

Система консервации миРНК в слюне

Для разработки индивидуальных рекомендаций по здоровому образу жизни на основании «omics» -данных индивида используются следующие типы данных: генетика, миРНК, метаболом. На текущем этапе проекта мы разработали технологию исследования миРНК в слюне.

Технологический процесс включает следующие этапы (рисунок):

- консервация миРНК в слюне для последующей транспортировки в лабораторию;
- выделение миРНК из слюны с использованием магнитных частиц или колонок;
- создание библиотек кДНК;
- секвенирование;
- биоинформатическая обработка результатов.



Рисунок – Принципиальная схема работы с образцов биоматериала

Стабилизация внеклеточных нуклеиновых кислот – важный этап при работе с биологическими образцами, содержащими нуклеиновые кислоты. Проблемы, связанные с выделением внеклеточных нуклеиновых кислот, включают трудоемкость традиционных протоколов выделения, а также необходимость немедленной обработки образцов биологического материала во избежание лизиса клеток. Для исследования важно отделить внеклеточную фракцию нуклеиновых кислот от клеток, которые имеют тенденцию к разрушению в процессе хранения биологического материала – сохранить клетки неразрушенными в процессе транспортировки в лабораторию. Часто образцы крови обрабатывают непосредственно после забора для удаления всех клеток, а полученную плазму замораживают. Однако этот процесс длительный, а лизис клеток часто начинается до того, как клетки будут удалены. Более того, даже при отделении плазмы непосредственно в месте отбора крови в образце сохраняются остаточные количества клеток.

Для стабилизации клеточных мембран используют формальдегид (снижает лизис клеток, ингибирует нуклеазы), что приводит к увеличению выхода свободноциркулирующих нуклеиновых кислот [1] в плазме крови, обработанной в течение 36 часов после забора [2–4], но не в течение 6 часов [2]. Недостаток способа – индукция образования поперечных связей между нуклеиновыми кислотами и белками, что затрудняет последующее выделение нуклеиновых кислот. Кроме того, формальдегид обладает токсичностью, что затрудняет его использование в качестве консервирующего агента.

В данной работе мы разработали метод консервации мРНК в слюне с использованием рецептуры, включающей: *а)* ингибитор каспаз, *б)* гипертонический агент (для стабилизации клеток), *в)* дополнительные стабилизаторы из ряда аминов, *г)* антикоагулянт, *д)* полимер. Стабилизирующий эффект сравнивали с PAXgene Blood DNA tube (Германия) и Streck Cell-Free DNA BCT (США). Показан улучшенный стабилизирующий эффект по сравнению с указанными прототипами.

В настоящий момент мы осуществляем обеспечение правовой защиты результатов и организацию производства. **Скоро разработка в виде готового продукта будет доступна в продаже.**

1. Dhallan R. et al. Methods to Increase the Percentage of Free Fetal DNA Recovered From the Maternal Circulation // JAMA. 2004. Vol. 291, № 9. P. 1114.
2. Zhang Y. et al. Effect of formaldehyde treatment on the recovery of cell-free fetal DNA from maternal plasma at different processing times // Clin. Chim. Acta. 2008. Vol. 397, № 1–2. P. 60–64.
3. Dhallan R.S. Methods for detection of genetic disorders: pat. US7332277B2 USA. USA, 2003.
4. Dhallan R.S. Methods for detection of genetic disorders: pat. US7442506B2 USA. USA, 2005.