**Нанопоровое секвенирование для de novo определения бактериальных геномов.**

**Хренова М.Г.,1 Панова Т.В.,1 Родин В.А.,1 Сергеев А.С.,1 Кубарева Е.А.,2 Трефилов В.С.,1 Цавкелова Е.А.,3 Зверева М.Э.1**

*1 Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3,* *grant-mz@yandex.ru*

*2 НИИ Физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского МГУ, 119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 40*

*3 Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр.12*

Нанопоровое секвенирование (ONT) - это современный метод определения нуклеотидных последовательностей нуклеиновых кислот, который позволяет получать длинные непрерывные прочтения тысяч нуклеотидных остатков полинуклеотидной цепи без биоинформатической сборки, сложности со сборкой повторяющихся последовательностей и амплификации во время секвенирования по сравнению с секвенированием следующего поколения (NGS), что позволило приблизится к завершению проекта геном человека [1]. ONT также позволяет получать информацию о химической модификации нуклеотидных остатков последовательностей, например, метилирования. Это открывает новые возможности в геномике микроорганизмов. Секвенирование с помощью нанопор облегчает полногеномную сборку новых геномов на основе данных NGS, гибридную сборку называют золотым стандартом и активно используют в полногеномном анализе, в качестве примера [2]. Нанопоровое секвенирование может помочь в определении масштабных генетических изменений, приводящих к адаптации микроорганизмов, например, к появлению устойчивости к антибиотикам. В работе [3] мы проверили эффективность технологии ONT для сборки геномов de novo и определения как глобальных изменений (делеции, вставки), так и точечных на уже охарактеризованном генома. Для этого провели полногеномный анализ известного штамма E. coli, характеризующегося делецией гена TolC и определенными однонуклеотидными вариациями, приводящими к устойчивости к антибиотикам. Мы провели сборку в отсутствие эталонного генома и определили минимальную глубину охвата для получения полного генома, в зависимости от качества данных ONT и необходимую глубину покрытия для определения однонуклеотидных вариаций. В зависимости от метода получения геномной ДНК, длина прочтений и необходимое покрытие для достоверной сборки различалось. Были подобраны оптимальные условия получения геномной ДНК для нанопорового анализа. Возможность использования только данных нанопорового секвенирования была подтверждена на модифицированных геномах В.subtilis, производящих сурфактанты, а также при анализе новых бактериальных геномов.

***Литература:***

1. Eisenstein,M. Closing in on a complete human genome. – Nature, 2021. - **590**(7847), 679-681с.

2. Podosokorskaya O. A., Klyukina A. A., Panova T. V., Rodin V. A., Zvereva M. I., Tulenkov A. S., Lebedinsky A. V., Kublanov I. V., Elcheninov A. G. Draft genome sequence of thermomicrobium sp. strain 4228- ro, a thermophilic bacterium isolated from a kamchatka hot spring. - Microbiology Resource Announcements. 2023. - **12**(3), 1–2с.

3. Khrenova M.G., Panova T.V., Rodin, V.A., Kryakvin M.A., Lukyanov D.A., Osterman I.A., Zvereva M.I. Nanopore Sequencing for De Novo Bacterial Genome Assembly and Search for Single-Nucleotide Polymorphism. - Int. J. Mol. Sci. 2022, - **23** (15), 8569р.

Работа выполнена при финансовой поддержке МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ, проект 075-15-2021-1396.