

## **АННОТАЦИЯ**

выпускной квалификационной работы по теме

**"Поиск олигонуклеотидных праймеров для полногеномного секвенирования второго генотипа вируса Западного Нила"**

**Исполнитель:** студентка 401 группы медико-биологического факультета Волгоградского государственного медицинского университета Е. А. Лактионова (направление подготовки «Биология», профиль «Генетика»)

**Научный руководитель:** ассистент кафедры молекулярной биологии и генетики, к.м.н. К.В. Жуков

**Научный консультант:** научный сотрудник сектора биоинформационного анализа ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, И.М. Шпак

**Сроки выполнения:** 2015-2016 уч. год.

**Цель исследования:** Выбрать мишени для полногеномного секвенирования второго генотипа вируса Западного Нила, циркулирующего на территории РФ.

**Задачи исследования:**

1. Провести анализ геномов изолятов ВЗН, представленных в генетической базе данных GenBank (NCBI) выделенных на территории Волгоградской области.
2. Осуществить поиск олигонуклеотидных затравок, представленных в литературных источниках, пригодных для секвенирования генома ВЗН.
3. Оптимизировать условия постановки ПЦР с отобранными праймерами.
4. Осуществить секвенирование полученных ампликонов.

**Дизайн исследования:**

1. Для выбора мишеней для полногеномного секвенирования второго

генотипа вируса Западного Нила на первом этапе необходимо осуществить поиск олигонуклеотидных праймеров, ранее использованных для секвенирования генома ВЗН.

2. На втором этапе исследования произвести поиск доступных полногеномных последовательностей ВЗН II генотипа, проанализировать *in silico* олигонуклеотидные праймеры, оценить их характеристики:
  - 2.1. Осуществить отбор праймеров, обладающих необходимыми характеристиками (оптимальная температура отжига, оптимальная длина нуклеотидной последовательности, сайт-специфичность);
  - 2.2. В случае отсутствия праймеров с необходимыми характеристиками, осуществить подбор олигонуклеотидных затравок самостоятельно.
3. На третьем этапе нам необходимо осуществить амплификацию фрагментов генотипа ВЗН с подобранными ранее праймерами:
  - 3.1. Оптимизировать условия постановки ПЦР с выбранными праймерами;
  - 3.2. В случае отсутствия положительного результата, осуществить поиск новых пар праймеров.
4. На завершающем этапе исследования выполнить секвенирование полученных ампликонов и осуществить сборку нуклеотидной последовательности генома ВЗН II генотипа.

#### **Предполагаемые пути решения задач:**

В результате анализа статей в рецензируемых научных журналах будет осуществлен поиск олигонуклеотидных затравок, используемых для секвенирования генома ВЗН. Поиск полногеномных последовательностей

ВЗН II генотипа для проверки специфичности отобранных праймеров *in silico* будет проводиться в базе данных GenBank. Самостоятельный подбор праймеров для амплификации и секвенирования генома вируса Западного Нила планируется осуществлять при помощи программы Primer-BLAST.

Для получения продуктов амплификации пригодных для дальнейшего секвенирования, будет оптимизирован как состав реакционной смеси, так и термические циклы ПЦР. Детекция продуктов реакции будет осуществляться методом горизонтального электрофореза в агарозном геле

Определение нуклеотидной последовательности полученных ампликонов будет проводиться при помощи набора для циклического секвенирования BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit, с детекцией конечного продукта на генетическом анализаторе ABI PRISM 3130 Applied Biosystems. Сборка полученных фрагментов генома будет проведена методом множественного выравнивания на референсной последовательности при помощи алгоритма Clustal W.

Исполнитель:

Студентка направления подготовки «Биология»  
профиль Генетика

 Е.А. Лактионова

Научный руководитель:

ассистент кафедры молекулярной биологии и генетики,  
к.м.н.

 К.В. Жуков

Научный консультант:

научный сотрудник сектора биоинформационного  
анализа ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский  
противочумный институт Роспотребнадзора

 И.М. Шпак

21.10.15