

Как работает генетический анализатор

Генетическими анализаторами называются приборы для анализа ДНК методом капиллярного электрофореза. Такие приборы позволяют разделять одноцепочечные молекулы ДНК разной длины с разрешением в один нуклеотид в диапазоне от 20 до 950 нуклеотидов. Разделение молекул лежит в основе двух подходов к анализу – фрагментного анализа ДНК и секвенирования по методу Сэнгера.

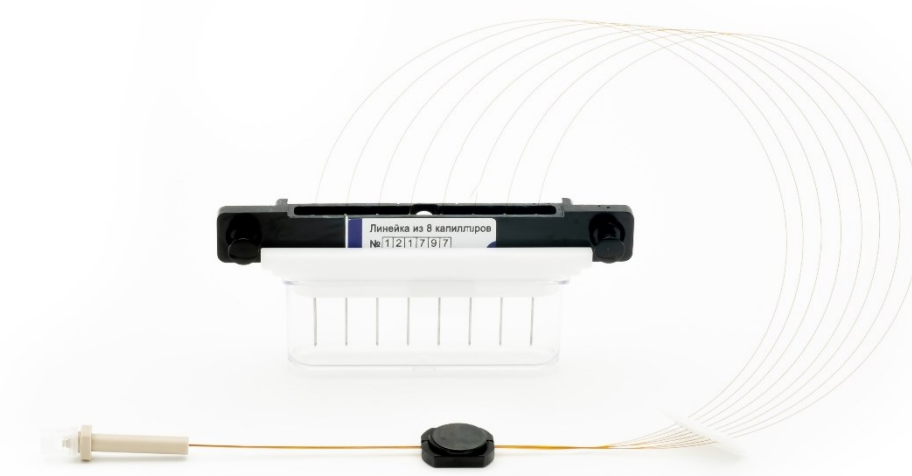


Рисунок 1. Линейка капилляров для генетического анализатора Нанофор 05

Разделение молекул ДНК происходит за счёт электрофореза в капиллярах. Материал капилляров — диоксид кремния, или плавненное кварцевое стекло. В приборе НАНОФОР 05 используется линейка из 8 капилляров, что позволяет анализировать несколько образцов параллельно. Внутренний диаметр капилляров составляет 50 мкм. Для улучшения механической прочности снаружи они покрыты защитным полиимидным слоем. Капилляры имеют высокое соотношение площади поверхности к объему, и это позволяет более эффективно рассеивать тепло, что, в свою очередь, позволяет использовать сильные электрические поля для более быстрого разделения фрагментов ДНК.

Разделение происходит в полимере, которым заполнены капилляры. Полимер работает как молекулярное сито: короткие фрагменты ДНК проходят между молекулами полимера быстрее, длинные — тормозятся. Без полимера все фрагменты двигались бы почти с одинаковой скоростью,

и разделения бы не происходило. В качестве полимера используют линейный полидиметилакриламид (ПДМА). ПДМА внутри капилляра адсорбируется на стенке, обеспечивая динамическое покрытие, что создает условия для хорошего разделения: подавляется электроосмотический поток и предотвращается прилипание ДНК к стенке. Это повышает эффективность разделения ДНК и точность анализа.

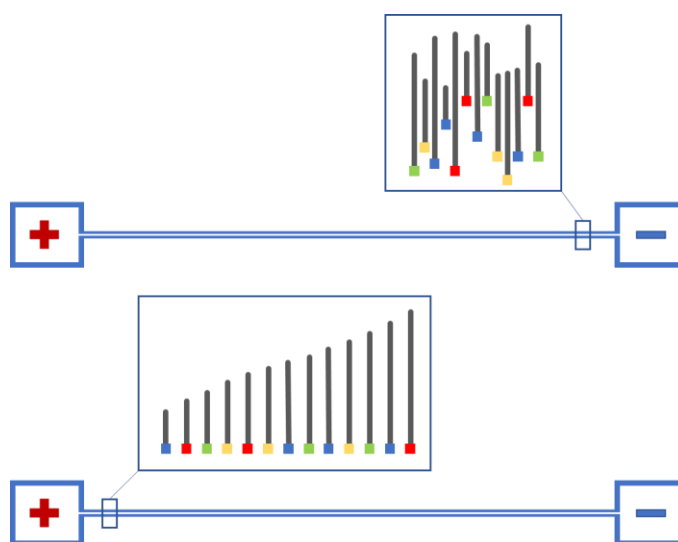


Рисунок 2. Схематическое изображение разделения молекул ДНК пробы при движении от отрицательно к положительно заряженному электроду

Капилляры расположены между электродами. Один электрод заряжен положительно (анод), второй отрицательно (катод), это обеспечивает электрическое поле. Молекулы ДНК несут отрицательный заряд и в электрическом поле начинают двигаться от катода к аноду. Скорость их движения в полимере зависит от длины. Поэтому в электрическом поле молекулы постепенно разделяются по размеру: чем короче фрагмент ДНК, тем быстрее он мигрирует.

За автоматическую смену полимера в капиллярах отвечает насос. Насос выдавливает старый полимер в емкость для сброса. С полимером выходят остатки ДНК от предыдущего анализа.

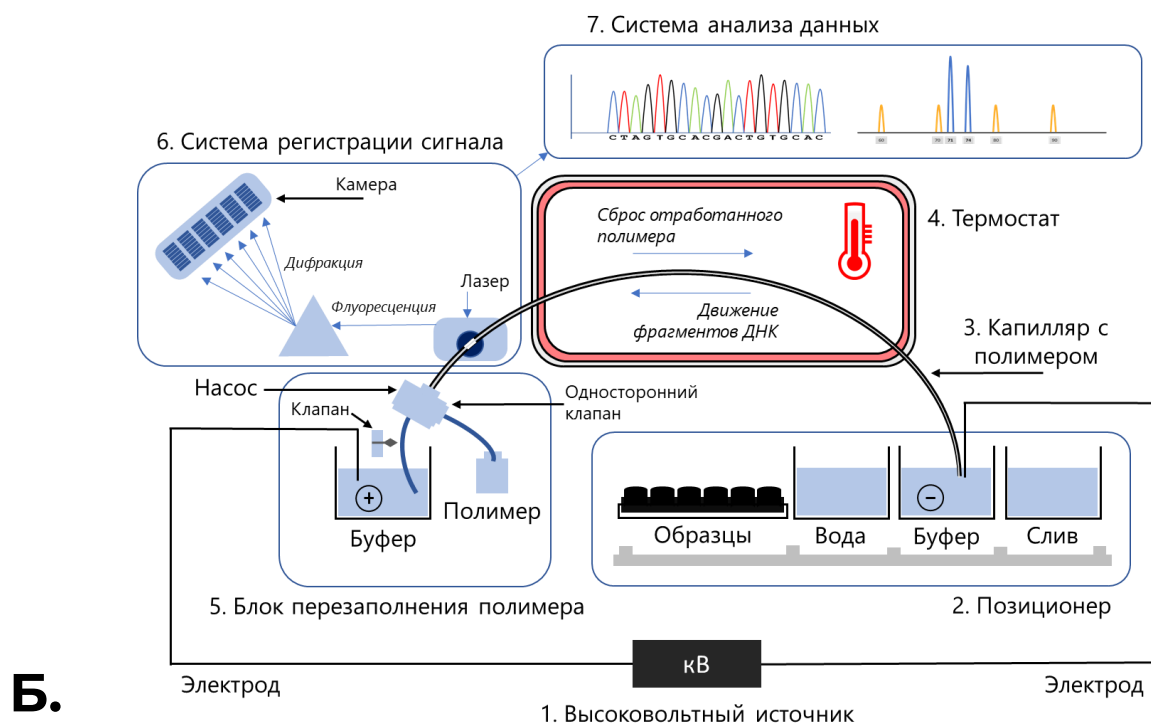
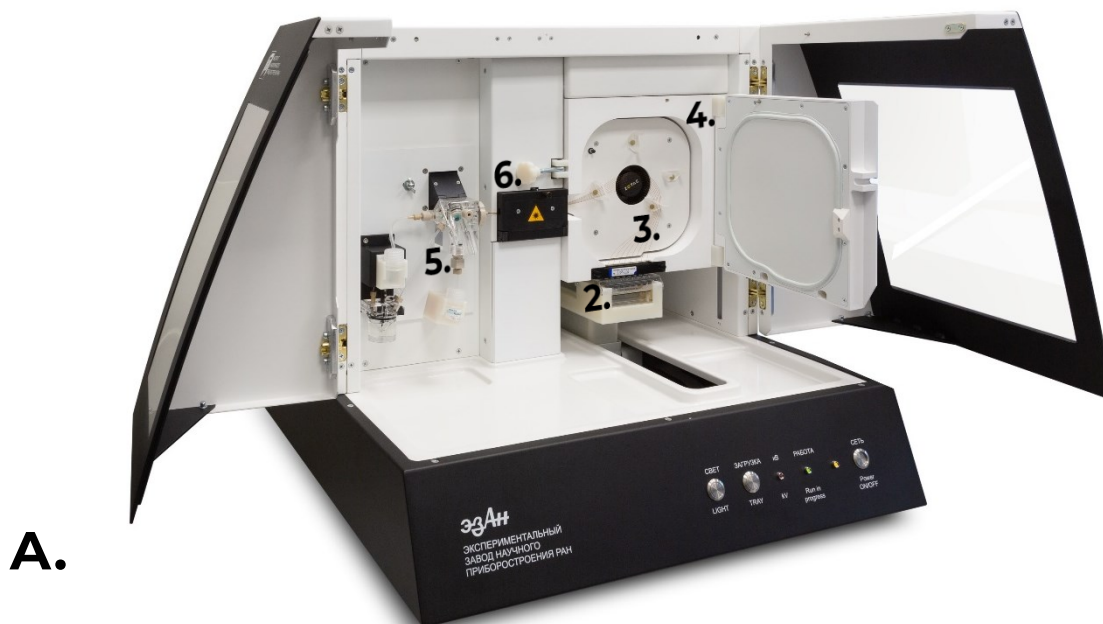


Рисунок 3. Схема модулей генетического анализатора Нанофор 05

Основными модулями генетического анализатора являются высоковольтный источник (1), позиционер (2), на который устанавливают образцы и жидкости для работы анализатора (катодный буфер, воду для промывки капилляров, воду для слива отработанного полимера), линейка капилляров (3), термостат (4), блок перезаполнения полимера (включающий емкости с полимером и анодным буфером и насос) (5), система регистрации сигнала (6) и система анализа данных (7).

А: фотография генетического анализатора НАНОФОР 05, **Б:** схема основных модулей прибора.

Перед разделением проводится префорез — выравнивание зарядов между буфером и полимером. Префорез нужен, чтобы ионы буфера равномерно распределились в полимере и создали стабильное электрическое поле по всей длине капилляра. Без этого скорость движения фрагментов будет непостоянной, и результаты не воспроизведутся. Для префореза капилляры погружаются в буфер, и включается высоковольтный источник на заданный промежуток времени (обычно — на 180 сек).

После префореза и после инъекции образца кончики капилляров ополаскиваются в контейнере для промывки «Вода». Промывка нужна, чтобы убрать с кончиков капилляров остатки буфера или образца, которые могут загрязнить следующие растворы и исказить результаты.

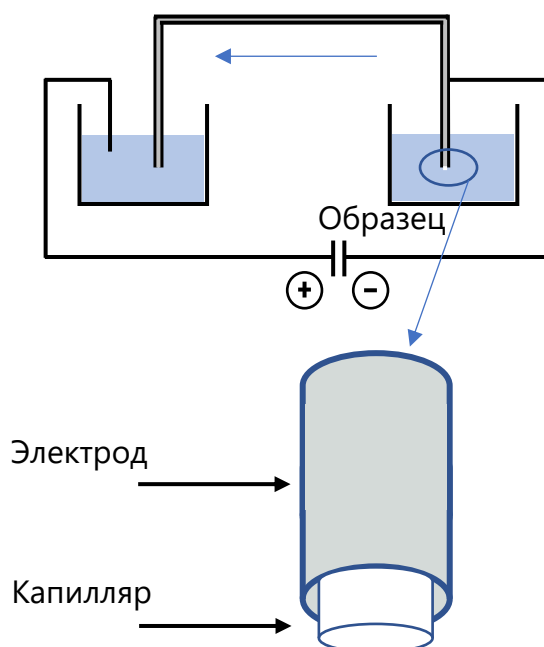


Рисунок 4. Конец капилляра помещен в металлическую трубку, которая контактирует с электродом

Образцы проникают в капилляры во время электрокинетической инъекции. Капилляры погружаются в лунки планшета с образцами. Для инъекции на концы капилляров, которые помещены в металлические трубочки, подается напряжение, и отрицательно заряженные молекулы заходят внутрь, стремясь к положительно заряженному электроду на другом конце капилляра.

Капилляры, по которым под действием электрического поля движутся фрагменты ДНК, расположены внутри **термостата**. В термостате

поддерживается постоянная температура (обычно 60°C), что повышает скорость протекания электрофореза и нужно для получения воспроизводимых времен миграции фрагментов ДНК. Также при повышенной температуре ДНК денатурирует (до одноцепочечных молекул). Без денатурации вторичные структуры (например, шпильки) искажали бы подвижность целевых молекул. За поддержание стабильной температуры отвечает элемент Пельтье – термоэлектрический элемент, который может и нагревать, и охлаждать.

Образцы, преодолев путь в 36 см (или 50 см в зависимости от длины капилляров), проходят через **окно детекции**, в котором считывается сигнал флуоресценции. Чтобы повысить разрешение, это окно также термостатируется. Длина капилляра определяет границы разрешения: чем длиннее капилляр, тем лучше разделяются более длинные фрагменты (но тем дольше анализ).

Как происходит считывание? Лазер возбуждает флуоресцентную метку, которой мечен фрагмент ДНК. Этот сигнал попадает на дифракционную решетку, где расщепляется по спектру.

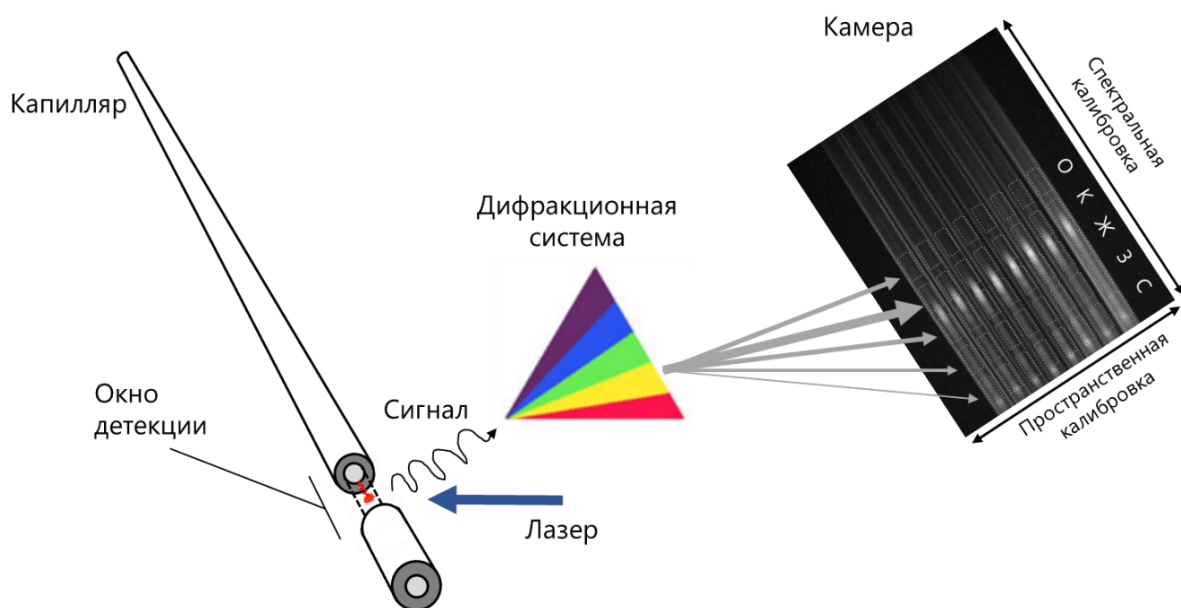
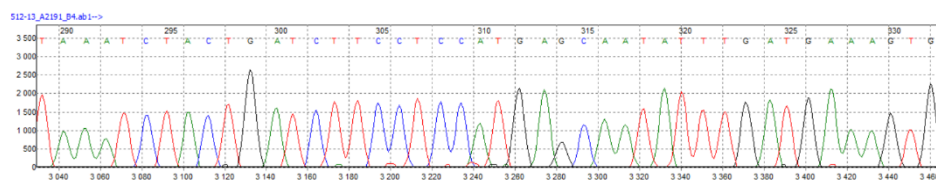


Рисунок 5. Детекция флуоресцентного сигнала

Затем он попадает на **КМОП-камеру**. КМОП-камера – это матрица светочувствительных элементов, каждый из которых преобразует свет в электрический сигнал. Это позволяет параллельно считывать сигнал со всех капилляров. Под действием света в камере возникает электрический

При секвенировании пики соответствуют четырём видам нуклеотидов, на которые оканчиваются молекулы ДНК, полученные в реакции секвенирования. Для распознавания оснований А, Т, G, С используются 4 красителя. Анализ графика позволяет расшифровать нуклеотидную последовательность.



Для фрагментного анализа может использоваться до 7 красителей в одном анализе. При этом одним из красителей метят внутренний стандарт длин, необходимый для расчета длин анализируемых фрагментов ДНК.

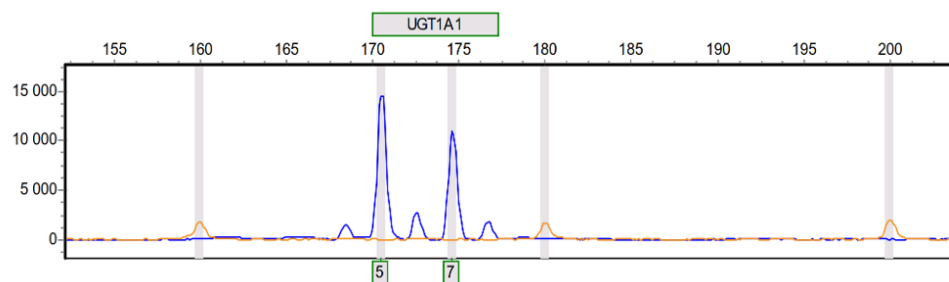


Рисунок 7. Результаты фрагментного анализа на НАНОФОР 05. Набор реагентов «Синдром Жильбера (Gilbert Syndrome)» (Синтол) для определения количества ТА-повторов в промоторной области гена *UGT1A1*. Вид образца с гетерозиготным аллельным вариантом нормы: (ТА)₅/(ТА)₇.

Прибор поддерживает режим работы в неденатурирующих условиях. При электрофорезе в неденатурирующих условиях с интеркалирующим красителем проводится размерный и полуколичественный анализ нуклеиновых кислот в образце. Это приложение востребовано, например, при оценке NGS-библиотек.

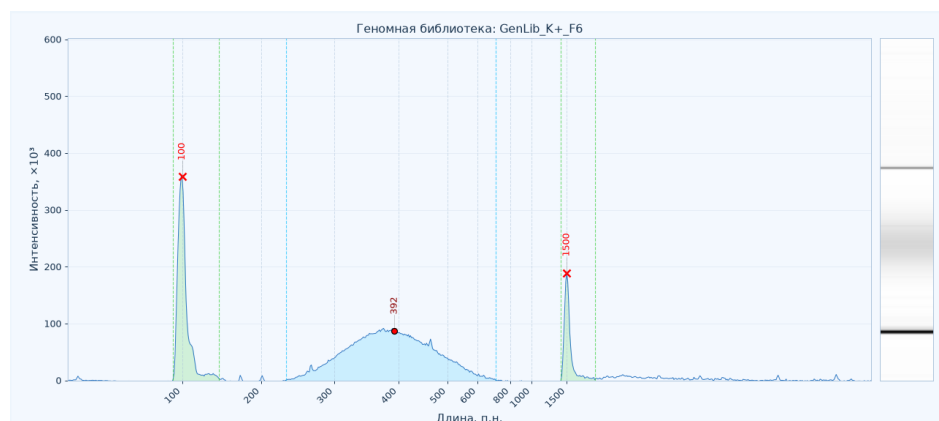


Рисунок 8. Результаты анализа геномной библиотеки на НАНОФОР 05 в неденатурирующих условиях. Анализ образца в программе «ДНК НД».

С 2014 года в России серийно выпускается генетический анализатор НАНОФОР 05. Прибор разработан и производится консорциумом «Российские генетические технологии» в составе Института аналитического приборостроения РАН (г. Санкт Петербург), завода ФГУП ЭЗАН (г. Черноголовка) и ООО «НПФ Синтол» (г. Москва).

Разработка и производство приборов такого класса является одной из наиболее наукоемких отраслей в биотехнологической индустрии, поэтому на мировом рынке серийный выпуск генетических анализаторов осуществляется всего в трёх странах, имеющих соответствующую научно-технологическую базу: в США (производство передано на завод фирмы Hitachi, Япония), России и Китае.

Приборы Нанопор 05 используются для решения широкого круга задач в различных областях медицины, животноводства, растениеводства, ветеринарии, рыбного хозяйства, в карантинной службе, в санитарно-эпидемиологическом контроле, в криминалистике, биотехнологии и в фундаментальных научных исследованиях.

- Регистрационное удостоверение на медицинское изделие №РЗН 2015/3474 от 11 марта 2022 г.
- Включен в Реестр российской промышленной продукции (реестровая запись № 10837138 от 20.05.2026 г.)

Информация для заказа

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗАТОР НАНОФОР 05

Нанофор-МБ Генетический анализатор НАНОФОР 05. Оснащен специализированным программным обеспечением для Молекулярно-Биологических исследований (секвенирование и фрагментный анализ ДНК)

Нанофор-ИЛ Генетический анализатор НАНОФОР 05. Оснащен специализированным программным обеспечением для Идентификации Личности (секвенирование и фрагментный анализ ДНК)

РЕАКТИВЫ И РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗАТОРА НАНОФОР 05

Кат. номер	Название
ПД-0407	Полимер для капиллярного электрофореза «ПДМА-4», 7 мл
ПД-0607	Полимер для капиллярного электрофореза «ПДМА-6», 7 мл
POP-0407	Полимер для капиллярного электрофореза «ПДМА-4 НID», 7 мл
ПНД-0407	Полимер «ПДМА-4-НД» для неденатурирующего электрофореза, 7 мл
БТС-0050	10-кратный буфер для капиллярного электрофореза «ТАПС», 50 мл
ЛК-50	Линейка капилляров длиной 50 см
ЛК-36	Линейка капилляров длиной 36 см
SQ-104-20	Антииспаритель для 96-луночного планшета Нанофор 05, 20 шт в упаковке
SQ-105-20	Антииспаритель для резервуаров Нанофор 05 (буфер, вода, слив), 20 шт/упак
SQ-106	Планшет 96-луночный для ПЦР, 10 шт/упак
NPH-W250	Высокоочищенная вода для обслуживания прибора Нанофор 05, 250 мл
DIFA-10	Деионизированный формамид для электрокинетической инъекции образцов

Реактивы доступны в различных фасовках.

Мы будем рады помочь вам подобрать оптимальный вариант.



ООО «НПФ Синтол» | 127550, Москва, Тимирязевская, 42
т (495) 984-6993 многоканальный | syntol@syntol.ru