонок были компании 454 Life Sciences (Roche), Illumina, Applied Biosystems (Life Technologies), Helicos, Ion Torrent (ThermoFisher Scientific), Complete Genomics (BGI/MGI) и Pacific Biosciences, но некоторые из них продержались не долго. Очень быстро выбыла из борьбы компания Helicos (технология tSMS). К 2016 году не выдержали конкуренцию технология пиросеквенирования (454 Life Science/Roche) и лигазная технология секвенирования (Applied Biosystems/Life Technologies).

В последние годы конкуренция в этой области обострилась, и сейчас в США насчитывается несколько компаний, выпускающих различные флуоресцентные секвенаторы. А в Великобритании компании ONT (Oxford Nanopore Technologies) удалось повысить точность нанопорового секвенирования до уровня лучших мировых стандартов.

В Китае первоначальное массовое копирование американских технологий стимулировало развитие собственных разработок. В результате несколькими компаниям удалось разработать секвенаторы, не уступающие по точности и производительности американским. А в сентябре 2024 г. компания BGI объявила о том, что ей удалось уменьшить стоимость WGS до 100 долларов. И её главной задачей стало снижение стоимости WGS до 10 долларов.

Стоимость геномных секвенаторов, в которых используются флуоресцентные технологии, измеряется обычно сотнями тысяч долларов. Причём из-за дороговизны прецизионной оптики и прочих комплектующих их себестоимость ненамного меньше. Не дешёвы и их расходные реагенты. Поэтому перспективы снижения стоимости секвенирования сейчас определяются развитием нанопоровой технологии секвенирования, отличающейся низкой себестоимостью как самих секвенаторов, так и их расходных реагентов. Но главным достоинством данной технологии является возможность повышения как качественных, так и количественных параметров нанопорового секвенирования.

Сейчас ведущим разработчиком нанопоровых секвенаторов является британская компания ONT, но в Китае насчитывается не менее семи компаний, занимающихся аналогичными разработками, причём пять из них анонсировали или уже приступили к продаже своих нанопоровых секвенаторов. Некоторые подвижки в этой области отмечаются и в России (ООО «Нанопорус»). А в феврале 2025 г. компания Roche представила нанопоровый секвенатор для экспрессного (меньше часа) секвенирования генома человека.

Секвенирование ДНК выходит на новый уровень доступности, что преобразует биомедицину и биотехнологии. Нанопоровые технологии и конкуренция между компаниями ускоряют этот процесс. В результате уже в ближайшие годы мир может приблизиться к эре «\$10-генома», что сделает персонализированную медицину стандартом. Однако для этого потребуются решить множество технических проблем, а также обеспечить глобальную доступность технологий.

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ИНФЕКЦИИ COVID-19 ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ НА МИКРОБИОМ БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН И ИХ МЛАДЕНЦЕВ

Игнатъева О.А.^{1}, Даниэль В.В.^{1*}, Зеленова Е.А.¹, Чердакли А.А.¹,
Болашова Е.С.¹, Маткава Л.Р.¹, Шегурова А.Ф.¹, Волков М.А.¹,
Загайнова А.В.¹, Капитанова Д.А.¹, Иванов М.В.¹, Бембеева Б.О.²,
Зубков В.В.², Гордеев А.Б.², Припутневич Т.В.², Юдин В.С.¹, Макаров В.В.¹,
Кескинов А.А.¹, Краевой С.А.¹, Юдин С.М.¹, Скворцова В.И.³*

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России), Москва, Россия;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России), Москва, Россия;

³ Федеральное медико-биологическое агентство (ФМБА России), Россия.

* Авторы с равноценным вкладом.

Пандемия COVID-19 оказала значительное влияние на здоровье населения всего мира. Широко признано, что COVID-19 связан с дисбактериозом в различных системах органов, таких как желудочно-кишечный тракт [1], дыхательная система [2] и мочеполовая система [3]. SARS-

CoV-2 может нарушать микробиом и приводить к различным проблемам со здоровьем. Более того, эти изменения носят долгосрочный характер даже при легком и бессимптомном течении инфекции [4]. Подобное воздействие представляет особую опасность для беременных женщин и их детей, поскольку микробиом матери является основным источником микробной колонизации у новорожденных [5]. Любые негативные изменения микробиоты матери, независимо от их причины, могут повлиять на становление нормальной микробиоты у новорожденного и определять его общее здоровье на многие годы вперед [6].

В исследовании приняли участие 94 пары мать—младенец, где матери во время беременности перенесли инфекцию COVID-19 (группа «случай»), а также 44 новорожденных, набор которых проводился до пандемии COVID-19 в 2018 году (группа «контроль»). Образцы кала женщин отбирали до родов, а младенцев в обеих группах на 5—7-й день после рождения. ДНК выделяли с помощью набора QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit (Qiagen). Далее проводили секвенирование регионов V3-V4 гена 16S рРНК на MiSeq (Illumina) с помощью набора реагентов MiSeq Reagent kit v2 (500 циклов); покрытие 1 образца составляло 100 000 прочтений. Обработка прочтений проводилась с помощью QIIME2, анализ видовой представленности — с использованием инструмента ANCOM-BC2. Для оценки бета-разнообразия рассчитывали несходство Брея—Кертиса и расстояние UniFrac с использованием NMDS в качестве градиентного анализа. Для анализа альфа-разнообразия проводился расчет индексов Шеннона и Чао. При всех расчетах делали поправки на пол ребенка, гестационный возраст, тип родоразрешения и прием антибиотиков женщиной во время беременности.

Анализ кала младенцев показал, что индексы Шеннона и Чао были достоверно ниже у младенцев из группы «случай» ($p = 1,5e-05$ и $p = 0,0029$ соответственно). Несходство Брея—Кертиса показало, что образцы фекалий младенцев в группе «случай» значительно отличались друг от друга, в то время как образцы фекалий младенцев из группы «контроль» были более схожи. Образцы фекалий младенцев, подвергшихся воздействию SARS-CoV-2 пренатально, продемонстрировали значительно более высокую вариабельность микробного состава, чем образцы фекалий младенцев, которые не подвергались воздействию SARS-CoV-2 ($p = 0,03211$). В группе «случай» представленность таксонов *Bifidobacterium* и *Staphylococcus* была в значительной мере снижена ($p = 0,0049$ и $p = 0,0295$ соответственно), в то время как представленность *Rothia* и *Enterococcus* была повышена ($p = 0,0026$ и $p = 0,0049$ соответственно). Время пренатального контакта с SARS-CoV-2 (триместр беременности) не оказывало существенного влияния на таксономический состав микробиома кишечника младенцев.

Сравнение индексов Шеннона и Чао в образцах кала, взятых перед родами у беременных женщин, которые заразились SARS-CoV-2 в разных триместрах беременности, с использованием дисперсионного анализа Анова не выявило значимых различий ($p = 0,32$ и $p = 0,059$ соответственно). Несходство Брея—Кертиса не показало существенной разницы между образцами кала беременных женщин, заразившихся SARS-CoV-2 в первом, втором или третьем триместре ($p = 0,166$), в то время как анализ UniFrac выявил отчетливую кластеризацию образцов в зависимости от сроков заражения ($p = 0,049$).

Таким образом, COVID-19, по всей видимости, способен оказывать длительное негативное воздействие на микробиоту беременных женщин и, как следствие, их младенцев. Это усугубляет последствия болезни, учитывая неоспоримо важную роль ранней микрофлоры кишечника в развитии ребенка. Дальнейшие исследования, особенно долговременные, позволят лучше понять механизмы, лежащие в основе негативных последствий COVID-19, и его долгосрочное влияние на микробиом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zuo T., Zhan H., Zhang F., Liu Q., Tso E.Y.K., Lui G.C.Y., Chen N., Li A., Lu W., Chan F.K.L., Chan P.K.S., Ng S.C. Alterations in Fecal Fungal Microbiome of Patients With COVID-19 During Time of Hospitalization until Discharge. *Gastroenterology*. 2020 Oct; 159(4):1302—1310.e5. doi: 10.1053/j.gastro.2020.06.048. Epub 2020 Jun 26. PMID: 32598884; PMCID: PMC7318920.
2. Xie L., Luo G., Yang Z., Wu W.C., Chen J., Ren Y., Zeng Z., Ye G., Pan Y., Zhao W.J., Chen Y.Q., Hou W., Sun Y., Guo D., Yang Z., Li J., Holmes E.C., Li Y., Chen L., Shi M. The clinical outcome of COVID-19 is strongly associated with microbiome dynamics in the upper respiratory tract. *J Infect*. 2024 Mar;88(3):106118. doi: 10.1016/j.jinf.2024.01.017. Epub 2024 Feb 10. PMID: 38342382.
3. Celik E., Ozcan G., Vatansever C., Paerhati E., Kuşkuçcu M.A., Dogan O., Cekic S.G., Ergonul O., Gürsoy A., Keskin Ö., Can F. Alterations in vaginal microbiota among pregnant women with COVID-19. *J Med Virol*. 2023 Jan;95(1):e28132. doi: 10.1002/jmv.28132. Epub 2022 Sep 16. PMID: 36068653; PMCID: PMC9538183.
4. Zhang D., Zhou Y., Ma Y., Chen P., Tang J., Yang B., Li H., Liang M., Xue Y., Liu Y., Zhang J., Wang X. Gut Microbiota Dysbiosis Correlates With Long COVID-19 at One-Year After Discharge. *J Korean Med Sci*. 2023 Apr 17;38(15):e120. doi: 10.3346/jkms.2023.38.e120. PMID: 37069814; PMCID: PMC10111044.
5. Browne H.P., Shao Y., Lawley T.D. Mother-infant transmission of human microbiota. *Curr Opin Microbiol*. 2022 Oct;69:102173. doi: 10.1016/j.mib.2022.102173. Epub 2022 Jul 1. PMID: 35785616.
6. Yao Y., Cai X., Ye Y., Wang F., Chen F., Zheng C. The Role of Microbiota in Infant Health: From Early Life to Adulthood. *Front Immunol*. 2021 Oct 7;12:708472. doi: 10.3389/fimmu.2021.708472. PMID: 34691021; PMCID: PMC8529064.

ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОИЗВОДСТВА ЛЕНТИВИРУСНЫХ ВЕКТОРОВ В НЕПРОМЫШЛЕННЫХ УСЛОВИЯХ ДЛЯ ВНЕДРЕНИЯ ТЕРАПИИ CAR-T В РАЗВИВАЮЩИХСЯ СТРАНАХ

Кер В.В.¹, Зарипов М.², Шустов А.В.^{1}*

- ¹ Национальный центр биотехнологии, Астана, Республика Казахстан;
² Институт теоретической и экспериментальной биофизики, Пущино, Россия.
* e-mail: shustov@biocenter.kz

Технология терапии Т-клетками с химерным антигенным рецептором (CAR-T) была названа «Прорывом года» журналом *Science* в 2013 году. За небольшое время от получения первого одобрения регулятором (FDA) в 2017 г. и до 2025 г. CAR-T произвела революцию в лечении гематологических злокачественных новообразований, включая лейкоз, лимфому и миелому. Под революцией имеется ввиду тот факт, что CAR-T эффективна для достижения ремиссии у пациентов, у которых стандартная терапия оказалась безрезультатной, и значительное число (50—80%) таких пациентов после CAR-T показывают длительные ремиссии без минимальной резидуальной болезни, что часто означает полное выздоровление.

CAR-T относится к классу адаптивной клеточной иммунотерапии и, судя по темпам внедрения в клинику, является наиболее широко применяемой технологией среди методов генной и клеточной терапии (CGT). Кроме того, CAR-T стала первой медицинской технологией, основанной на использовании генетически модифицированных клеток человека, которая получила широкое клиническое применение.

Согласно опубликованным оценкам, в 2024 г. CAR-T-терапию получили несколько десятков тысяч пациентов по всему миру. Однако большинство применений CAR-T приходится на страны с высоким по мировым меркам доходом на душу населения, высокоразвитой системой здравоохранения и инновационной биомедициной, тогда как в развивающихся странах и государствах бывшего СССР суммарное число пациентов, получивших CAR-T с 2017 г. (с первого клинического одобрения), пока не достигает и 1000.

Внедрение терапии CAR-T в развивающихся странах сталкивается с множеством препятствий. Одним из препятствий является глобальный дефицит лентивирусных и ретровирусных векторов, необходимых для генетической модификации Т-лимфоцитов пациента и их превращения в терапевтические CAR+ клетки. Вирусный вектор с характеристиками для клинического применения представляет собой продукт, произведён-

ный в соответствии с требованиями надлежащей производственной практики (GMP) и имеющий подтверждённую историю успешного применения для создания клеточных препаратов, использованных в терапии.

Организация непромышленного (на базе существующих биотехнологических лабораторий) производства вирусных продуктов для технологии CAR-T, с нужными характеристиками (титр $\sim 10^8$ трансдуцирующих единиц (TU) в 1 мл и выход не ниже 10^9 TU на наработку) открывает путь к локальному производству терапевтических клеток, что является единственным экономически возможным способом сделать терапию CAR-T доступной для пациентов в развивающихся странах. Авторы модифицировали метод трансфекции тремя плазмидами (вектор переноса, упаковочный хелпер (GAG-POL) и плазида с геном VSV-G) для производства упакованного вектора в 5-полочных клеточных фабриках, которые засеваются с высокой плотностью ($100,000$ клеток/ cm^2). Было обнаружено, что метод копреципитации с фосфатом кальция подходит для трансфекции культур клеток с высокой плотностью, что является необходимым условием для получения высоких титров. Концентрирование с помощью ультрацентрифугирования приводит к получению вектора с титром $>10^8$ TU/мл.

НАНОПОРОВОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ДНК БЕЗ ДНК. ROCHE ПРЕДСТАВЛЯЕТ SEQUENCING-BY-EXPANSION

Клещенко Е.В.

PCR.news.

e-mail: klesch990@gmail.com

Компания Roche в феврале 2025 года объявила, что запуск ее платформы нанопорового секвенирования Sequencing-by-Expansion (SBX) состоится в 2026 году. Работа над этой технологией продолжалась более десяти лет.

В 2014 году, Roche инвестировала 5 млн долларов в компанию Stratos Genomics из Сиэтла для разработки химии SBX, и затем еще 10 млн долларов, когда Stratos достигла «определенных технических вех». В том же 2014 году Roche приобрела компанию Genia за 350 млн долларов; ее полупроводниковый чип наряду с химией SBX лег в основу новой платформы. Roche заявила о приобретении Stratos в мае 2020 года. Химию SBX создали соучредители Stratos Марк Кокорис и Роберта Макруэра.

Технология SBX достаточно необычна. Этапу нанопорового секвенирования в ней предшествует этап синтеза: на матрице ДНК-мишени строится молекула, которая уже не является ДНК и примерно в 50 раз длиннее матрицы. Разработчики назвали эту молекулу Xpandomer (икспандомер, Хр).

В ходе «классического» нанопорового секвенирования молекула ДНК или РНК проходит через пору в мембране, разделяющую два резервуара с раствором, — из резервуара с отрицательным потенциалом в резервуар с положительным. При этом можно зарегистрировать изменения тока, так как нуклеотиды блокируют перемещение ионов через пору. Анализ изменений позволяет восстановить последовательность нуклеотидов. Однако различия в геометрии нуклеотидов не очень велики, поэтому точность секвенирования с самого начала была слабым местом нанопора.

Эту проблему решает синтез Хр. Высокоинженерная ДНК-полимераза (Хр-синтаза) строит комплементарную матричную нить не из обычных нуклеотидов, а из X-NTPs. Каждый из этих мономеров похож на нуклеотидтрифосфат, к которому прикреплена в двух точках (к первой фосфатной группе и азотистому основанию) сложенная в виде шпильки полимерная молекула. К каждому из четырех нуклеотидов присоединяется свой полимерный участок с характерным строением. На верхушке шпильки находится объемная боковая группа — разветвленная структура, которая называется «элемент контроля трансляции» (ТСЕ).

В итоге на матрице синтезируется молекула, имеющая вид «ламповой щетки» — с боковыми петлями полимеров на каждом нуклеотиде. Это и есть Xpandomer. В каждом нуклеотиде X-NTP атом кислорода между остатком дезоксирибозы и первой фосфатной группой заменен на NH-группу, так что связь между азотом и фосфором может быть расщеплена кислотой. Цикл размыкается, и образуется линейная полимерная последовательность, в которой чередуются полимерные фрагменты четырех типов, в соответствии с последовательностью нуклеотидов ДНК-матрицы.

При прохождении молекулы Хр нужно направить в пору на мембране в полной мере выявляется преимущество новой технологии. Полимерные участки, из которых состоит Xpandomer (авторы назвали их Symmetrically Synthesized Reporter Tethers, или SSRT), отличаются «толщиной» за счет различного количества боковых групп, поэтому перепады тока в нанопоре различаются четко и легко интерпретируются. Кроме того, ТСЕ — разветвленная группа в каждом SSRT — настолько велика, что задерживает молекулу в поре на время, достаточное, чтобы зафиксировать изменения тока. Группы ТСЕ последовательно «протаскивают» через пору регулярными короткими импульсами повышенного напряже-

ния на электродах. Все это делает процесс высококонтролируемым и облегчает интерпретацию измерений ионного тока.

Для сборки X-NTP и других молекул сложного строения, необходимых для синтеза Хр, разработчики использовали подходы клик-химии. Синтез происходит на специально разработанных чипах. Фермент Хр-синтаза был получен из ДНК-полимеразы Dpo4 термофильной археи *Sulfolobus solfataricus*, которая изначально могла работать с объемными структурами вместо обычных тринуклеотидов.

Приборы для SBX-секвенирования поддерживают два режима: симплексный, с высокой пропускной способностью, и дуплексный, с повышенной точностью (качество полногеномного секвенирования до Q39). Подготовка дуплексной библиотеки требует 20—50 нг нефрагментированной геномной ДНК или 2,5—10 нг бесклеточной ДНК. Длины ридов составляют 150—350 пар оснований для дуплексного секвенирования и от 200 до более 1000 — для симплексного секвенирования.

На вебинаре, который Roche провела в феврале, Марк Кокорис подчеркнул, что рабочий процесс SBX совместим с автоматизацией, и пользователи могут преобразовать для этой технологии свои библиотеки Illumina.

Roche уже предоставила платформы SBX партнерам раннего доступа. Стоимость оборудования пока не раскрывается.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Mark Kokoris, Robert McRuer, et al.* Sequencing by Expansion (SBX) — a novel, high-throughput single-molecule sequencing technology // BioRxiv, 2025. DOI: 10.1101/2025.02.19.639056.
2. Introducing sequencing by expansion (SBX): a versatile, high-throughput single-molecule sequencing technology // <https://sequencing.roche.com/us/en/videos/webinar-sequencing-by-expansion-technology.html>

ОТ МИКРОСКОПА К МЕТАГЕНОМИКЕ: ЭВОЛЮЦИЯ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ПОЧВЕННОГО МИКРОБИОМА

Кочаровская Ю.Н.^{1,2}, Богун А.Г.¹, Делеган Я.А.^{1,2}

¹ Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушино, Россия;

² Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия.

e-mail: kocharovskayaj@mail.ru

Микроорганизмы почвы играют важную роль в разложении и циркуляции веществ в экосистемах. Они несут ответственность за здоровье и питание растений и оказывают влияние на структуру

и фертильность почвы [1, 2]. Согласно Singh с соавт. [3] микроорганизмы представляют собой диверсифицированную группу организмов и составляют около 60% биомассы Земли, из которой почвенная среда населяется примерно $4\text{--}5 \times 10^{30}$ микробными клетками. Это огромное количество микроорганизмов делает почву неизведанным резервуаром генетического разнообразия. Согласно литературным данным, подсчитано, что 1 г почвы населяют примерно $10^7\text{--}10^9$ микроорганизмов, включая бактерии и грибы [3, 4, 5]. Необходимость изучения генетического разнообразия почвенной микробиоты является проблемой для сегодняшней науки и вопросом высокого приоритета. В основном это связано с растущим загрязнением почвы, возникающим в результате антропогенных источников и глобальных изменений климата, а также с другими биотическими и абиотическими факторами, которые могут модифицировать состав микробиома [2].

Первые исследования почвенного микробиома основывались на культивировании микроорганизмов *in vitro* и микроскопических наблюдениях. Стандартная методика культивирования включает селективный высев, прямой подсчет жизнеспособных колоний/клеток и характеристику микроорганизмов в лабораторных условиях [6]. Микроскопия, в свою очередь, позволяет визуализировать морфологию микроорганизмов, но не предоставляет информации о таксономической принадлежности или функциональной активности. Основным ограничением культуральных методов является то, что большая часть почвенных микроорганизмов (>99%) не может быть культивирована в лабораторных условиях. Чтобы преодолеть данную проблему, в настоящее время для оценки биоразнообразия почвы применяют подходы, основанные на анализе нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), извлеченных непосредственно из почвы [7]. Превосходство генетических методов по сравнению с традиционными связано с тем фактом, что они не требуют культуры *in vitro*. Вышеупомянутый подход революционизировал концепцию определения микробного и экологического разнообразия почвы, и в настоящее время он является основным инструментом молекулярной биологии.

Ключевым моментом в определении микробного разнообразия почвы является извлечение ДНК почвы в соответствующем количестве и качестве. Выделение ДНК считается сложной процедурой из-за того, что почва является сложной матрицей, содержащей гуминовые кислоты и различные примеси [7]. Гуминовые кислоты заслуживают особого внимания, так как они могут не только ингибировать процедуру выделения ДНК, но и в дальнейшем влиять на эффективность ПЦР реакции [8].

Исторические, но все еще применяемые, подходы к определению разнообразия микробных сообществ почв основаны на исследованиях части разнообразия, например метод фингерпринта (DGGE, t-RFLP, SSCP) [9]. В настоящее время методы секвенирования являются более привлекательными для анализа микробных сообществ, позволяющие провести полный анализ микробиома, включающих метабаркодирование и метагеномику [10, 11]. Секвенирование ампликонов гена 16S рРНК и региона ITS [11] позволяет определять таксономический состав микробных сообществ с высоким разрешением. Однако, эти методы столкнулись с проблемой предвзятости праймеров, артефактов ПЦР и наличия реликтовой ДНК, что приводит к завышению оценки микробного разнообразия и искажению результатов. Shotgun-метагеномика предоставляет возможность анализа всего генетического материала, присутствующего в почве, что позволяет идентифицировать миллионы уникальных генов. Тем не менее, все еще большая часть полученных последовательностей не может быть аннотирована из-за пробелов в существующих базах данных.

Подводя итог, все вышеупомянутые аспекты подтверждают тот факт, что существует постоянная потребность в модификации, модернизации и разработке методов и инструментов, полезных для анализа генетического микробного разнообразия почвы. Другим важным аспектом, который необходимо обновлять и улучшать, являются биоинформатические и статистические методы, которые будут информировать о биологическом состоянии почвы с еще большей точностью. Также важно провести комплексный мониторинг почвы в сочетании с метагеномикой, метатранскриптомикой и метаболомикой, которые дадут полную картину функционирования микроорганизмов в почве. Наконец, современные методы должны быть более удобными, распространенными и доступными для заинтересованных исследователей.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Cornea C.P., Voaides C., Ciuca, M., Stan V., Gament E., Razec I., Duşa M.* Molecular Methods for Assessment the Bacterial Communities from Different Type of Soils in Romania. Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca 2011, 39, 64—70.
2. *Wolejko E., Jabłońska-Trypuć A., Wydro U., Butarewicz Z.A., Łozowicka B.* Soil biological activity as an indicator of soil pollution with pesticides — A review. Appl. Soil. Ecol. 2020, 147, 103356.
3. *Singh B.K., Campbell C.D., Sorenson S.J., Zhou J.* Soil genomics. Nat. Rev. Microbiol. 2009, 7, 756.
4. *Kaden R., Krolla-Sidenstein P.* How to Show the Real Microbial Biodiversity? A Comparison of Seven DNA Extraction Methods for Bacterial Population Analyses in Matrices Containing Highly Charged Natural Nanoparticles. Microorganisms 2015, 3, 695—706.

5. *Daniel R.* The metagenomics of soil. *Nat. Rev. Microbiol.* 2005, 3, 470—478.
6. *Kirk J.L., Beaudette L.A., Hart M., Moutoglis P., Klironomos J.N., Lee H. et al.* Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods.* 2004;58(2):169—188. DOI:10.1016/j.mimet.2004.04.006.
7. *Verma S.K., Singh H., Sharma P.C.* An improved method suitable for isolation of high-quality metagenomic DNA from diverse soils. *3 Biotech* 2017, 7, 171. 2.
8. *Delmont T.O., Robe P., Clark I., Simonet P., Vogel T.M.* Metagenomic Comparison of Direct and Indirect Soil DNA Extraction Approaches. *J. Microbiol. Methods* 2011, 86, 397—400.
9. *Smalla K., Oros-Sichler M., Milling A., Heuer H., Baumgarte S., Becker R., Neuber G., Kropf, S., Ulrich A., Tebbe C.C.* Bacterial diversity of soils assessed by DGGE, T-RFLP and SSCP fingerprints of PCR-amplified 16S rRNA gene fragments: Do the different methods provide similar results? *J. Microbiol. Methods* 2007, 69, 470—479.
10. *George P.B.L., Lallias D., Creer S., Seaton F.M., Kenny J.G., Eccles R.M., Griffiths R.I., Lebron I., Emmett B.A., Robinson D.A. et al.* Divergent national-scale trends of microbial and animal biodiversity revealed across diverse temperate soil ecosystems. *Nat. Commun.* 2019, 10, 1107.
11. *Semenov M.V.* Metabarcoding and Metagenomics in Soil Ecology Research: Achievements, Challenges, and Prospects. *Biol. Bull. Rev.* 2021, 11, 40—53.

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВАЦИИ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В РЕЗИСТЕНТНЫХ К ДЕЙСТВИЮ ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩИХ ХИМИОПРЕПАРАТОВ КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА

Краснов К.С.^{1,2}, Кобякова М.И.^{1,2}, Кузьмин В.В.,³ Фадеев Р.С.¹

¹ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия;

e-mail: kirill.krasnov64@gmail.com

² Институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ИЦИГ СО РАН, Новосибирск, Россия;

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия.

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) — злокачественное новообразование гемопоэтической системы с крайне низкой излечиваемостью и выживаемостью пациентов. Главная проблема при терапии ОМЛ заключается в лекарственной резистентности, которая формируется у лейкозных клеток, особенно в условиях гиперклеточного костного мозга, которая, в свою очередь, в последнее время, считается одним

из основных факторов резистентности заболевания в целом. Изучение механизмов лекарственной резистентности клеток ОМЛ, возникающей в условиях гиперклеточности, без сомнения можно считать одной из важнейших задач современной биомедицины является.

Коллективом авторов была предложена *in vitro* модель лекарственной резистентности клеток ОМЛ, имитирующая условия микроокружения, опосредованные гиперклеточным состоянием [1, 2]. Предложенная модель обладает выраженной и транзиторной, в лекарственной резистентностью, в долговременных трехмерных многоклеточных структурах. С целью изучения потенциальных механизмов такого рода лекарственной резистентности, было проведено секвенирование тотальной РНК у клеток ОМЛ, с последующим анализом дифференциальной экспрессии генов (ДЭГ).

С использованием метода GSEA (Gene Set Enrichment Analysis) и коллекции Hallmark из базы данных MSigDB (Molecular Signature DataBase) было показано, что в резистентных культурах клеток ОМЛ происходит достоверная ($FDR < 0.05$) активация провоспалительных сигнальных путей и транскрипционных факторов — NF- κ B, JAK/STAT (NES, Normalized Enrichment Score = 1.89—2.41), а также интерфероновая сигнализация на фоне снижения транскрипционной активности генов энергетического метаболизма и клеточного цикла, несмотря на сохранение пролиферативной активности клеток (NSE = -3.40 — -2.24).

Также был проведен анализ ДЭГ с использованием клинических данных РНК секвенирования проекта BeatAML [3]. Из данных пациентов с диагностированным ОМЛ была выделена подгруппа с M5 фенотипом бластов согласно классификации FAB (French-American-British), в связи с тем, что цитогенетический профиль используемых в работе клеток ТНР-1 приближен к данному подтипу ОМЛ, диагностируемому у пациентов [4]. Далее с использованием таблицы необработанных прочтений был произведен анализ ДЭГ данных резистентных относительно чувствительных к терапии пациентов, после чего производился GSEA с использованием наборов генов, которые были применены для клеток ТНР-1. Полученные результаты GSEA показали, что у резистентных к терапии пациентов наблюдалась схожая активация провоспалительных сигнальных путей — NF- κ B, JAK/STAT и интерфероновая сигнализация (NES = 1.80—2.01), а среди процессов со сниженной активацией достоверные изменения наблюдались только для транскрипционного фактора E2F (NES = -1.57, $FDR < 0.1$).

Таким образом, *in vitro* модель лекарственной резистентности клеток ОМЛ в долговременных трехмерных многоклеточных структурах качественно отражает изменения внутриклеточных сигнальных путей, свойственных для клинических образцов, с подтвержденной резистентностью

к стандартным протоколам терапии ОМЛ и вызывает интерес для дальнейшего изучения.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00223-25-00.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kobyakova M.I., et al.* The Increase in the Drug Resistance of Acute Myeloid Leukemia THP-1 Cells in High-Density Cell Culture Is Associated with Inflammatory-like Activation and Anti-Apoptotic Bcl-2 Proteins, *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 14, 7881, 2022, doi: 10.3390/ijms23147881.
2. *Kobyakova M.I., et al.* Appearance of signs of differentiation and pro-inflammatory phenotype in acute myeloid leukemia cells THP-1 with an increase in their TRAIL resistance in cell aggregates *in vitro* // *Biochem. Mosc. Suppl. Ser. Membr. Cell Biol.* — 15, 97—105, 2021, doi: 10.1134/S1990747821010050.
3. *Bottomly D. et al.* Integrative analysis of drug response and clinical outcome in acute myeloid leukemia, *Cancer cell*, T.40, №.8, p.850—864. E9, 2022, doi: 10.1016/j.ccell.2022.07.002.
4. *Skopek Rafal et al.* Choosing the Right Cell Line for Acute Myeloid Leukemia (AML) Research, *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 6, 5377, 2023, doi:10.3390/ijms24065377.

«РОССИЙСКИЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ КАПИЛЛЯРНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПО СЭНГЕРУ»

Мельников А.В.

ООО «Компания Хеликон».
e-mail: a.melnikov@helicon.ru

ООО «Компания Хеликон» — один из ведущих российских поставщиков лабораторного оборудования, реагентов и расходных материалов в области клеточных технологий, геномики, протеомики, ветеринарии и пищевой безопасности, биофармацевтического производства, клинической диагностики и криминалистики.

Мы предлагаем клиентам только проверенные решения от ведущих зарубежных и отечественных производителей, с которыми сотрудничаем уже много лет. В нашем портфолио представлен широкий ассортимент товаров как для фундаментальных, так и для прикладных исследований.

Компания Хеликон более 15 лет занимается производством лабораторного оборудования.

Одно из направлений деятельности Компании Хеликон — разработка специализированного программного обеспечения для некоторых приборов и приложений. Наши программные продукты позволяют автоматизировать многие процессы и повысить эффективность работы.

Наши специалисты прошли подготовку в сервисных центрах производителей и имеют сертификаты и квалификационные разряды.

Профессиональное обслуживание оборудования в соответствии с технической документацией — залог бесперебойной работы оборудования.

Генетический анализатор Locus Seqtor 1616 оптимизирован для задач идентификации личности, фрагментного анализа и секвенирования, снабжен 16-ю капиллярным блоком и позволяет работать со всеми доступными на рынке реагентами и наборами.

Открытый, чувствительный, высокопроизводительный генетический анализатор Locus Seqtor 1616, оптимизированный для задач идентификации личности, фрагментного анализа и секвенирования.

Прибор внесен в Государственный реестр средств измерений № 94145-24.

Helicon Genmap — это гибкое программное обеспечение (ПО) для анализа данных фрагментного анализа после капиллярного электрофореза. Предназначено для установления размеров ДНК-фрагментов и определения генетического профиля человека, животных и растений. Алгоритм ПО основан на современном математическом анализе, снабжён системой оценки качества и модернизированными инструментами для обзора данных. Имеется возможность создания и редактирования панелей, бинов и размерных стандартов в программе, а также их экспорта и импорта.

Области применения:

- ДНК-идентификация и установление биологического родства в криминалистике, судебной медицине и других областях;
- наработка массивов данных для популяционных исследований научно-исследовательскими группами;
- молекулярное маркирование и генетическая паспортизация в селекции и биотехнологии;
- ветеринария и другие направления, базирующие свою работу на анализе коротких tandemных повторов ДНК.

Helicon Genmap имеет свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2024615693 от 12.03.2024. Зарегистрировано в Минцифры России. Реестровая запись № 22458 от 14.05.2024.

HeliconGen — это программное обеспечение для сравнительного анализа и вероятностно-статистической оценке ДНК-типирования.

Программное обеспечение HeliconGen предназначено для анализа и оценки результатов генетических исследований (тестов ДНК).

Позволяет осуществлять:

- сравнительный анализ и вероятностно-статистическую оценку результатов молекулярно-генетического исследования (типирования)

STR-локусов ДНК, выделенной из следов биологического происхождения, сравнительных образцов);

- хранить, сравнивать и накапливать необходимые генотипы во встроенной базе данных.

HeliconGen создано для облегчения однотипной работы эксперта-биолога при оформлении заключения эксперта:

- снижение вероятности внесения ошибочных данных;
- значительное увеличение скорости математических расчетов и получение сводных данных.

ГЕНОМЫ, ПАНГЕНОМЫ РАСТЕНИЙ И ГЕТЕРОГЕНОМНАЯ ТЕОРИЯ ГЕТЕРОЗИСА

Чемерис А.В.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Уфа, Россия.

e-mail: chemeris@anrb.ru

В декабре 2000 г. вышла статья, которой мир был извещен о том, что стал известен первый растительный геном модельного растения арабидопсиса. Весной 2002 г. сообщено о завершении секвенирования сразу двух геномов риса разных подвидов. В 2009 году впервые секвенированным преимущественно с помощью методов новых поколений стал геном огурца. Последовавшее затем развитие технологий секвенирования привело к тому, что полные геномы растений «посыпались как из рога изобилия». Если после 2002 г. до 2009 г. секвенировано только пять полных геномов растений, то в следующие пять лет таковых набралось уже более пяти десятков. При этом за прошедшую четверть века произошли эволюционные и даже революционные изменения не только в технологиях секвенирования ДНК, но и во взглядах на то, что считать полным геномом, определяющим фенотип, и как велико их природное разнообразие даже внутри вида.

Сейчас под термином «геном» подразумевается вся совокупность нуклеотидных последовательностей гаплоидного набора хромосом, причем если организм полиплоидный (что для растений весьма характерно, к тому же многие считаются палеополиплоидами), то под ним (гаплоидным набором) понимается половинный набор хромосом, поскольку такие полиплоиды становятся функциональными диплоидами. Однако для характеристики любых секвенированных геномов требуются важные уточнения в плане их завершенности.

Итак, в результате полногеномного секвенирования (особенно в первые годы) формировался так называемый «черновой геном», характеризующийся незавершенностью. Еще один «старый» геном, которому присуща уже достаточно полная сборка, получил обозначение референсного. Развитие технологий секвенирования и программного обеспечения позволило собирать геномы на хромосомном уровне, когда прочитанные нуклеотидные последовательности распределяются по гаплоидным наборам хромосом. Затем, начиная с 2021 г., последовали T2T растительные геномы (Telomere-to-Telomere), в том числе секвенированные и собранные без промежутков по-хромосомно от теломеры до теломеры. Но еще раньше, в 2016 г., впервые были секвенированы диплоидные геномы с фазированной сборкой гаплотипов для арабидопсиса и винограда. Наконец, в 2023 г. появились диплоидные геномы растений в формате T2T без промежутков. И для растений, а также других эукариотических организмов это высший уровень сборки геномов (не беря в расчет их достоверность), что очень важно потому, что при обычном полногеномном секвенировании происходит чтение нуклеотидных последовательностей всего набора хромосом, но собирается в итоговый геном только половина из них. Чтобы было понятнее, можно перейти на цифры. Например, геном некоего растения имеет размер 1 млрд п.н., но в его ядре содержится информация в виде 2 млрд п.н. фактически принадлежащая двум геномам. Причем в результате мозаичной сборки получается консенсусный, или иначе, квазигаплоидный геном для половинного набора хромосом, содержащий 1 млрд п.н., и оказывается, что в данном случае $1 + 1 \neq 2$, а равно 1. Согласно действующему определению термина «геном» все верно. Однако габитус любого высшего организма, включая растения (исключения оставляем за скобками), определяется полным набором хромосом (читай — диплоидным), и в данном примере это 2 млрд п.н. То есть при обычном секвенировании половина информации не то чтобы теряется — она фактически отбрасывается. Только секвенирование диплоидных геномов дает необходимую полноту информации для связи генотипа с фенотипом (называемой еще «гапло-фено»), хотя собирать фазированные диплоидные геномы, состоящие из двух геномов (гаплотипов), несравненно труднее. Тем не менее, геномов с фазированной сборкой насчитывается уже (или всего) немногим более 250 для полутора сотен видов, тогда как квазигеномов растений секвенировано уже около шести тысяч, представляющих почти две тысячи видов.

За секвенированием диплоидных геномов с фазированной сборкой по гаплотипам, безусловно, будущее, тогда как секвенирование квазигеномов имеет смысл лишь для видов, для которых эти сведения еще отсутствуют. Но для этого требуется дальнейшее улучшение технологии

секвенирования ДНК с прицелом на чтение гаплотипов и ведение соответствующей сборки полученных прочтений. Причем на знания диплоидных геномов растений должно опираться и составление пангеномов, к которым ниже перейдем.

Так, даже при секвенировании и сборке диплоидных геномов задача понимания их организации и функционирования полностью не решается. Впрочем, еще много лет назад стало ясно, что никакой референсный геном не дает знаний обо всем многообразии геномных последовательностей. Потребовалась концепция пангенома, и для растений она впервые была упомянута в 2007 г. при сравнительном анализе частично секвенированных геномов двух линий кукурузы. Но первые пангеномы растений были составлены только в 2010 г. для сои и той же кукурузы. В 2020 году для пангеномов, составленных на основе разных образцов ряда видов одного рода, было предложено использовать термин «супер-пангеном», причем таковые для культурного вида перца с привлечением его диких сородичей были собраны даже раньше, еще в 2018 г. В недавнем обзоре [Jayakodi *et al.*, 2025] уделено значительное внимание различиям между пангеномами и супер-пангеномами, однако осталась без внимания работа, в которой составлялся пангеном на основе нескольких образцов близких родов семейства *Musaceae*, и авторы назвали его ‘cross-genus pang genome’ [Rijzaani *et al.*, 2022]. Однако, следуя терминологической логике, такие правильнее называть «гипер-пангеномами». Всего для растений пангеномов разных типов собрано уже более сотни на основе еще большего числа видов, среди которых есть как культурные формы, так и их дикорастущие собратья.

Пангеномы неизбежно приходят на смену устаревающим референсным геномам с мозаичной сборкой, так как содержат гораздо больше информации о пуле генов, характерных для вида/рода или группы близких родов одного семейства. По сути, геномика, даже сохранив свое прежнее название, идейно должна превратиться в пангеномику. Но пангеномы, как уже говорилось выше, также должны обязательно опираться на знания диплоидных геномов, и примеры таковых уже есть: они созданы для яблони, маниока, картофеля, винограда и многих других видов.

Составление пангеномов показало, что есть несколько групп генов: коровые гены — типичные для всех секвенированных образцов одного вида/рода и выполняющие основные жизненно важные функции, а также присутствующие лишь отдельным образцам некие дополнительные гены, называемые по-разному — вспомогательными, переменными, необязательными. Но именно они определяют разнообразие форм, в том числе позволяя адаптироваться организму их несущему к меняющимся условиям внешней среды. Причем пропорции коровых и дополнительных генов варьируют

у разных видов в весьма широких пределах, приводя к тому, что у отдельных образцов может не быть каких-то генов, зато есть другие. В действительности, наибольшие отличия между отдельными образцами обеспечивают не одонуклеотидные полиморфизмы или короткие инделы, а более крупные структурные вариации в виде PAVs (Presence/Absence Variations) и CNVs (Copy Number Variations), в том числе несущих эти самые дополнительные гены.

Именно концепция пангеномов приближает нас к пониманию возникновения эффекта гибридной силы, или гетерозиса. Для объяснения причин гетерозиса уже давно выдвинуто немало гипотез, но основными можно считать три: «доминирование», «сверхдоминирование» и «эпистаз». Однако ни одна из них не способна полноценно объяснить исчезновение эффекта гетерозиса в последующих поколениях, и только концепция пангеномов позволяет это сделать. Так, еще в 2002 г. после прочтения всего по 100 т.п.н. схожих участков генома у двух инбредных линий кукурузы были обнаружены серьезные отличия между ними [Fu, Dooner, 2002]. При этом авторы обратили внимание на то, что хотя ранее и считалось, что каждый ген одного организма имеет аналог себе в другом организме того же вида, но для кукурузы это не так, придя к выводу, что это может быть как раз причиной проявления гетерозиса у гибридов. И эта их догадка, спустя много лет получила фактическое подтверждение, когда стала доступна информация о пангеномах, и не только кукурузы.

Но на примере все той же кукурузы, как вида, наиболее ярко проявляющего гибридную силу, хорошо видны отличия геномов у разных анализируемых образцов. Так, было показано, что линии кукурузы B73 и Mo17 отличаются несколькими тысячами PAVs [Springer et al., 2009]. После секвенирования полного генома линии кукурузы B73 в нем было предсказано около 32 тысяч генов [Schnable et al., 2009]. Для другой линии Mo17 аннотировано уже 38620 генов [Sun et al., 2022]. Вообще для кукурузы составлено уже несколько пангеномов. В недавней работе [Gui et al., 2022] на основе *de novo* секвенирования 721 образца кукурузы, включая 183 растения теосинте, был составлен ‘pan-Zea genome’, охвативший около 4,57 млрд п.н. вместо 2,3 млрд п.н. у референсного генома [Schnable et al., 2009]. В ‘pan-Zea genome’ в общей сложности аннотировано 58 944 гена, лишь около 56% которых оказались коровыми, а остальные — вариабельными, обеспечивающими максимальные различия между образцами.

По сути диплоидный геном можно считать неким «мини-пангеномом», поскольку в реальности два половинных набора хромосом (два отдельных генома) у организма (линии, сорта и др.) далеко не одинаковы, что следует из диплоидного секвенирования и пангеномных данных, о которых на протяжении всего XX-го столетия,

выдвигая теории гетерозиса, ничего не ведали. Фактически, при скрещивании происходит некое объединение гетерогеномов, обеспечивающих оптимальное сочетание генов. Поэтому самым правильным будет для объяснения гибридной силы принять «гетерогеномную теорию гетерозиса», которая подразумевает все нюансы генных взаимодействий, как аллельной, так и неаллельной и даже плейотропной природы, включая их комплементацию, которая представляется даже берущей на себя большую роль или ответственность за фенотипические проявления. И это полностью объясняет исчезновение эффекта гетерозиса в следующих поколениях, поскольку при дальнейшем опылении, подчиняясь менделевскому расщеплению 3:1, неизбежно теряется часть комплементирующих генов, находящихся в гемизиготном состоянии. Но так как гетерозис вызывается не отдельно взятым геном, а их множеством и ввиду того, что расщепление приобретает сложнейший характер, то нужной комплементации генов может уже не быть.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Fu H., Dooner H.K.* Intraspecific violation of genetic colinearity and its implications in maize // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002. V. 99(14). P. 9573—9578. doi: 10.1073/pnas.132259199.
2. *Gui S., Wei W., Jiang C. et al.* A pan-Zea genome map for enhancing maize improvement // *Genome Biol.* 2022. V. 23(1). 178. doi: 10.1186/s13059-022-02742-7.
3. *Jayakodi M., Shim H., Mascher M.* What Are We Learning from Plant Pangenomes? // *Annu. Rev. Plant Biol.* 2025. V. 76. P. 2.1—2.24. doi: 10.1146/annurev-arplant-090823-015358.
4. *Rijzaani H., Bayer P.E., Rouard M. et al.* The pangenome of banana highlights differences between genera and genomes // *Plant Genome.* 2022. V. 15(1). e20100. doi: 10.1002/tpg2.20100.
5. *Schnable P.S., Ware D., Fulton R.S. et al.* The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics // *Science.* 2009. V. 326(5956). P. 1112—1115. doi: 10.1126/science.1178534.
6. *Springer N.M., Ying K., Fu Y. et al.* Maize inbreds exhibit high levels of copy number variation (CNV) and presence/absence variation (PAV) in genome content // *PLoS Genet.* 2009. V. 5(11). e1000734. doi: 10.1371/journal.pgen.1000734.
7. *Sun S., Zhou Y., Chen J. et al.* Extensive intraspecific gene order and gene structural variations between Mo17 and other maize genomes // *Nat. Genet.* 2018. V. 50(9). P. 1289—1295. doi: 10.1038/s41588-018-0182-0.

СПОНСОРЫ

GORDIZ ●●●●

ООО «Гордиз»

BIOCAD
Biotechnology Company

АО «БИОКАД»

helicon

ООО «Хеликон»

СИНТОЛ
НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ КОМПАНИЯ

ООО «НПФ СИНТОЛ»

PCR NEWS
амплифицируем главное

PCR-News

ХИММЕД

ТД «Химмед»

**Материалы конференции
«День ДНК — 2025»
25 апреля 2025 года**

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

Составители
пресс-служба ИТЭБ РАН:
к.б.н. Перевязова Т.А.,
к.б.н. Дюкина А.Р.,
к.б.н. Зубов В.В.
Оформление Абакумовой Ю.Ю.
Обложка: изображение от freerik



Figure 1. Scatter plot of number of articles versus number of citations

the number of articles and the number of citations. The correlation coefficient is 0.45, indicating a moderate positive relationship.

The data points are scattered, with a notable concentration in the upper right quadrant, indicating high citation counts for a smaller number of articles.

The scatter plot shows that as the number of articles increases, the number of citations also tends to increase, but the relationship is not perfectly linear.

The data points are scattered, with a notable concentration in the upper right quadrant, indicating high citation counts for a smaller number of articles.

The scatter plot shows that as the number of articles increases, the number of citations also tends to increase, but the relationship is not perfectly linear.

The data points are scattered, with a notable concentration in the upper right quadrant, indicating high citation counts for a smaller number of articles.

The scatter plot shows that as the number of articles increases, the number of citations also tends to increase, but the relationship is not perfectly linear.

The data points are scattered, with a notable concentration in the upper right quadrant, indicating high citation counts for a smaller number of articles.

The scatter plot shows that as the number of articles increases, the number of citations also tends to increase, but the relationship is not perfectly linear.

The data points are scattered, with a notable concentration in the upper right quadrant, indicating high citation counts for a smaller number of articles.