



ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ  
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ  
МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА  
КАФЕДРАСЫ

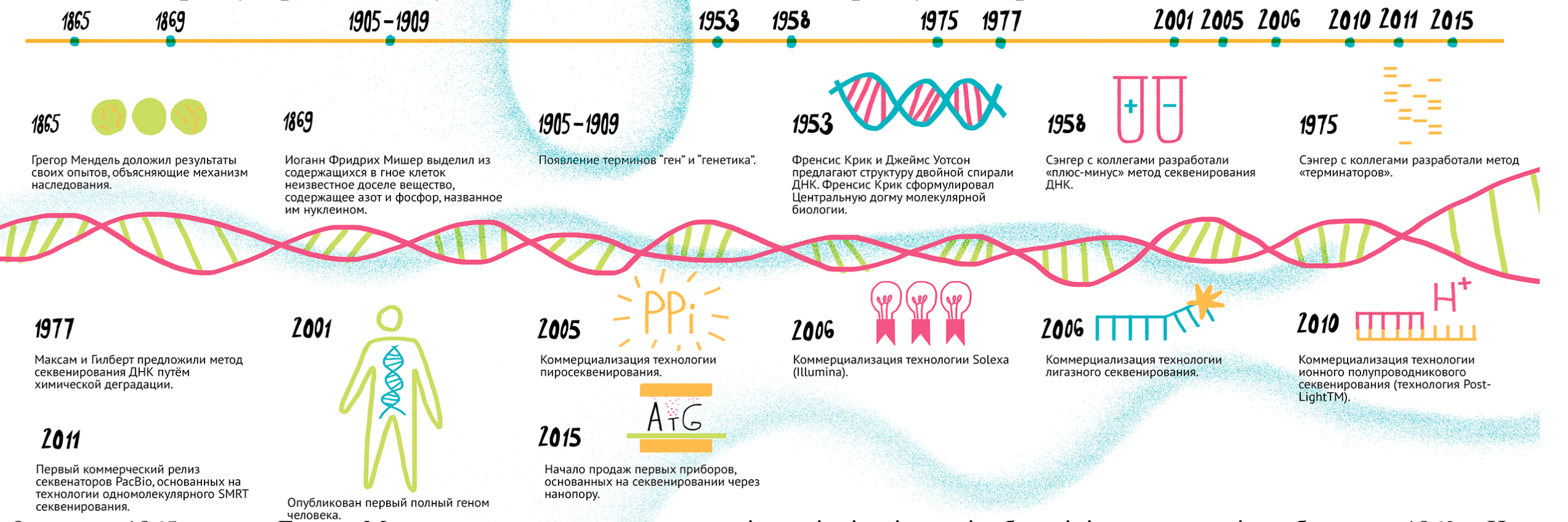
ДӘРІС 11. НУКЛЕИН ҚЫШҚЫЛЫНЫҢ БІРІНШІ РЕТТІК  
ҚҰРЫЛЫМЫН АНЫҚТАУ. СЕКВЕНІРЛЕУ

Лектор: PhD, қауымдастырылған  
профессор Тайпақова С.М.

# **Жоспар:**

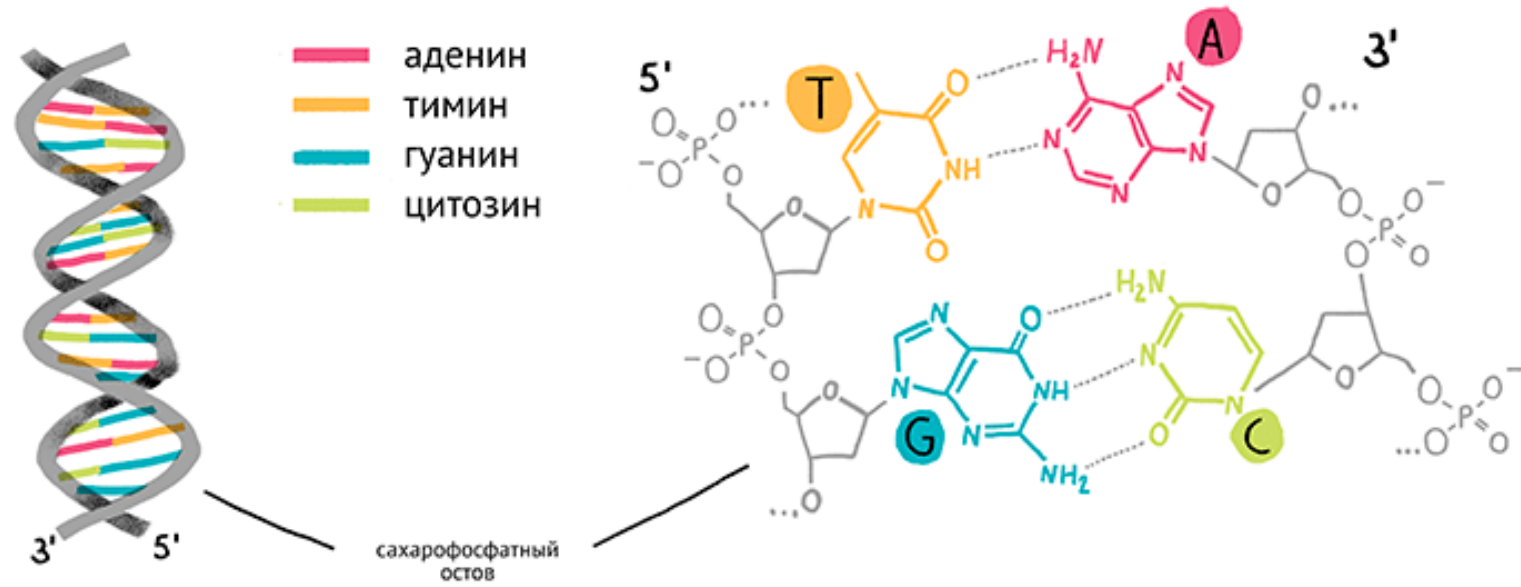
- **Геномдық зерттеулердің және нуклеин қышқылының секвенирленуінің тарихы**
- **Нуклеин қышқылдарын секвенирлеу**
- **ДНҚ секвенирлеу мақсаты**
- **ДНҚ молекуласын секвенирлеудің әдістері**
- **Максам және Гильберт әдісі**
- **Сэнгер әдісі**
- **Келесі ұрпақ секвенциясы- next-generation sequencing (NGS)**

# Геномдық зерттеулердің және нуклеин қышқылының секвенирленуінің тарихы.



8 наурыз 1865 жыл - Грегор Мендель тұқым қуалау механизмін түсіндіретін тәжірибелерінің нәтижелерін хабарлады. 1869 - Иоганн Фридрих Мишер құрамында азот пен фосфор бар осы уақытқа дейін белгісіз затты ірің клеткаларынан бөліп, оны нуклеин деп атады. 1905-1909 жж - «ген» және «генетика» терминдерінің пайда болуы. 1953 - Фрэнсис Крик пен Джеймс Уотсон ДНҚ қос спиралының құрылымын ұсынды. 1958 - Фрэнсис Крик молекулалық биологияның орталық догмасын тұжырымдады. 1975 - Сэнгер мен әріптестері ДНҚ секвенирлеудің «плюс немесе минус» әдісін әзірледі. 1977 - Сэнгер тобы терминатор әдісін құрастырды. 1977 - Максам мен Гилберт химиялық деградация арқылы ДНҚ секвенирлеу әдісін ұсынды. 2001 - Адамның алғашқы толық геномы жарияланды. 2005 - пиросеквенирлеу технологиясы коммерцияландырылды. 2006 - Solexa технологиясын коммерцияландыру (Illumina). 2006 ж. - лигазды секвенирлеу технологиясы коммерцияландырылды. 2010 - иондық жартылай өткізгіш секвенирлеу технологиясын коммерцияландырылды (PostLight™ технологиясы). 2011 - Бір молекулалы SMRT секвенирлеу технологиясына негізделген PacBio секвенаторларының бірінші коммерциялық шығарылымы. 2015 жыл - нанопораларда секвенирлеуге негізделген алғашқы құралдарды сатудың басталуы.

- 
- 1973 : First sequence of 24 bp published
  - 1977 : Sanger sequencing method published
  - 1980 : Nobel Prize Wally Gilbert and Fred Sanger
  - 1982 : Genbank started
  - 1983 : Development of PCR
  - 1987 : 1<sup>st</sup> automated sequencer : Applied Biosystems Prism 373
  
  - 1996 : Capillary sequencer : ABI 310
  - 1998 : Genome of *Caenorhabditis elegans* sequenced
  - 2000 : Human genome sequenced
  - 2005 : 1<sup>st</sup> 454 Life Sciences Next Generation Sequencing system : GS 20 System
  - 2006 : 1<sup>st</sup> Solexa Next Generation Sequencer : Genome Analyzer
  - 2007 : 1<sup>st</sup> Applied Biosystems Next Generation Sequencer : SOLiD
  - 2009 : 1<sup>st</sup> Helicos **single molecule** sequencer : Helicos Genetic Analyser System
  - 2011 : 1<sup>st</sup> Ion Torrent Next Generation Sequencer : PGM
  - 2011 : 1<sup>st</sup> Pacific Biosciences **single molecule** sequencer : PacBio RS Systems
  - 2012 : Oxford Nanopore Technologies demonstrates ultra long **single molecule** reads



**Нуклеин қышқылдарын секвенирлеу** - (басқаша айтқанда, полинуклеотидтік тізбегіндегі нуклеотидтер ретін анықтау) - бұл «әріптер» яғни нуклеозидтрифосфаттардың: dATP, dGTP, dCTP, dTTP және UTP бірізділігінен тұратын сызықтық ДНҚ немесе РНҚ молекулаларының бірінші реттік құрылымын анықтау әдісі.

Бұл «әріптер» көбінесе олардың құрамына кіретін азотты негіз арқылы аталады - аденин (A), гуанин (G), цитозин (C), тимин (T), сондай-ақ РНҚ жағдайында урацил (U). .

# ДНҚ секвенирлеу

- ДНҚ бөліміндегі негіздің орналасу ретін анықтау
- Ген құрылымын және оның ген экспрессиясына, сондай-ақ белок конформациясына қатысын талдау

# ДНҚ секвенирлеу мақсаты

- өмір кодын анықтау
- мутацияны анықтау
- микроорганизмдерді типтеу
- адамның галотиптерін анықтау
- Полиморфизмдерді белгілеу

# **ДНҚ молекуласын секвенирлеудің әдістері**

**Тарихи тұрғыдан ДНҚ секвенирлеудің екі әдісі бар. Олар:**

- Максам және Гильберт әдісі
- Сэнгер әдісі: «плюс-минус» және «терминатор» әдісі

**Жаңа заманауи секвенстеу машиналары Сэнгер әдісінің принциптерін қолданады**

- Секвенирлеудің «екінші кезеңіне» жататын әдіс - next-generation sequencing (NGS)
- Пиросеквенирлеу
- Ионды жартылай өткізгішті секвенирлеу
- Бір молекулаға негізделген секвенирлеу



# Максам және Гильберт әдісі: химиялық деградация әдісі

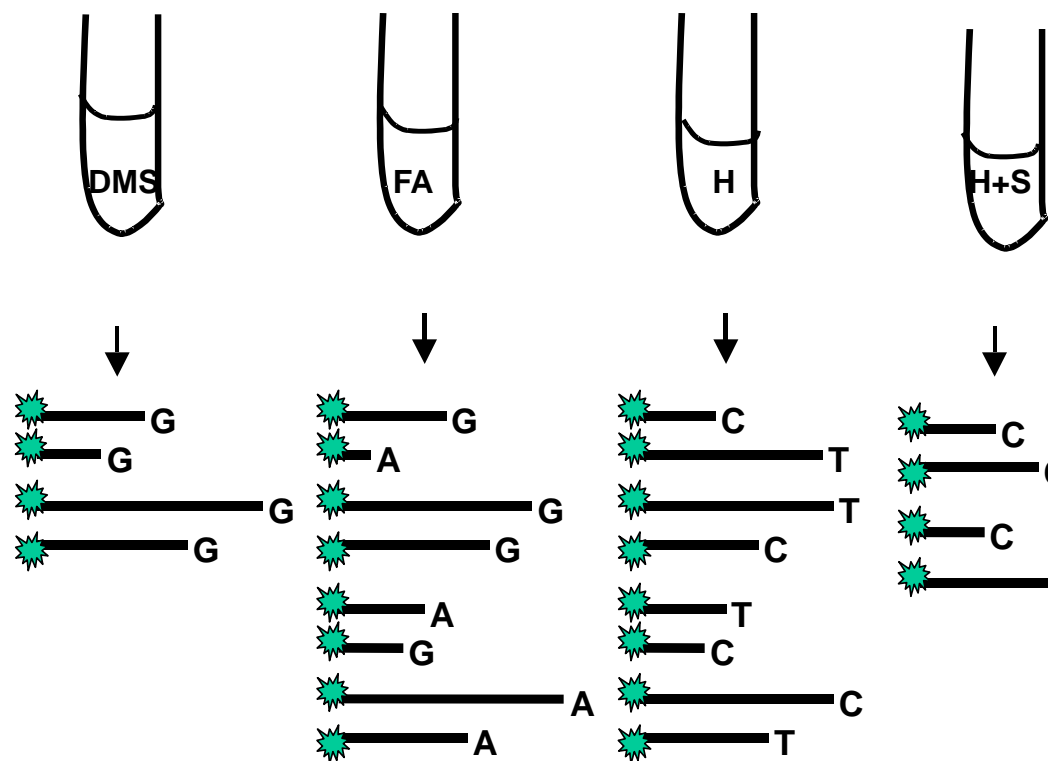
**1976** жылы А.Максам мен В.Гилберт бір ұшында радиоактивті таңбаланған ДНҚ фрагментінің спецификалық химиялық ыдырауына негізделген секвенирлеу әдісін ұсынды.

## **Әдістің мәні келесідей:**

ДНҚ фрагментінің бір ұшы  $^{32}\text{P}$  фосфор изотопымен таңбаланады. Белгіленген ДНҚ препараты төрт бөлікке бөлінеді және олардың әрқайсысы төрт негіздің біреуін немесе екеуін арнайы бұзатын реагентпен өңделеді және реакция жағдайлары бір ДНҚ молекуласында аздаған зақымданулар болатындай етіп таңдалады.



Уолтер Гилберт 1932-



**ДНК гидролизі 2 кезеңде жүреді.**

**Бірінші кезеңде азотты негіз модификацияланады, содан кейін бөлінеді. Екінші кезеңде ДНК гидролизі негіздің бөліну орындарында жүзеге асырылады.**

**Азоттық негіздердің химиялық модификациясы:**

**Құмырсқа қышқылы депуринизация (А+G) үшін пайдаланады.**

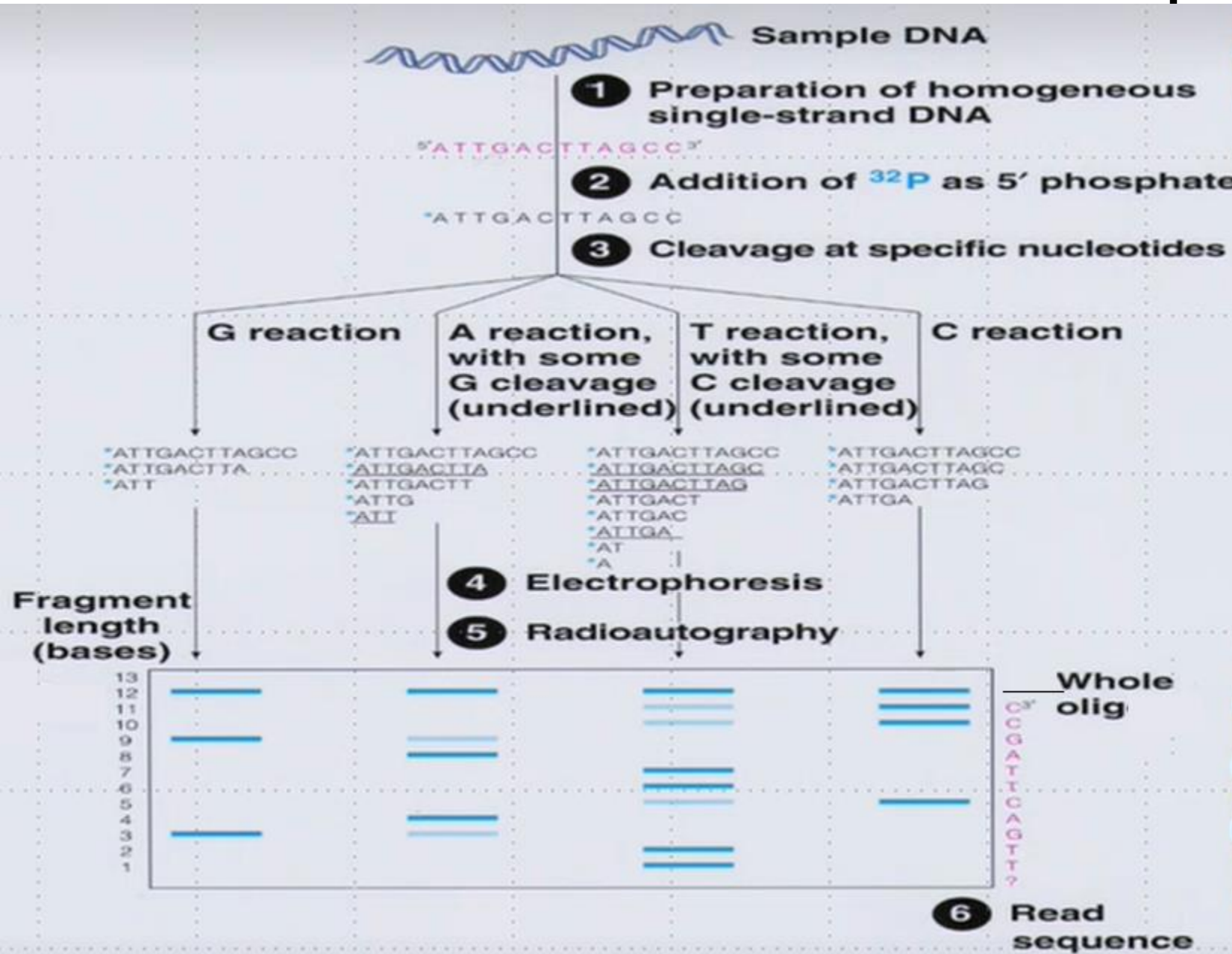
**Диметилсульфат көмегімен Гуанин метильденуі жүреді**

**Гидрозан қатысуымен Пиримидиндер (С+Т) гидролизі жүреді.**

**Гидрозан + 2 МNaCl қосқан жағдайда тек цитозин (С) өзгереді.**

**+90°C температурада сілтілі ортада (0,1 М NaOH) инкубациялау кезінде қант-фосфат байланысы негіздің ыдырайтын жерлерінде жойылады. Немесе пиперидинмен әрі қарай өңдеуден кейін ДНК модификация нүктелерінде ыдырайды.**

# Максам және Гильберт әдісі



ДНК-ның толық нуклеотидті реттілігін анықтау үшін көп мөлшерде бірдей ДНК-молекулалары қажет.

Әр тізбектің 5' немесе 3' ұшына радиоактивті белгі енгізеді.

ДНК-ны балкытып, біртізбекті ДНК бөлініп алынады.

Әр пробиркаға 1 немесе 2 белгілі азоттық негіздерді арнайы бұзатын химиялық реагент қосылады.

Нәтижесінде осы нуклеотид орналасқан жерде ДНК тізбегі бұзылады.

Ұзындықтары әртүрлі біртізбекті ДНК-ның радиоактивті белгімен белгіленген фрагменттер қоспасы түзіледі.

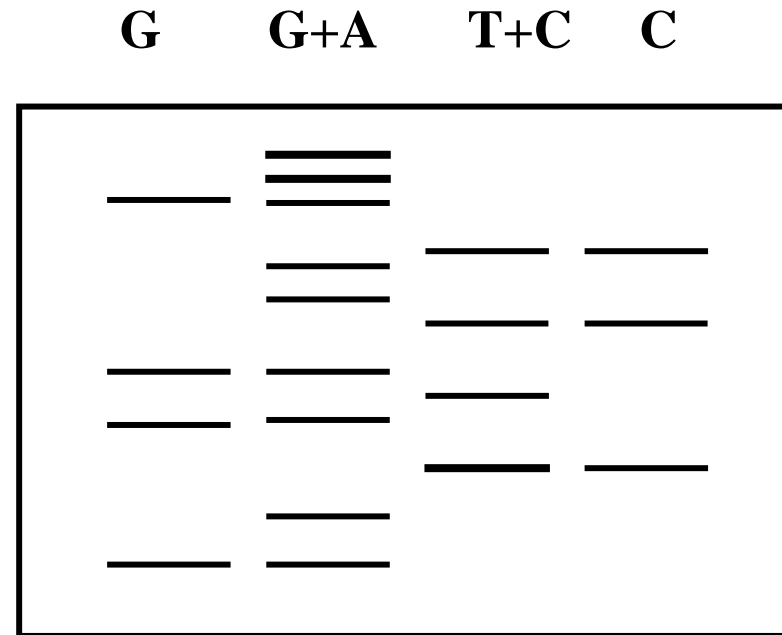
Келесі сатыда қоспадағы компоненттерді полиакриламидті электрофорезде бөледі.

# Максам және Гильберттің химиялық әдісі

Ұзын фрагмент



Қысқа фрагмент



3'  
A  
A  
G  
C  
A  
A  
C  
G  
T  
G  
C  
A  
G  
5'

Секвенстелген гельді астынан үстіге қарай оқиды (5'-тен 3').

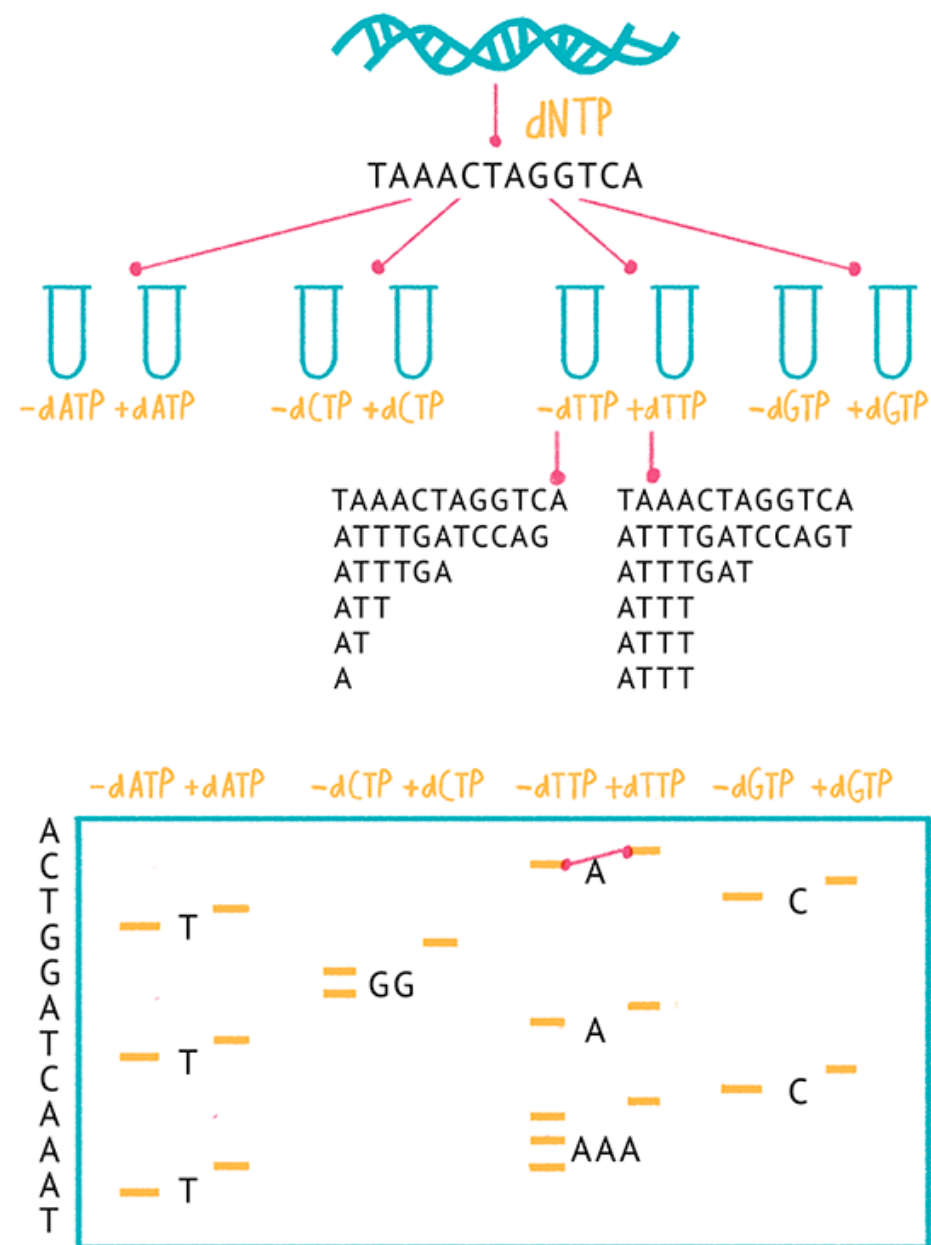
# ДНҚ молекуласын секвенирлеудің «Плюс-минус» әдісі

Тікелей ферментативті ДНҚ секвенирлеудің бірінші әдісін 1975 жылы Ф.Сэнгер мен Д.Коулсон ұсынды.

Бір тізбекті ДНҚ фрагменті полимеразды амплификациялау реакциясында матрица ретінде пайдаланылды

Праймерлер ретінде - синтетикалық олигонуклеотидтер немесе рестриктазалар арқылы гидролизденген табиғи субфрагменттер пайдаланылды.

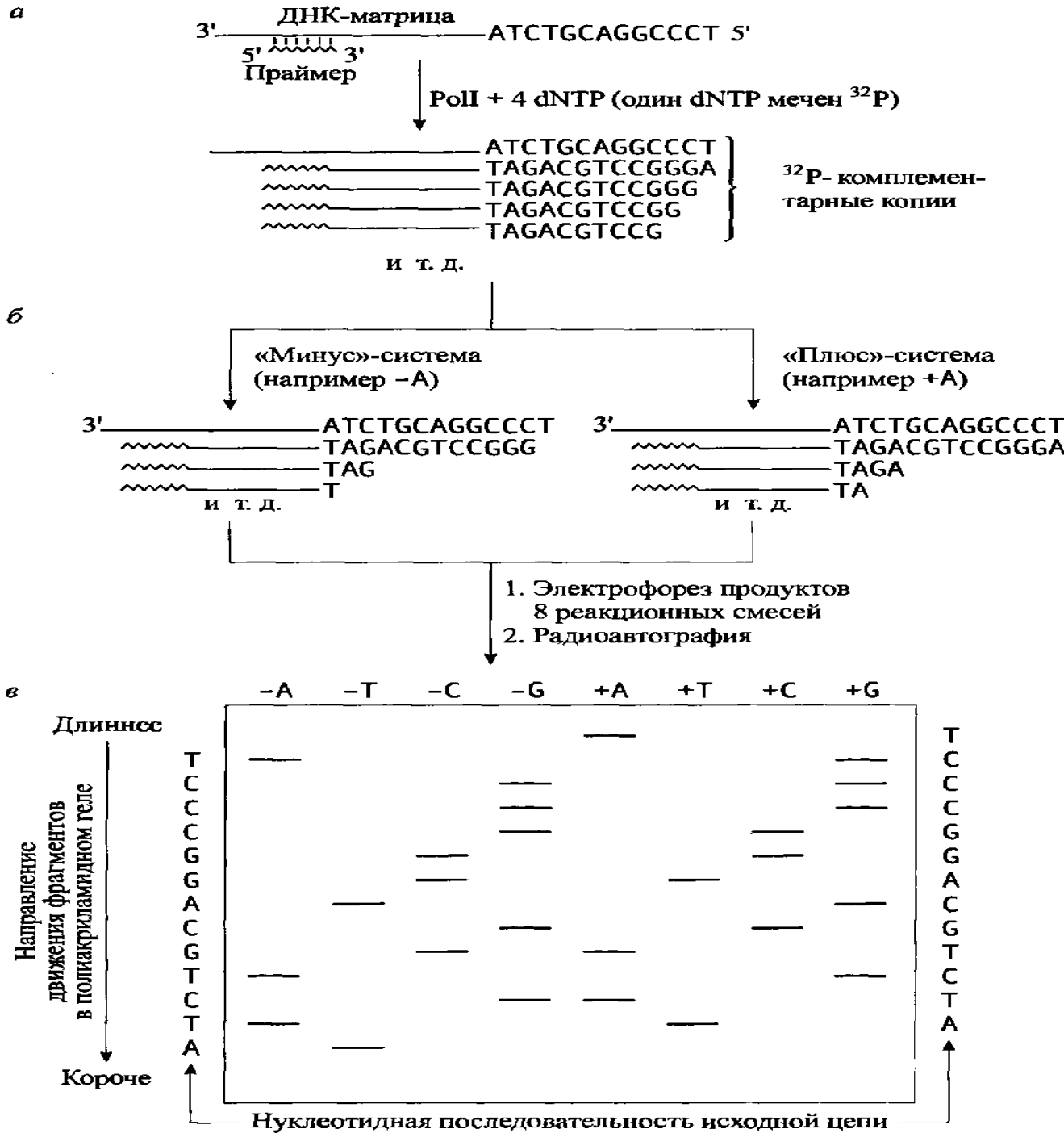
Фермент ретінде және *E. coli*-нің ДНҚ полимераза I (PolI) Кленов фрагменті пайдаланылды.



**Әдіс екі кезеңнен тұрады:**

1. Біріншіден, шектеулі жағдайда полимеразалық реакция барлық төрт дезоксинуклеотидтің (dNTPs) (А,Т,Г,С) қатысуымен жүргізілді, dNTP біреуі фосфаттың α-позициясында (<sup>32</sup>P) радиобелгіленген. Нәтижесінде матрицалық фрагменттің толық амплификацияланбаған өнімдері пайда болады.

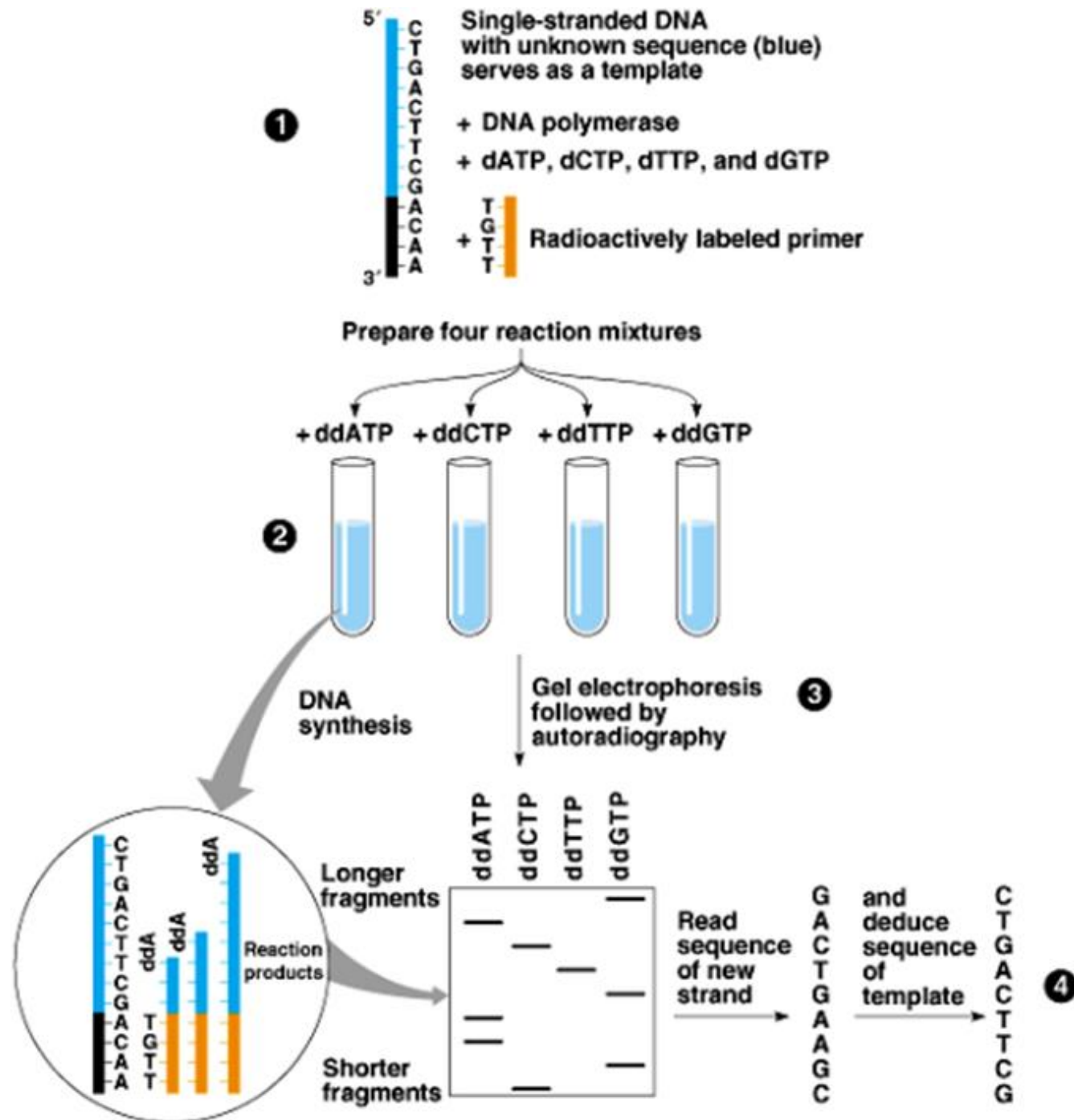
2. Келесі ретте бұл қоспаны байланыспаған дезоксинуклеотидтерден тазартады және оны 8 пробиркаға бөледі. Ары қарай «плюс» жүйеде 4 пробиркада төрт нуклеотидтің қатысында реакция жүргізеді. Келесі «минус» жүйеде 4 пробиркада бір нуклеотидті қоспай жүргізеді. Нәтижесінде "минус" жүйеде терминация процесі dNTP алдында, ал «плюс» жүйеде қоспаға қосылмаған нуклеотидтен кейін жүрген. Осындай жолмен алынған 8 үлгілер электрофорез арқылы ажыратылып, нуклеотидтер тізбектері анықталған [φX174 бактериофагының ДНҚ молекуласы осы тәсілмен анықталған \(5386 н.ж.\)](#)



Бір-екі жылдан кейін, 1977 жылы Сэнгер мен әріптестері «терминатор» әдісі немесе «тізбекті үзу» әдісі деп аталатын секвенирлеу әдісін ұсынды.

Қазіргі кезде де бұл әдістің жетілдірілген түрі секвенирлеуде қолданылады

. Праймер ретінде синтетикалық олигонуклеотидтер пайдаланылды. Специфическую терминацию синтеза обеспечивали добавлением в реакционную смесь помимо четырех типов dNTP (один из которых был радиоактивно мечен по альфа положению фосфата) еще и одного из 2',3'-дидезоксинуклеозидтрифосфатов (ddATP, ddTTP, ddCTP или ddGTP), который способен включаться в растущую цепь ДНК, но не способен обеспечивать дальнейшее копирование из-за отсутствия 3'-ОН группы. Отношение концентраций dNTP/ddNTP авторы подбирали экспериментально, так, чтобы в итоге получить набор копий ДНК различной длины. Таким образом, для определения первичной структуры исследуемого фрагмента ДНК требовалось провести четыре реакции копирования: по одному типу терминаторов в каждой из реакций.



**1977 жылы Сэнгер және оның әріптестері секвенирлеу әдісін ары қарай жетілдіру арқылы «терминатор» әдісін ұсынды.**

Қазіргі кезде де бұл әдістің жетілдірілген түрі секвенирлеуде қолданылады.

Әдіс *E. coli* ДНҚ-полимераза I ферментінің Кленов фрагменті арқылы ферментативті көшіруге негізделген

Реакциялық қоспада dNTP қосымша ретінде төрт 2',3'-дидезоксинуклеозидтрифосфатардың (ddATP, ddTTP, ddCTP немесе ddGTP) бірі болады. Бұл нуклеотид ДНҚ молекуласының синтезіне қатысады, алайда ары қарай синтез тоқтайды. Реакциялық қоспадағы dNTP/ddNTP концентрациялары әртүрлі болады.

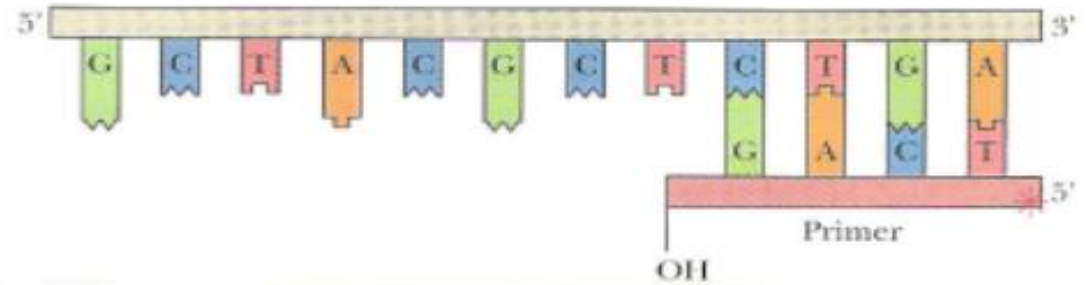
Бұл реакция 4 пробиркада жүзеге асады. Осыдан алынған өнімдер полиакриламидті электрофорезде ажыратылады және нуклеотидтер тізбектері анықталады.



# Реакция компоненттері

- Секвенирлеуге арналған ДНҚ үлгісі
- Төрт ДНҚ нуклеотиді (dATP, dTTP, dCTP, dGTP)
- ddNTP- 2',3'-дидеоксинуклеотид
- ДНҚ-полимераза ферменті
- Праймер - бұл ДНҚ шаблонымен байланысатын және полимераза үшін «стартер» ретінде әрекет ететін бір тізбекті ДНҚ-ның қысқа бөлігі.

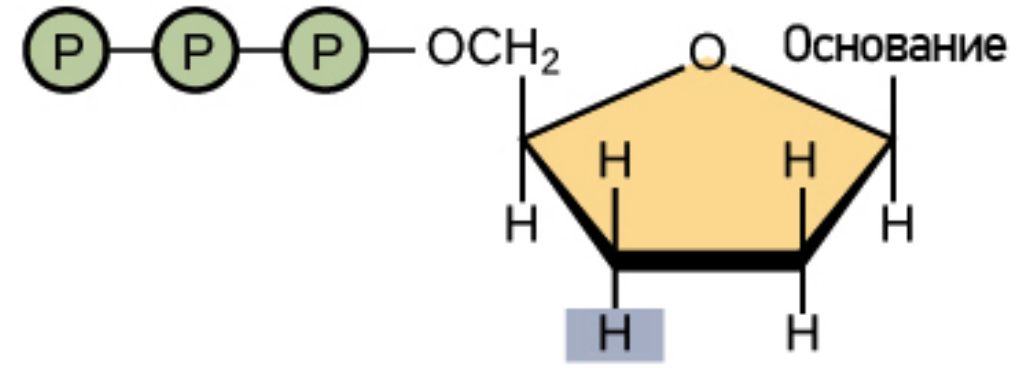
Single-stranded  
DNA to be  
sequenced



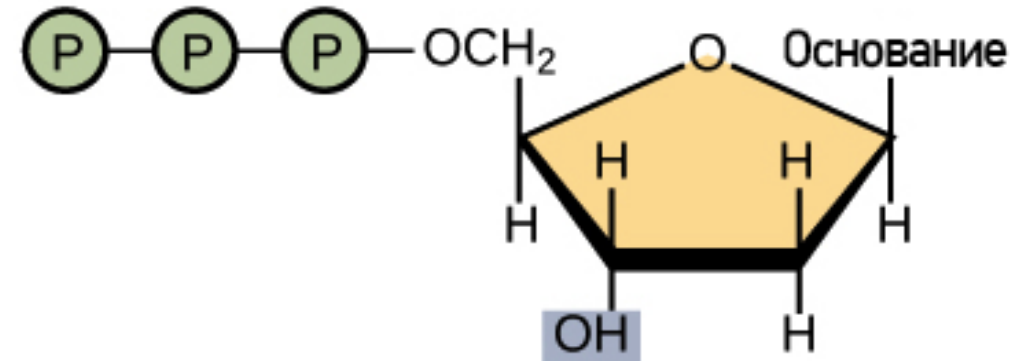
Дидеоксинуклеотидтер (ddNTP) кәдімгі дезоксинуклеотидтерге ұқсас, бірақ бір негізгі айырмашылығы бар: оларда қанттың 3' көміртегі атомында гидроксил тобы жоқ.

$ssDNA + dNTP = \text{элонгация}$

$ssDNA + ddNTP = \text{стоп элонгация}$



**Дидезоксинуклеотид**



**Дезоксинуклеотид**

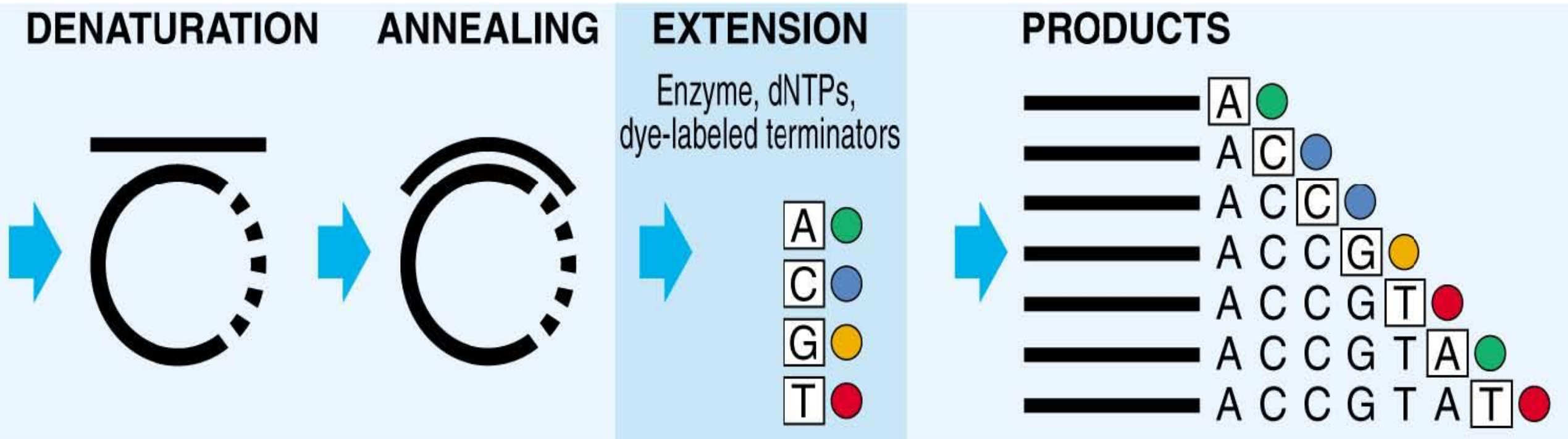
# Сэнгер әдісі кезеңдері:

Денатурация

Праймерлердің байланысуы

Тізбектің ұзаруы

Терминация



1



Single-stranded DNA with unknown sequence (blue) serves as a template

+ DNA polymerase

+ dATP, dCTP, dTTP, and dGTP

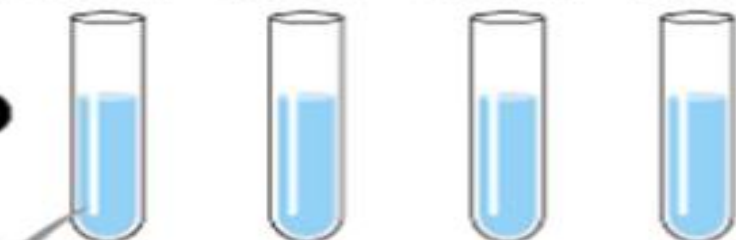


+ Radioactively labeled primer

Prepare four reaction mixtures

+ ddATP + ddCTP + ddTTP + ddGTP

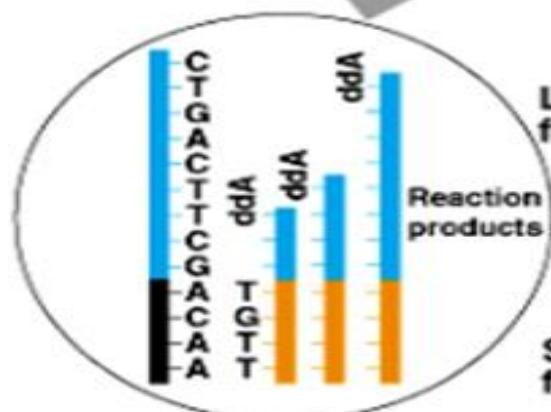
2



DNA synthesis

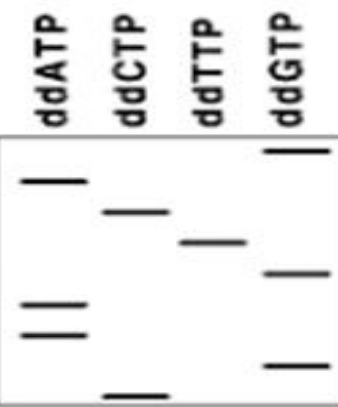
Gel electrophoresis followed by autoradiography

3



Longer fragments

Shorter fragments



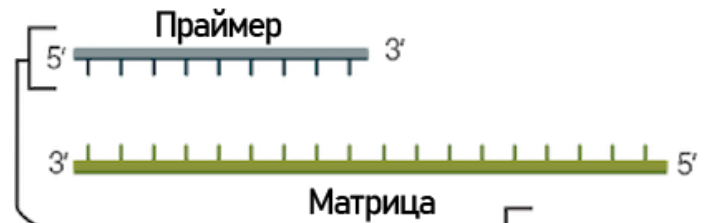
Read sequence of new strand

G  
A  
C  
T  
G  
A  
A  
G  
C

and deduce sequence of template

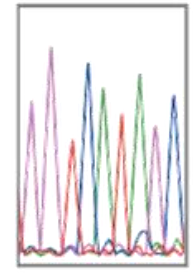
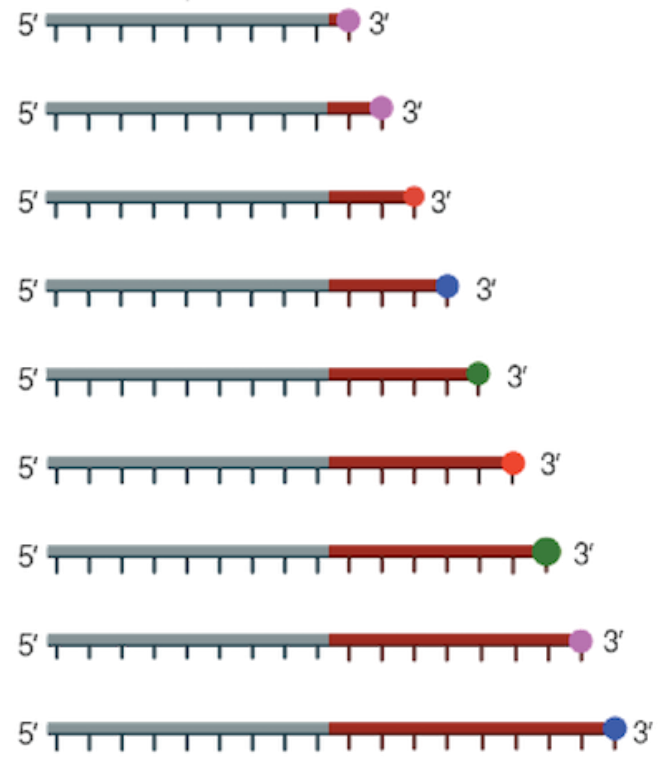
C  
T  
G  
A  
C  
T  
T  
C  
G

4



- dNTPs
- ddTTP —●—
  - ddCTP —●—
  - ddATP —●—
  - ddGTP —●—

Удлинение праймера и обрыв цепи



Хроматограмма

GGTCATAGC ← Последовательность

# Сэнгер әдісінің кемшіліктері

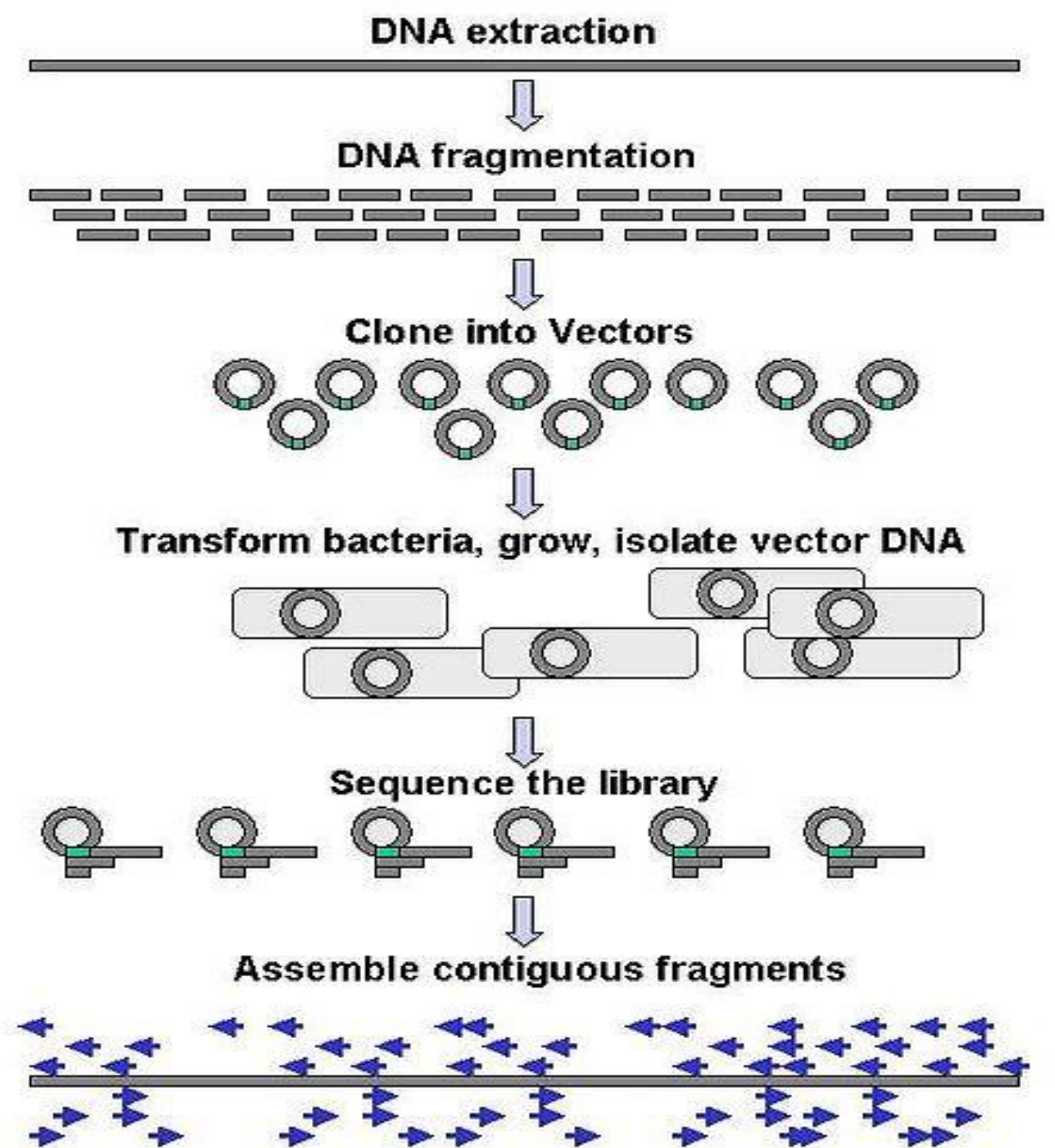
- 900-1000bp
- Қымбат
- Көп уақыт жұмсалады
- Алғашқы 40 нуклеотид оқылмайды



# Шотган әдісі

- Толық геномды секвенирлеуге арналған
- Қадамдары:
  - ДНК-ны кездейсоқ кішкентай фрагменттерге спецификалық емес нуклеазалар көмегімен бөледі
  - Фрагменттер векторларға клондалып, геномдық библиотека құрастырылады
  - Сэнгердің терминатор әдісімен фрагменттер оқылады
  - Бір-бірімен жабылатын фрагменттер оқылып қайта біріңғай ұзын тізбекке жиналады

Strand	Sequence
Бірінші шотган секвенсі	AGCATGCTGCAGTCATGCT----- -----TAGGCTA
Екінші шотган секвенсі	AGCATG----- -----CTGCAGTCATGCTTAGGCTA
Біріңғай ұзын тізбек	AGCATGCTGCAGTCATGCTTAGGCTA



## Келесі ұрпақ секвенциясы- next-generation sequencing (NGS)

ДНҚ секвенциясының ең заманауи әдістері келесі ұрпақ секвенциясы деп аталады.

Сэнгер секвенирлеуінен ерекшелетін ортақ белгілер бар:

- **Параллельді:** көптеген секвенс реакциялары бір уақытта жүреді.
- **Микромасштаб:** материал өте кішкентай, оның ауқымды көлемін бір микросхеманың бетінде бір уақытта талдауға болады.
- **Жылдам:** реакциялар параллель орындалатындықтан, нәтижелер әлдеқайда жылдам дайын болады
- **Төмен құны:** геномды реттілік Сэнгер секвенирлеуіне қарағанда арзанырақ
- **Қадамы қысқа:** әдетте 50-700 нуклеотид оқылады.

• Келесі ұрпақ секвенциясы өте көп мөлшердегі кішкентай Сэнгер реакцияларын параллельді жүргізу сияқты. Осы параллелизация мен микромасштабтың арқасында ДНҚ-ның үлкен көлемін Сэнгер секвенирлеуіне қарағанда келесі ұрпақ әдістерімен әлдеқайда жылдам және арзанырақ ретке келтіруге болады. Мысалы, 2001 жылы адам геномын секвенирлеудің құны шамамен 100 миллион долларды құраса 2015 жылы 1245 долларды құрады



## next-generation sequencing (NGS) әдістерін салыстыру

метод	принцип	максимальная длина прочтения, пар оснований	стоимость секвенирования 1 млн пар оснований	стоимость секвенатора	время работы за цикл	количество прочтений за цикл	преимущества	недостатки
454 Life Sciences	пиросеквенирование и люцифераза	1000	\$10	\$500 000	7 часов	1 000 000	длина прочтённых геномных участков; скорость	стоимость; погрешность
Illumina-SOLEXA	нуклеотиды с флуорофором и снимаемыми терминаторами	300	\$0,05—0,15	\$1 000 000 - (NovaSeq 6000) \$100 000 - (MiSeq)	4 часа — 55 часов	до 5 000 000 000	эффективность, стоимость	скорость
SOLiD	лигирование олигонуклеотидных зондов с флуорофором	75	\$0,13	\$595 000	до 10 дней	до 2 400 000 000	стоимость	скорость
Helicos	нуклеотиды с флуорофором и снимаемыми терминаторами	2900	\$2	\$1 350 000	1 час	35 000—75 000	длина прочтённых геномных участков; скорость	низкая производительность при желаемой малой погрешности; стоимость
IonTorrent	изменение pH в процессе присоединения нуклеотидов	600	\$1	\$50 000	3 часа	до 5 000 000	стоимость; скорость	погрешность
PacBio Sequel <sup>[9]</sup>	нуклеотиды с флуорофором	20 000	\$2	\$600 000	20—30 часов	До 500 000	длина прочтений, точность	количество материала, цена
MinION Mk1B <sup>[10][11]</sup>	изменение силы тока по мере прохождения цепи через нанопору	длина всей НК, до 2 000 000	\$0,47—0,90	\$1000	1 мин — 2 суток	—	длина прочтений, стоимость, отсутствие амплификации и сложных химических превращений	погрешность

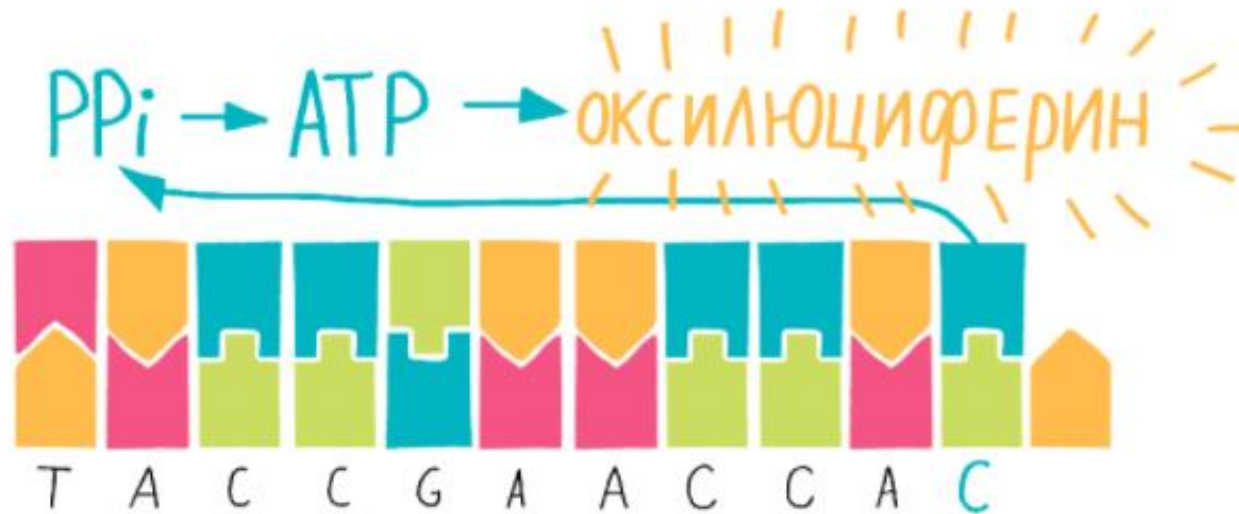
## **Барлық NGS технологиялары үш негізгі қадамнан тұрады:**

1. ДНҚ-ның қысқа фрагменттерге ыдырату (ультракүлгін сәулелену, ферменттер, ультрадыбыс, небулизация)
2. алдын ала амплификациялау – молекулалық кластерлердің түзілуі (эмульсиялық ПТР)
3. ДНҚ фрагментінің амплификацияланған клондарының бірізділігін талдау

Олар қолданылатын секвенирлеу платформасының түріне байланысты белгілі бір дәрежеде өзгеруі мүмкін.

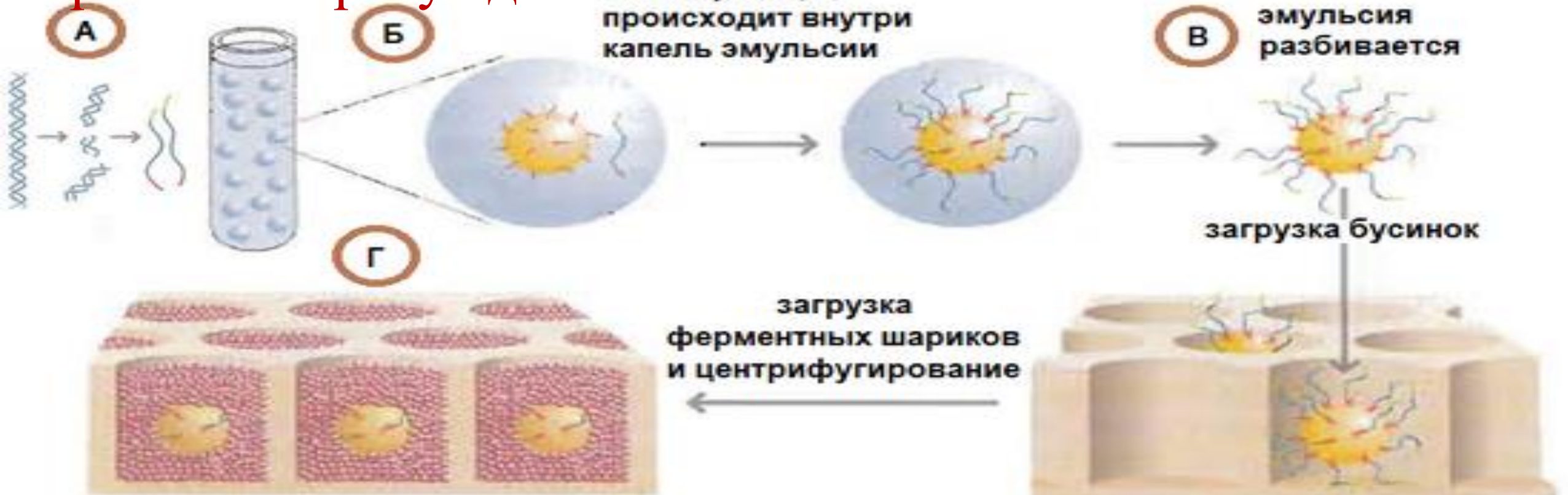
# Пиросиквенирлеу әдісі

- «Синтездеу арқылы секвенирлеу» қағидасына негізделген әдіс.
- Синтезделетін тізбекке нуклеотид енгізілген кезде босап шыққан пирофосфаттардың детекциясы жасалады.
- Технологияны Пол Нирен және оның шәкірті Мұстафа Ронаги 1996 ж. Корольдік Технологиялық Институтында (Стокгольм) құрастырған.



**Пиросеквенирлеу принципі.** Пиросеквенирлеу идеясы ДНҚ полимераза келесі нуклеотидті қосқанда бөлінетін пирофосфатты тіркеу болып табылады. Пирофосфатты анықтау химиялық реакциялар каскады есебінен жүзеге асырылады, ол жарық квантын шығарумен аяқталады.

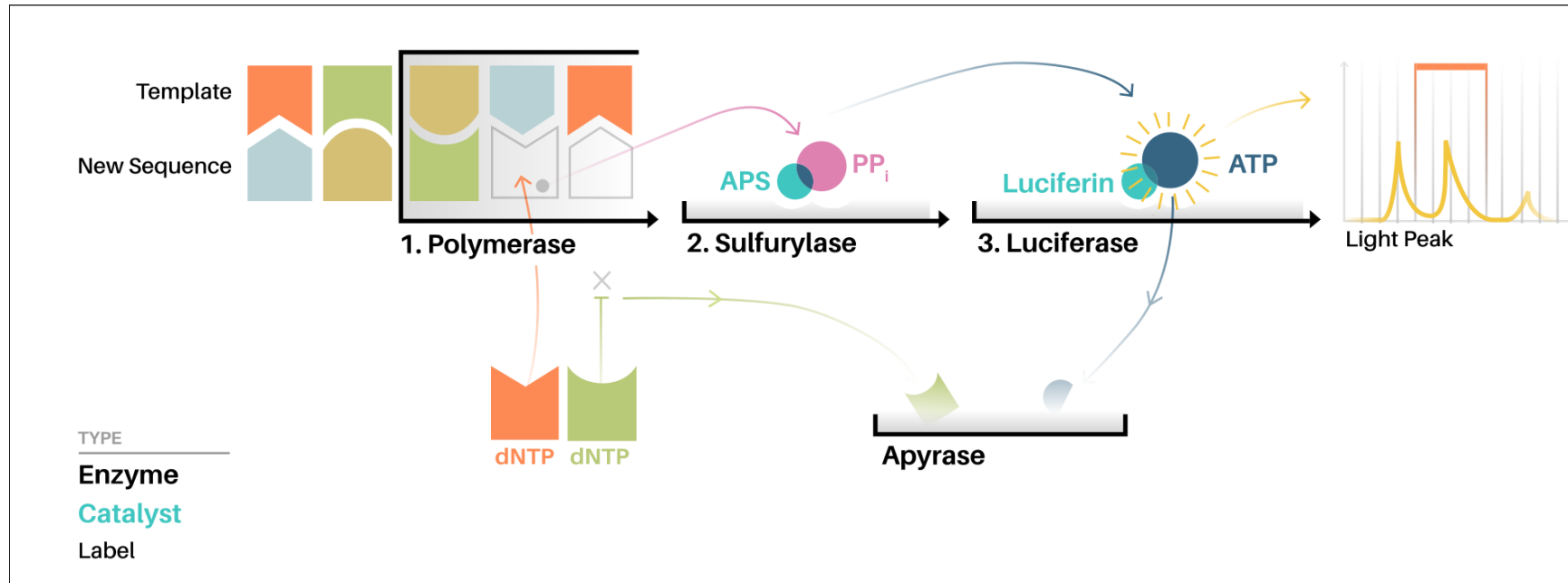
# Пиросеквенирлеу әдісі



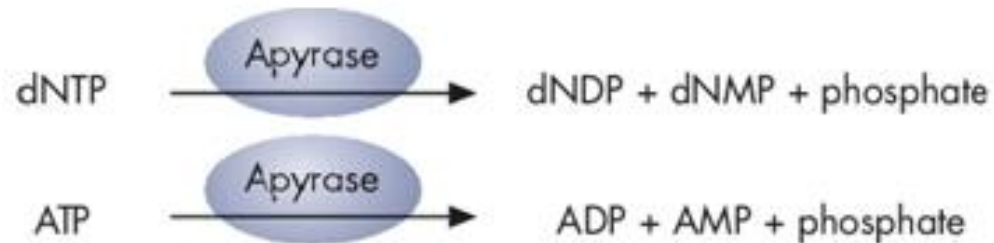
**А** – ДНК фрагменттеліп, фрагменттерге олигонуклеотидтер – «адаптерлер» тігіледі; алынған қос тізбекті ДНК молекулалары екі комплементарлы тізбекке бөлінеді. **Б**- бір тізбекті ДНК молекулалары моншақтарға тек бір молекула енетіндей жағдайлар бекітіледі. Жеке моншақтар маймен қоршалған реакциялық қоспаның тамшыларына салынып, эмульсиялық полимеразды тізбекті реакция (ePCR) нәтижесінде моншақтағы молекулалар саны миллиондаған есе артады. **В** - эмульсия бұзылып, ePCR нәтижесінде түзілген ДНК фрагменттерінің тізбектері бөлінеді. Бастапқы ДНК фрагментінің миллиондаған бір тізбекті көшірмелерін өз бетінде ұстайтын моншақтар талшықты-оптикалық слайдтың ұңғымаларына, әрбір ұңғымада бір-бірден орналастырылады. **Г** - Әрбір ұңғымаға пиросеквенирлеуге қажетті ферменттерді өз бетінде алып жүретін кішірек моншақтар қосылады.

# Пиросиквенирлеу

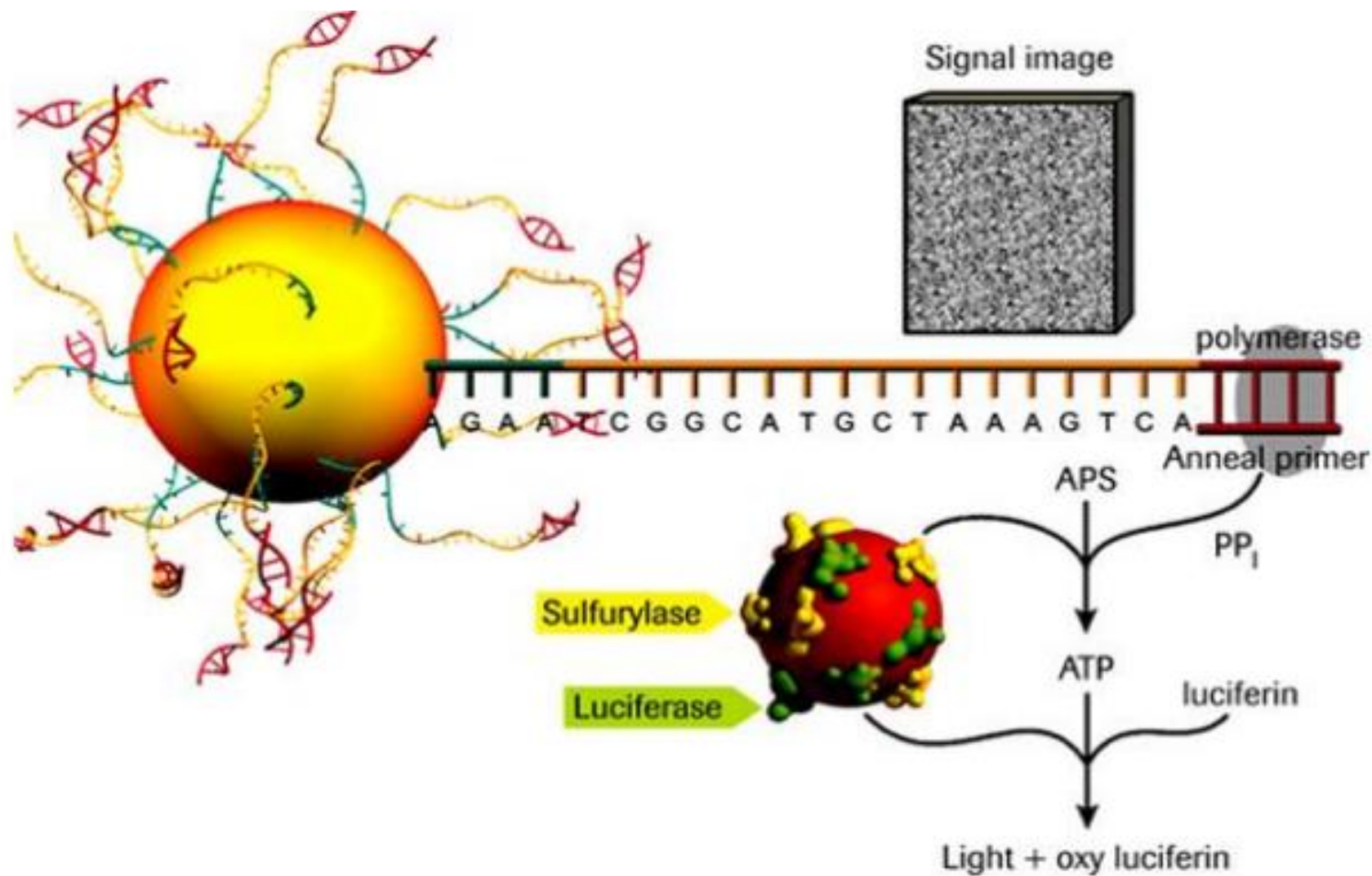
- 3 энзим
- + 2 субстрат (аденозин-5'-фосфосульфат және люцеферин)



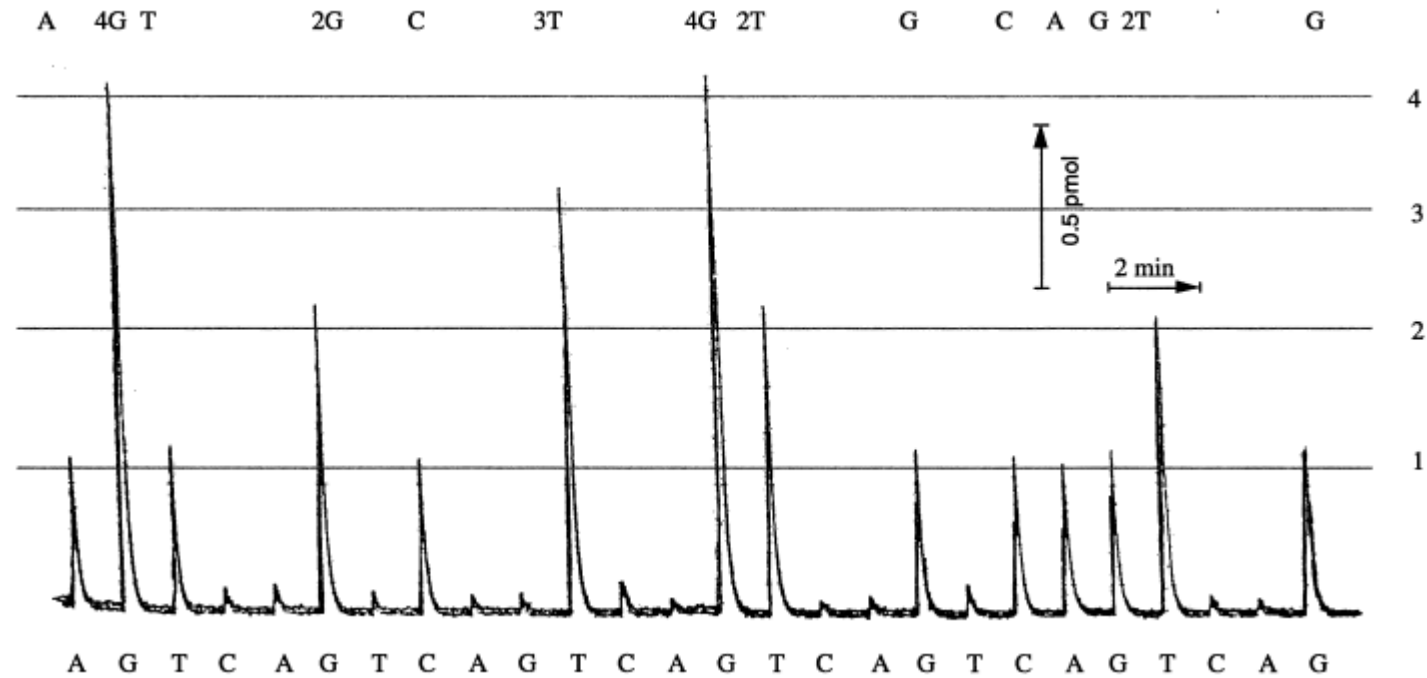
- + апираза (нуклеотидтерді дегдарадияға ұшыратын энзим)



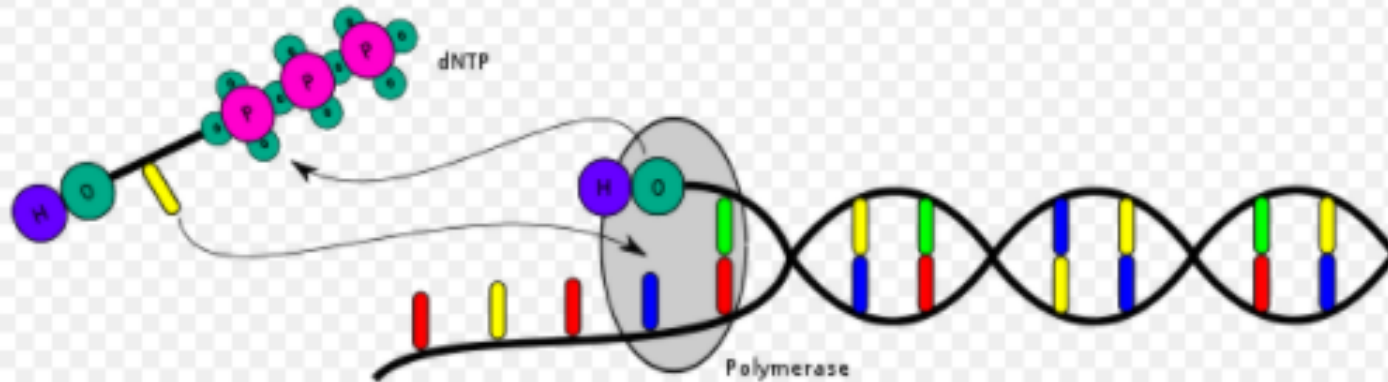
# Пиросиквенирлеу әдісі



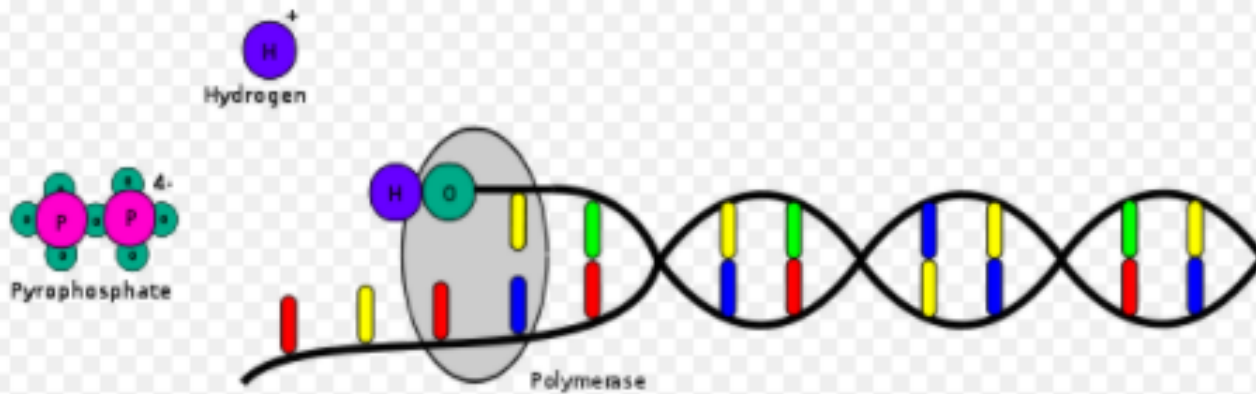
# Пиросиквенирлеу әдісінің нәтижесінің мысалы:



## Ионды жартылай өткізгішті секвенирлеу



Polymerase integrates a nucleotide.



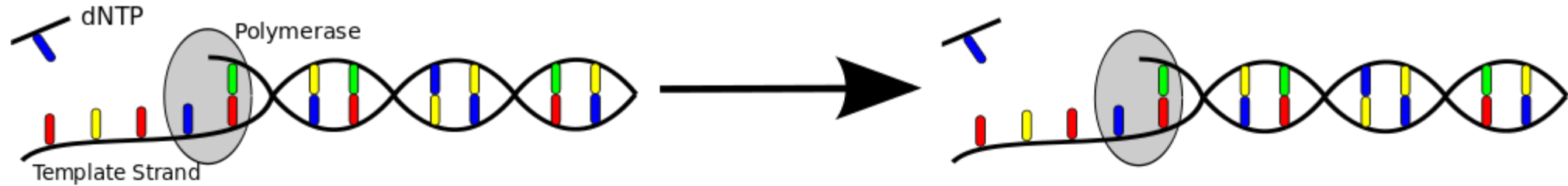
Hydrogen and pyrophosphate are released.

Ion Torrent компаниясының шығарған секвенирлеу әдісі.

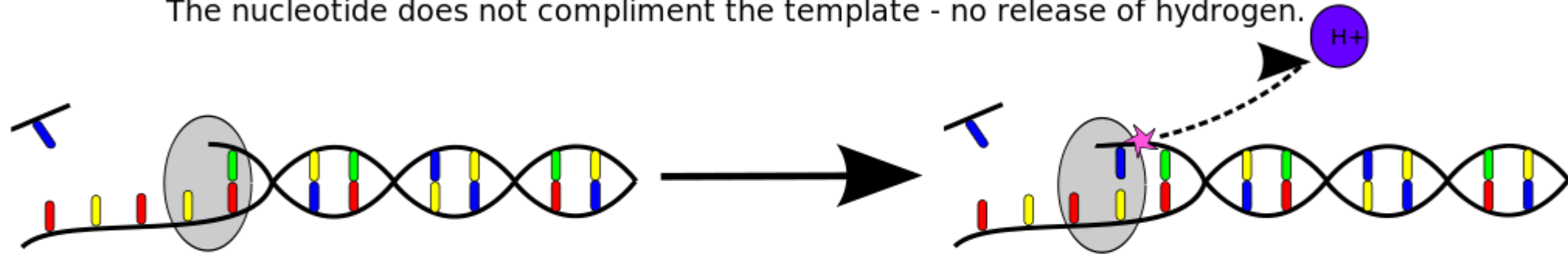
Мұнда секвенирлеу үшін жартылай өткізгішті микрочиптер қолданылады. Қолданылу өте қарапайым және секвенирлеу негізінен реакциялық ортадағы ДНҚ-полимераза ферментінің жұмысындағы рН өзгерісіне негізделген. Бір қадам-200 н



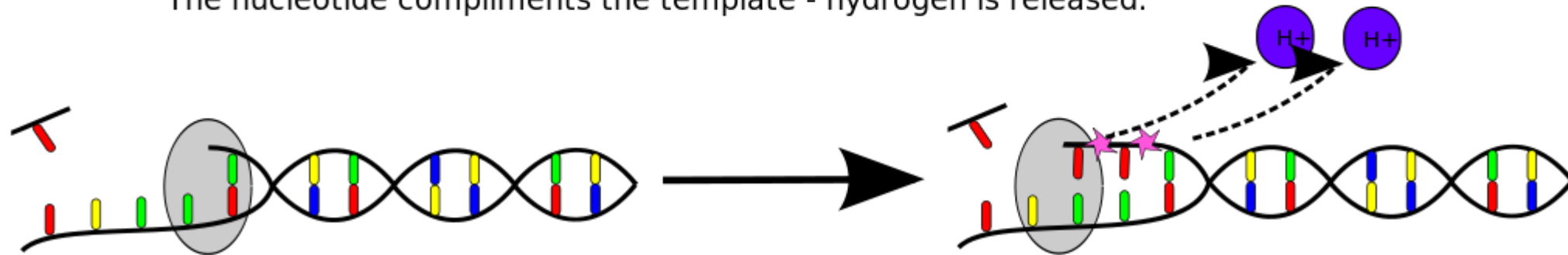
# Бөлінген сутек иондарының мөлшері тізбекке қанша нуклеотид енгізілгенін көрсетеді.



The nucleotide does not compliment the template - no release of hydrogen.

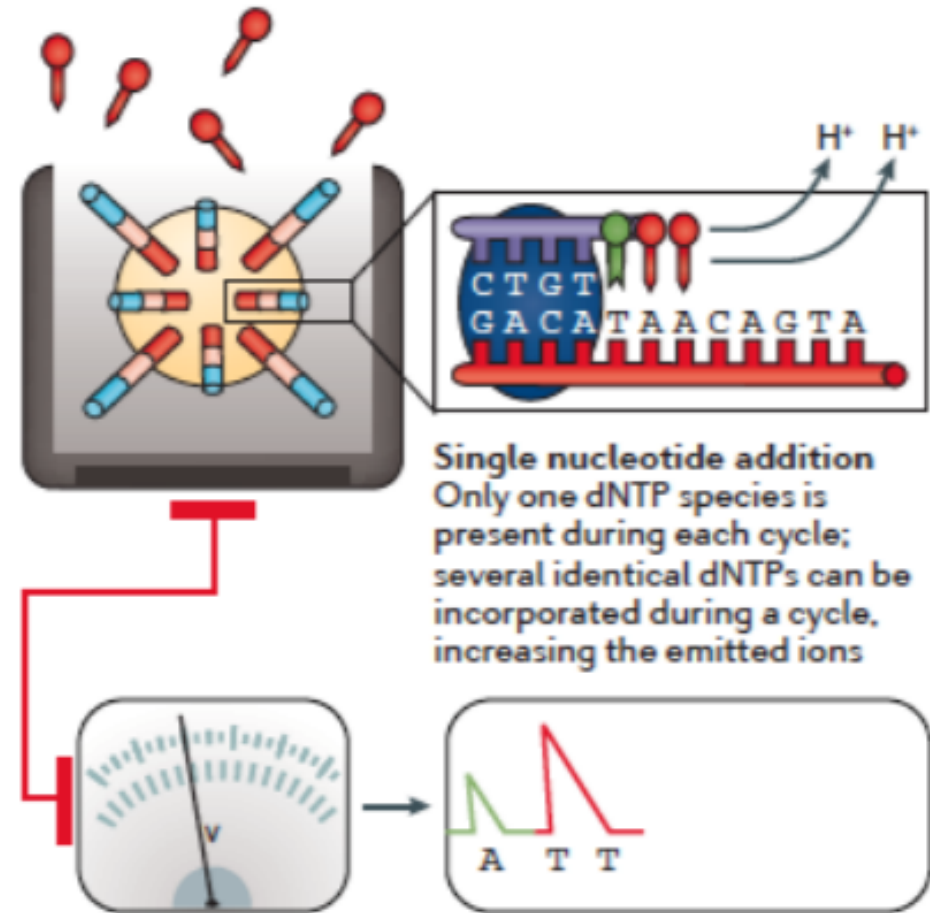
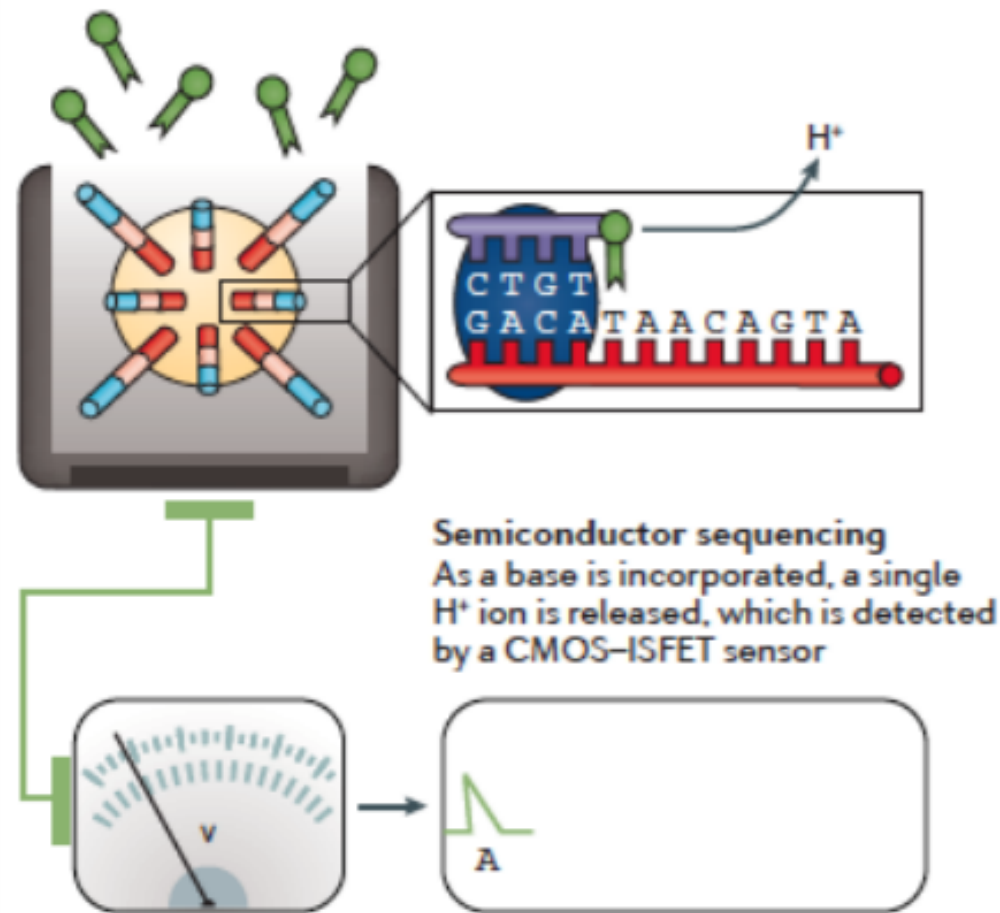


The nucleotide compliments the template - hydrogen is released.

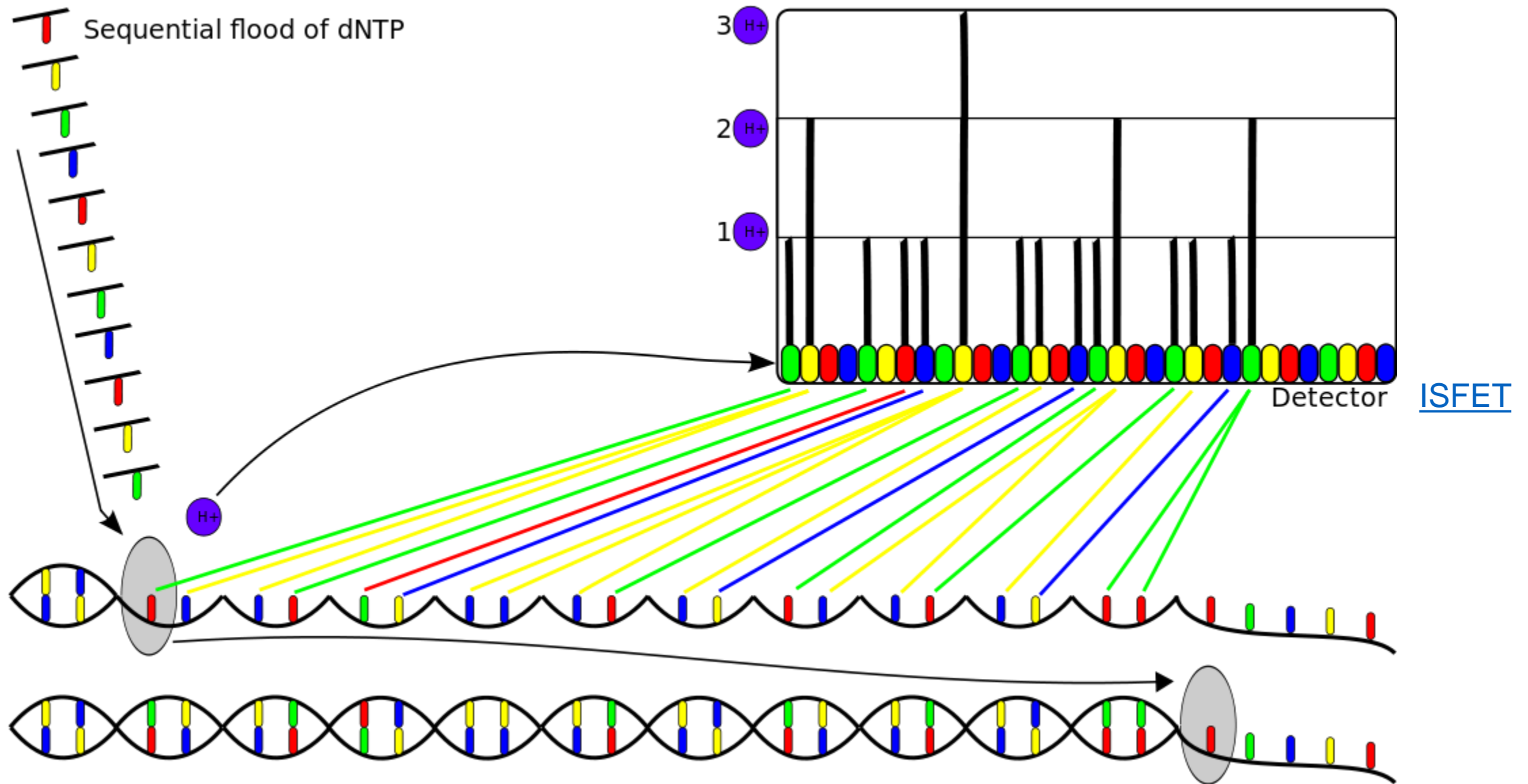


The nucleotide compliments several bases in a row - multiple hydrogen ions are released.

**b** Ion Torrent  
(Thermo Fisher)



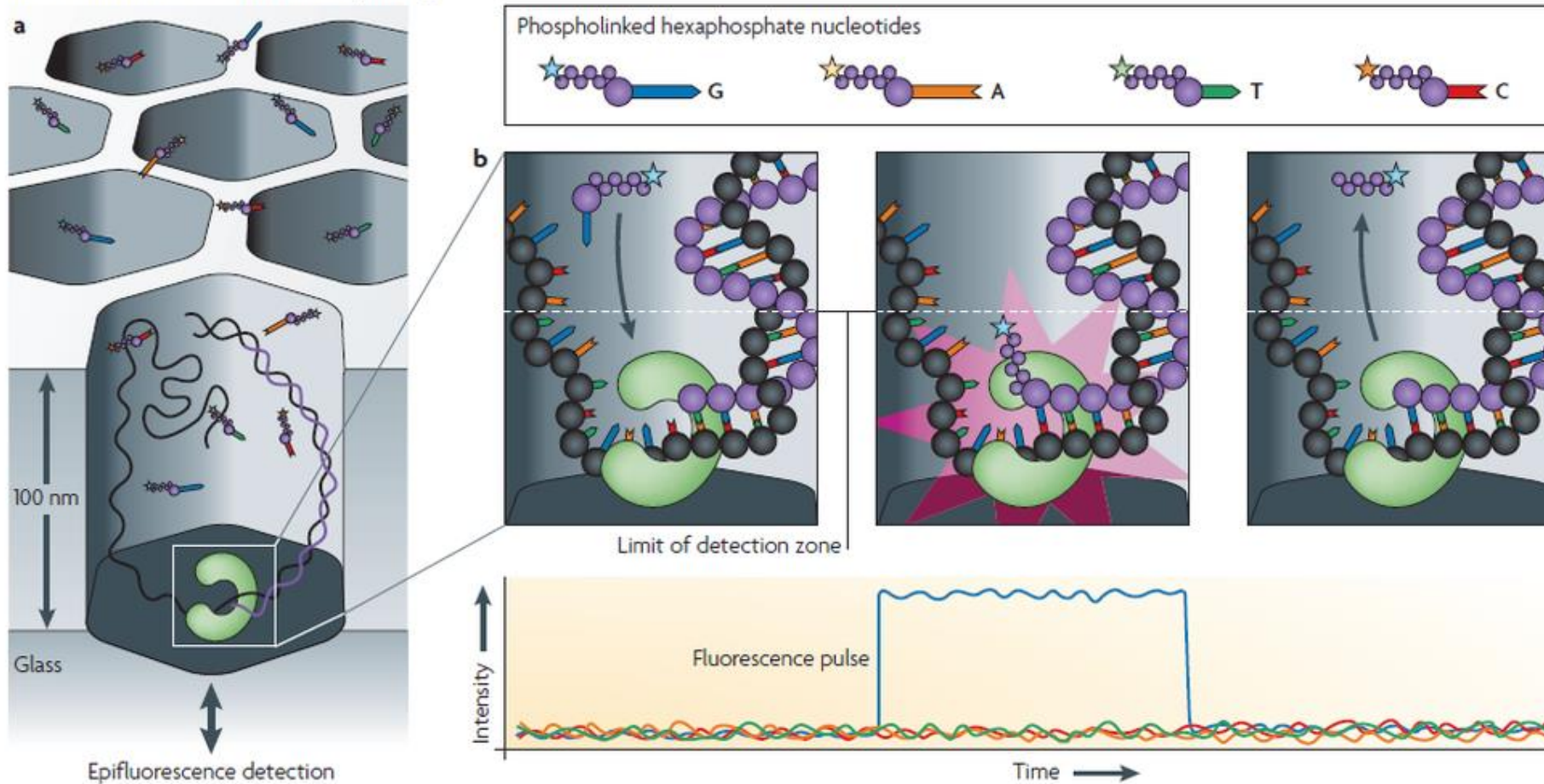
- комплементарный металло-оксидный полупроводник (CMOS)
- ион-чувствительный полевой транзистор (ISFET)



Бөлінген сутек иондары құрылғының датчиктері арқылы анықталады. Бірнеше нуклеотидтердің қатар кіруі босап шығатын иондар мөлшерінің артуына және сәйкесінше сигнал қарқындылығының өсуіне әкеледі.

# Бір молекулаға негізделген секвенирлеу

Pacific Biosciences — Real-time sequencing



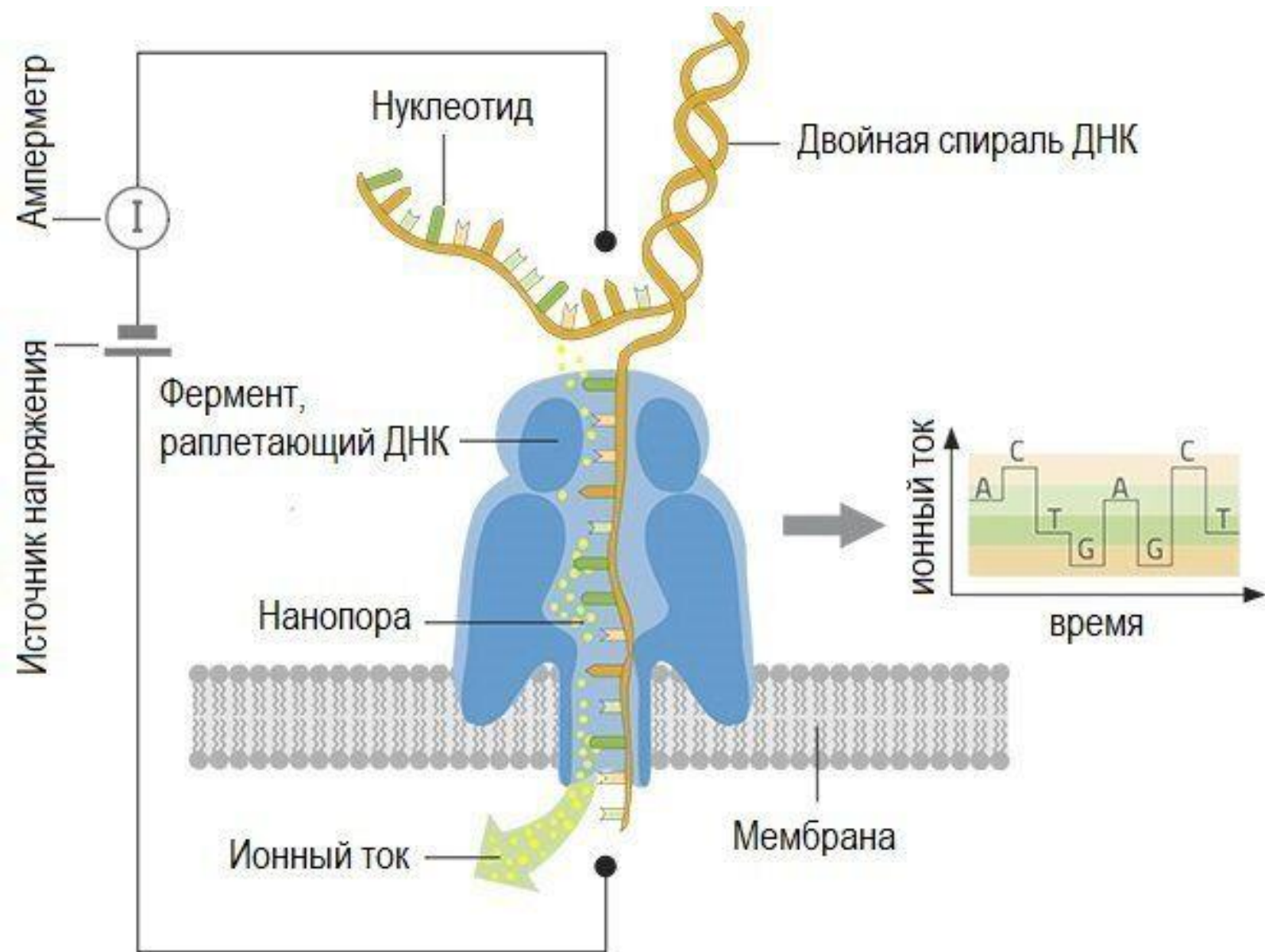
SMRT-  
секвенирлеу  
(single molecule  
real time  
sequencing)  
**Pacific Biosciences**  
КОМПАНИЯСЫ  
ұсынған  
ТЕХНОЛОГИЯ.

Әдістің идеясы - нақты уақыт режимінде бір ДНҚ полимераза молекуласының жұмысын бақылау арқылы ДНҚ тізбегінің бірізділігін анықтау. Бұл жағдайда ДНҚ-полимераза зерттелетін ДНҚ молекуласының екінші тізбегін әр түрлі флуоресцентті белгілермен таңбаланған нуклеотидтер көмегімен синтездейді; Осы белгілерді тіркеу арқылы нақты уақытта ДНҚ-полимеразаның жаңа тізбекке қайсы нуклеотидті енгізіп жатқанын түсінуге болады.

## Үшінші буынның секвенирлеу әдісі

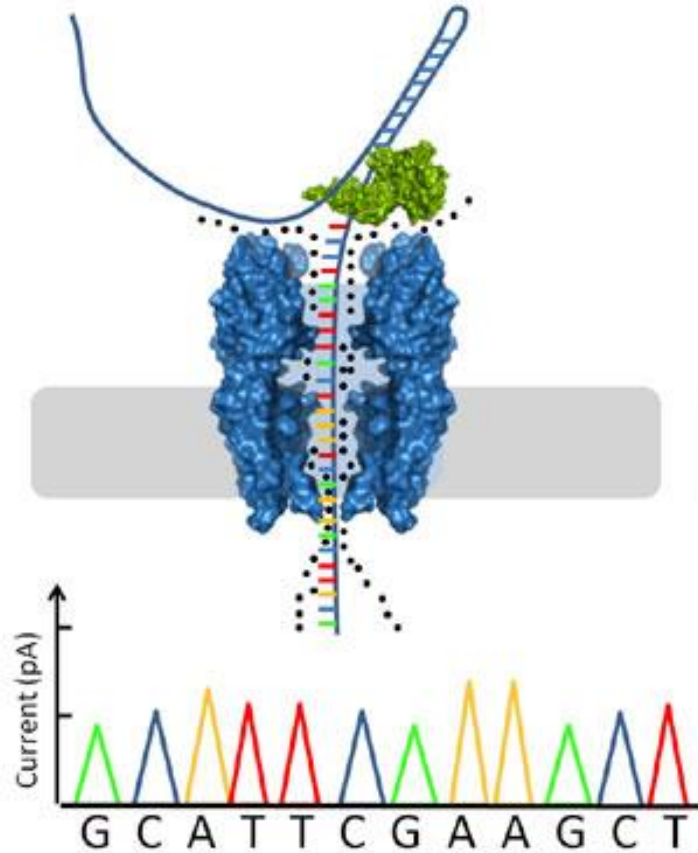
### Oxford Nanopore

- Бұл принцип ақуызды нанопоралары бар мембраналардан ДНҚ молекуласын тартып өткізуге негізделген. USB дискінің өлшеміндей секвенатор қолданылады. Жоғары жылдамдық, өте жоғары қателік деңгейі, төмен өнімділік (әзірге!)

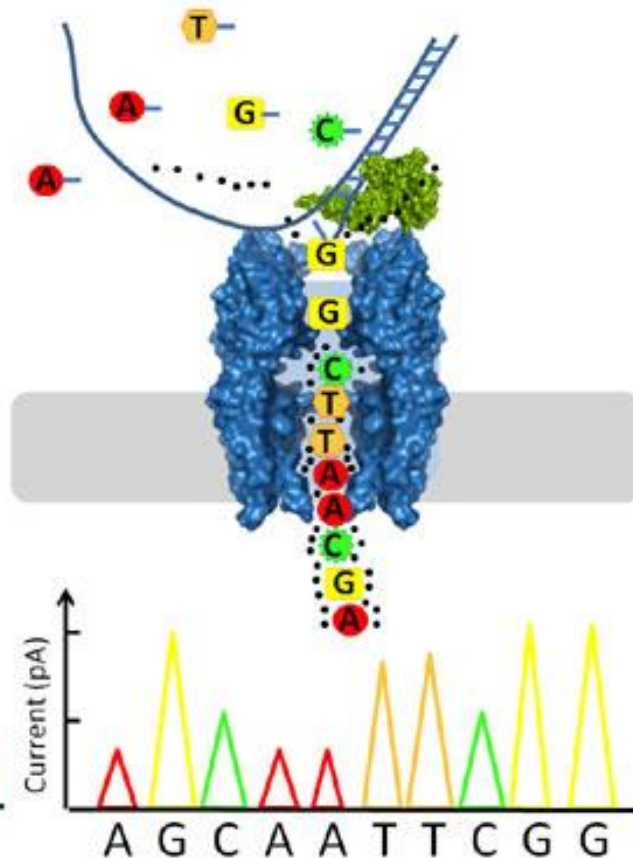


# Nanopore Sequencing Technologies

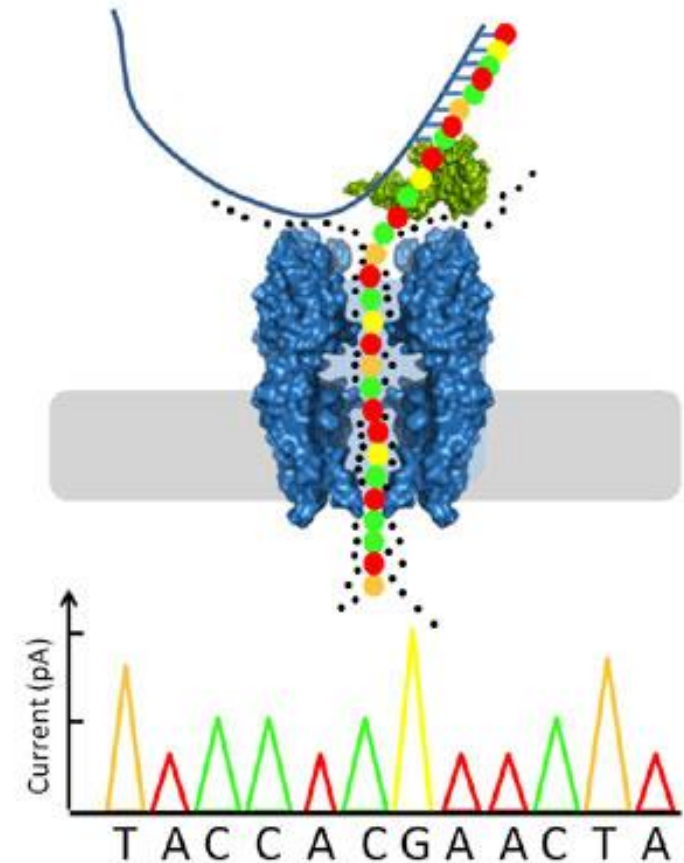
A) Oxford Nanopore Technologies



B) Genia Technology



C) Stratos Genomics



Semiconductivity based measurements of current flow changes are translated into DNA sequence information



## NGS секвенирлеу нәтижелерін қолдану

- 1. Толық геномды талдау** (оның ішінде ресеквенирлеу және *de novo* секвенирлеу).
- 2. РНҚ молекуласын секвенирлеу (RNA-Seq)**, гендердің экспрессиясын сапалық қана емес, сонымен бірге сандық жағынан бағалау үшін қолданылады. Сонымен бірге геннің кодтайтын және реттейтін бөліктерінің экспрессиясын жеке қарастыруға болады.
- 3. Метагеномды секвенирлеу** — әртүрлі үлгілердегі микроорганизмдердің әртүрлілігін зерттеуге бағытталған. Әртүрлі ортада болатын бактерияларды бағалауға, мысалы, адам ішегінде болатын микроорганизмдерді сипаттауда және т.б. жағдайларда қолданылады.
- 4. Таргетті секвенирлеу (экзомды секвенирлеу, митохондрия гендерін секвенирлеу, ампликондарды секвенирлеу)**. Зерттеушінің таңдап алған жеке гендерін секвенирлеу, немесе тек митохондрия гендерін секвенирлеу, Таргетті секвенирлеу жүргізілетін зерттеу жұмысының мақсатына байланысты тәжірибенің құнын мейлінше төмендетеді.



**Бір молекулаға негізделген секвенирлеу технологиясы  
туралы видео орналастырылған сайттар**

<https://nanoporetech.com/how-it-works>

<https://nanoporetech.com/how-it-works/what-happens>