

МАССОВОЕ ПАРАЛЛЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ РНК ПЛАЗМЫ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

**Барякин Д.Н., Семенов Д.В., Бреннер Е.В., Курильщикова А.М., Козлов В.В.¹,
Наров Ю.Э.¹, Васильев Г.В.², Чикова Е.Д., Филиппова Ю.А., Брызгалов Л.А.²,
Кулигина Е.В., Рихтер В.А.**

Учреждение Российской академии наук Институт химической биологии и
фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН,
Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 8

Тел.: (383)-363-51-50; факс: (383)-363-51-53; E-mail: niboch@niboch.nsc.ru

¹ГБУЗ НСО «Новосибирский областной онкологический диспансер»

Россия, 630108, г. Новосибирск, ул. Плахотного, 2

Тел.: (383)-343-39-06; E-mail: onkolog1@mail.ru

²Учреждение Российской академии наук Институт Цитологии и Генетики Сибирского
Отделения РАН,

Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10

Тел.: (383) 363-49-80; факс: (383) 333-12-78; E-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru

Известно, что в плазме крови человека присутствует обширный набор форм малых регуляторных РНК. В данной работе проведен анализ многообразия форм РНК плазмы крови 8-ми здоровых доноров и 4-х пациентов с немелкоклеточным раком легкого методом массового параллельного секвенирования на платформе SOLiD™.

Для получения кДНК-библиотек, кодирующих максимально полный набор форм циркулирующих РНК, короткие ($n > 19$) РНК плазмы крови подвергали дефосфорилированию с последующим 5'-фосфорилированием, лигированию с адаптерами, обратной транскрипции и амплификации. Индивидуальные кДНК-библиотеки секвенировали на платформе SOLiD™ (V.3). Полученные массивы данных, содержащие от 31 до 85 млн. последовательностей на каждую кДНК-библиотеку, анализировали с помощью программного обеспечения ABI BioScore™, и, независимо, программами Bowtie/Cufflinks.

Было обнаружено, что в составе РНК плазмы крови человека присутствуют фрагменты рРНК, тРНК, мРНК, транскриптов митохондрий, зрелые миРНК, мцРНК, мяРНК, а также фрагменты не аннотированных ранее транскриптов.

Детальный анализ массивов последовательностей позволил оценить вклад апоптотических телец, экзосом и микровезикул, свободных рибонуклеопротеидов, а также вклад различных клеток, органов и тканей в формирование набора циркулирующих РНК крови человека. Сравнительный анализ РНК плазмы здоровых доноров и пациентов с немелкоклеточным раком легкого позволил охарактеризовать изменения набора внеклеточных РНК человека при возникновении и развитии злокачественных опухолей.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (гранты № 10-04-01386-а и 10-04-01442-а), грантом Президиума СО РАН № 18 (2009 - 2011 гг.).