



## Нанопоровое секвенирование: теория и практика

А.А. Петров<sup>1</sup>, А.М. Ермаков<sup>2,3✉</sup>, Д.П. Белозеров<sup>1</sup>, М.Ю. Павлюков<sup>1</sup>,  
М.И. Солдатенкова<sup>1</sup>, Д.А. Кутаев<sup>1</sup>, С.В. Борисевич<sup>1✉</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«48 Центральный научно-исследовательский институт  
Министерства обороны Российской Федерации  
141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11  
✉ e-mail: 48cpii@mil.ru

<sup>2</sup>ООО «Нанопорус»  
142201, Российской Федерации, Московская обл., г. Серпухов, ул. Сиреневая, д. 8

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
«Институт теоретической и экспериментальной биофизики» Российской академии наук  
142290, Российской Федерации, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, д. 3  
✉ e-mail: beoluchi@yandex.ru

### Основные моменты

- проведено сравнительное исследование пригодности отечественной платформы «Нанопорус» и зарубежного аналога MinION для решения задач войск РХБ защиты;
- доказана сопоставимая эффективность платформы «Нанопорус» после применения алгоритмов постобработки;
- ключевые преимущества платформы «Нанопорус»: экономическая эффективность и возможность автономной работы.

**Актуальность.** Обусловлена необходимостью развития отечественных технологий для оперативной идентификации патогенных биологических агентов (ПБА) в полевых условиях войсками РХБ защиты ВС РФ.

**Цель исследования** – комплексный обзор теоретических основ и практического использования технологии нанопорового секвенирования, а также перспектив ее внедрения в войсках РХБ защиты ВС РФ.

**Материалы и методы.** Сравнивали качество сборки геномов систем секвенирования «Нанопорус» (Нанопорус, Россия) и MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). В качестве биологической модели использовали референсный штамм *E. coli* XL1-Blue (Евроген, Россия). Проведено экспериментальное нанопоровое секвенирование с выделением ДНК, подготовкой библиотек и последующей биоинформационической обработкой данных с использованием инструментов Flye и Medaka. Анализ полноты и точности сборки генома – по показателям N50 и Q-score.

**Результаты.** Показано, что отечественная платформа «Нанопорус» обеспечивает высокое качество сборки геномов, сопоставимое с результатами, полученными на системе MinION, но при значительно меньших эксплуатационных затратах. Платформа компактна и пригодна для автономной работы в полевых условиях.

**Заключение.** Платформа «Нанопорус» перспективна для интеграции в состав мобильных лабораторий войск РХБ защиты ВС РФ и может быть использована для решения задач идентификации ПБА.

**Ключевые слова:** MinION; Oxford Nanopore Technologies; биоинформатика; геномные исследования; диагностика; молекулярная биология; нанопоровое секвенирование; подготовка образцов; программное обеспечение; система секвенирования «Нанопорус»

**Для цитирования:** Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В. Нанопоровое секвенирование: теория и практика. Вестник войск РХБ защиты. 2025;9(4):383–398. EDN:qbatqs.

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-383-398>

**Прозрачность финансовой деятельности:** авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

© А.А. Петров, А.М. Ермаков, Д.П. Белозеров, М.Ю. Павлюков, М.И. Солдатенкова, Д.А. Кутаев, С.В. Борисевич, 2025

Вестник войск РХБ защиты. 2025. Том 9. № 4

Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.  
Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozerov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.

**Конфликт интересов:** А.М. Ермаков является сотрудником ООО «Нанопорус». Это не повлияло на процесс рецензирования и окончательное решение.

**Использование искусственного интеллекта:** при подготовке рукописи не применялись методы искусственного интеллекта.

**Финансирование:** федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации.

Поступила 11.06.2025 г. После доработки 16.08.2025 г. Принята к публикации 27.12.2025 г.

## Nanopore sequencing: theory and practice

Aleksandr A. Petrov<sup>1</sup>, Artem M. Ermakov<sup>2,3✉</sup>, Denis P. Belozerov<sup>1</sup>,  
Mikhail Yu. Pavlyukov<sup>1</sup>, Maria I. Soldatenkova<sup>1</sup>, Dmitriy A. Kutaev<sup>1</sup>,  
Sergey V. Borisevich<sup>1✉</sup>

<sup>1</sup>48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation  
Oktyabrskaya Street, 11, Sergiev Posad-6 141306, Russian Federation  
✉ e-mail: 48cnii@mil.ru

<sup>2</sup>Nanoporus LLC  
Sirenevaya Street, 8, Serpukhov 142201, Moscow region, Russian Federation

<sup>3</sup>Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences  
Institutskaya Street, 3, Pushchino 142290, Moscow Region, Russian Federation  
✉ e-mail: beoluchi@yandex.ru

### Highlights

A comparative study was conducted on the suitability of the domestic "Nanoporus" platform and its foreign counterpart, MinION, for solving the tasks of the NBC Protection Corps.

The comparable effectiveness of the "Nanoporus" platform was demonstrated after applying post-processing algorithms. Key advantages of the "Nanoporus" platform are its cost-effectiveness and capability for autonomous operation.

**Relevance.** The study is determined by the need to develop domestic technologies for the rapid identification of pathogenic biological agents (PBA) in field conditions by the NBC Protection Corps.

**Purpose of the study** is a comprehensive review of the theoretical foundations and practical applications of nanopore sequencing technology, as well as the prospects for its implementation in the NBC Protection Corps of the Russian Armed Forces.

**Materials and Methods.** The quality of genome assemblies from the "Nanoporus" (Nanoporus, Russia) and MinION (Oxford Nanopore Technologies, UK) sequencing systems was compared. The reference strain *E. coli* XL1-Blue (Evrogen, Russia) was used as the biological model. Experimental nanopore sequencing was performed, including DNA extraction, library preparation, and subsequent bioinformatic data processing using the Flye and Medaka tools. Genome assembly completeness and accuracy were analyzed based on N50 and Q-score metrics.

**Results.** It was shown that the domestic "Nanoporus" platform provides high genome assembly quality, comparable to the results obtained with the MinION system, but at significantly lower operational costs. The platform is compact and suitable for autonomous operation in field conditions.

**Conclusion.** The "Nanoporus" platform is promising for integration into the mobile laboratories of the NBC Protection Corps of the Russian Armed Forces and can be used for solving PBA identification tasks.

**Keywords:** bioinformatics; diagnostics; genomic research; molecular biology; nanopore sequencing; Nanoporus sequencing system; sample preparation; software; MinION; Oxford Nanopore Technologies

**For citation:** Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozerov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisovich S.V. Nanopore sequencing: theory and practice. Journal of NBC Protection Corps. 2025;9(4):383–398. EDN:qbatqs.  
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2025-9-4-383-398>

**Financial disclosure:** The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

**Conflict of interest statement:** A.M. Ermakov is an employee of Nanoporus LLC. These facts have not affected review process and final decision.

**AI use:** No artificial intelligence methods were used in the preparation of the manuscript.

**Funding:** 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation.

Received: June 11, 2025. Revised August 16, 2025. Accepted: December 27, 2025.

В настоящее время нанопоровое секвенирование рассматривается как одна из наиболее перспективных технологий геномного анализа. Его ключевым преимуществом является возможность получения длинных чтений, что позволяет корректно реконструировать сложные геномы и выявлять структурные вариации, критически значимые при исследовании различных заболеваний [1].

Технология обеспечивает анализ в реальном времени, что особенно важно при идентификации ПБА. В условиях пандемии COVID-19 нанопоровое секвенирование продемонстрировало высокую эффективность в отслеживании мутаций вируса и оценке их эпидемиологического значения [2]. Дополнительным преимуществом является низкая стоимость, делающая метод доступным даже в лабораториях с ограниченными ресурсами, включая развивающиеся страны [3]. В отличие от традиционных технологий секвенирования, нанопоровое секвенирование может выполняться в полевых условиях, что существенно расширяет его применение в микробиологии и экологии [4]. Развитие алгоритмов обработки данных повышает точность и воспроизводимость метода [5].

Актуальность исследования обусловлена необходимостью развития отечественных технологий для оперативной идентификации ПБА в полевых условиях войсками РХБ защиты ВС РФ.

Цель исследования – комплексный обзор теоретических основ и практического использования технологии нанопорового секвенирования, а также перспектив ее внедрения в войсках РХБ защиты ВС РФ.

Задачами данного исследования являлось:

- проведение сравнительного анализа параметров качества нанопорового секвенирования, включая длину ридов<sup>1</sup>, показателя качества Q и точность сборки генома;
- оценка возможностей отечественного секвенатора «Нанопорус» для бейзклинга<sup>2</sup> и первичной обработки данных в сравнении с зарубежной системой MinION;
- определение практической применимости системы «Нанопорус» для идентификации ПБА и перспектив ее внедрения в войсках РХБ защиты ВС РФ.

#### Теоретические основы нанопорового секвенирования

Данная технология представляет собой инновационный метод, обеспечивающий прямое определение последовательностей длинных фрагментов ДНК и РНК в режиме реального времени. В основе технологии лежит регистрация изменений электрического тока, возникающих при прохождении нуклеиновых кислот через белковые нанопоры. В последние годы усовершенствование данной методики привело к значительному улучшению ключевых параметров, включая точность, длину считываемых фрагментов и производительность системы.

Нанопоровое секвенирование активно применяется в геномной сборке, анализе полных транскриптов и выявлении эпигенетических модификаций. Кроме того, метод находит применение в клинической диагностике и эпидемиологическом мониторинге благодаря высокой скорости и мобильности.

Принцип работы технологии основан на использовании белковых нанопор, инте-

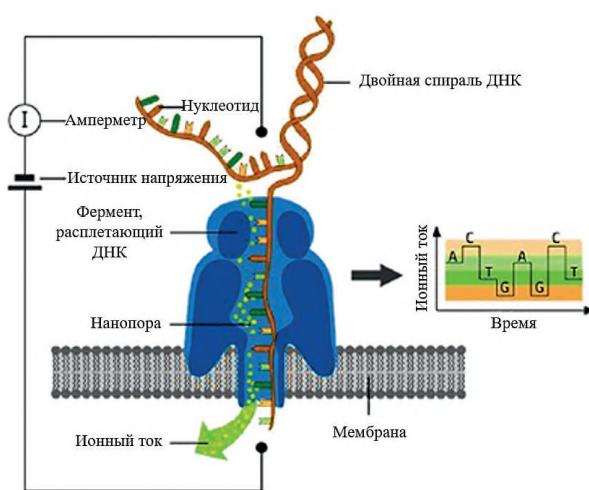
<sup>1</sup> Рид – это фрагмент нуклеотидной последовательности, полученный в результате секвенирования.

<sup>2</sup> Бейзклинг – это преобразование сигналов секвенатора в нуклеотидную последовательность ДНК или РНК.

Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.  
 Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozerov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.

грированных в искусственную полимерную мембрану (рисунок 1). В условиях электролитического буфера приложение постоянного напряжения создает ионный ток через пору. Отрицательно заряженные молекулы ДНК или РНК перемещаются от цис-стороны (отрицательный электрод) к транс-стороне (положительный электрод). Скорость их прохождения регулируется моторным белком, обеспечивающим контролируемую транслокацию.

Изменения силы тока во время прохождения нуклеиновой кислоты через пору отражают ее нуклеотидную последовательность, которая расшифровывается с помощью специальных алгоритмов. Важной особенностью моторного белка является его хеликазная активность, позволяющая разделять двухцепочечные молекулы на отдельные цепи перед их анализом. Дополнительные сведения о методе представлены на официальном сайте разработчика<sup>3</sup>.



**Рисунок 1 – Схематическое изображение принципа технологии нанопорового секвенирования. Белковая нанопора, закрепленная в бислойной мембране, позволяет считывать десятки тысяч нуклеотидов за один запуск секвенатора (рисунок адаптирован авторами из URL: <https://biomolecula.ru/articles/nanoporovo sekvenirovanie-na-poroze-tretei-genomnoi-revolutsii;> дата обращения: 25.06.2025)**

**Figure 1: Schematic representation of the principle of nanopore sequencing technology. A protein nanopore anchored in a bilayer membrane allows for the reading of tens of thousands of nucleotides in a single run of the sequencer (figure adapted by the authors from URL: <https://biomolecula.ru/articles/nanoporovo sekvenirovanie-na-poroze-tretei-genomnoi-revolutsii;> date of reference: 25.06.2025)**

<sup>3</sup> Oxford Nanopore Technologies. URL: <https://nanoporetech.com/> (дата обращения: 25.06.2025).

Принято считать, что точность нанопорового секвенирования уступает альтернативным методам, в частности технологии синтеза (Illumina). Однако ключевое преимущество нанопорового подхода заключается в способности получать значительно более длинные последовательности. Если для платформы Illumina максимальная длина ридов ограничена 300 парами нуклеотидов, то нанопоровая технология, основанная на физическом принципе транслокации нуклеиновых кислот, позволяет достигать прочтений длиной в десятки тысяч нуклеотидов.

Важным достоинством метода является компактность оборудования, обеспечивающая высокую мобильность и возможность проведения исследований вне стационарных лабораторных условий. Однако для реализации потенциала технологии в части получения протяженных последовательностей критическое значение имеет качество исходного материала. Эффективное секвенирование длинных фрагментов возможно только при использовании высокомолекулярной ДНК, так как деградированные или сильно фрагментированные образцы не позволяют получить значимые по длине риды.

### Выбор прибора для нанопорового секвенирования

Ключевым параметром при выборе системы для нанопорового секвенирования служит пропускная способность ячейки, определяющая масштабы возможных исследований. Компания Oxford Nanopore Technologies предлагает ряд специализированных платформ (рисунок 2), каждая из

Наименование проточной ячейки	Flongle	MinION Flow Cell	PromethION Flow Cell
Количество каналов	126	512	2675
Теоретический выход данных, Гб	2,8	50	290

Наименование прибора	MinION	MinION MiC IC	GridION	PromethION 2 Solo	PromethION 24	PromethION 48
Совместимость с проточными ячейками	Flongle, MinION					
Количество проточных ячеек, доступных для запуска	1	1	5	2	2	24
	PromethION					

**Рисунок 2 – Линейка приборов Oxford Nanopore Technologies для нанопорового секвенирования в сравнении (рисунок адаптирован авторами из [6])**

**Figure 2: Oxford Nanopore Technologies' line of nanopore sequencing instruments in comparison (figure adapted by the authors from [6])**

которых предназначена для решения конкретных исследовательских задач.

MinION – наиболее компактная и популярная модель, представленная в двух вариантах: стандартный MinION, требующий подключения к компьютеру, но отличающийся исключительной портативностью (размещается на ладони), и автономная версия MinION Mk1C со встроенным модулем обработки данных.

Для средних по объему исследований разработана система GridION, позволяющая параллельно запускать до пяти ячеек, что существенно повышает производительность. Обе платформы (MinION и GridION) совместимы со специальным адаптером<sup>4</sup> Flonge.

Наиболее мощными решениями линейки являются системы серии PromethION: PromethION2 Solo (требует подключения к компьютеру или GridION), PromethION2 (оснащен автономным управляющим модулем и процессором) – обе модели поддерживают одновременную работу двух высокопроизводительных ячеек, PromethION24 и PromethION48 – промышленные решения, позволяющие независимо контролировать 24 и 48 ячеек соответственно.

QNome-3841 от Qitan Tech (КНР) – это коммерческий нанопоровый секвенатор, ориентированный на высокоточное и доступное секвенирование. Его пропускная способность составляет около 10–20 тысяч пар оснований, т.е. гигабаз (Гб) за 24 часа, а длина считывания достигает 1–2 миллион пар оснований, т.е. мегабаз (Мб). Qitan II акцентирует внимание на соотношении цена/качество и совместимости с различными биологическими образцами, что делает его подходящим для клинических лабораторий и исследовательских центров.

Секвенатор QNome-3841 hex – модернизированная версия QNome-3841 с шестиканальной системой детекции, обеспечивающей повышенную производительность при компактных размерах. Усовершенствования включают оптимизированную систему подачи образцов, улучшенную электронику обработки сигналов и обновленное программное обеспечение (ПО) для многоканального анализа данных. Сохраняя пре-

имущества базовой модели, hex-версия предлагає большую пропускную способность за счет параллельного анализа<sup>5</sup>.

PolyseqOne – портативная система нанопорового секвенирования средней производительности с анализом в реальном времени, разработанная компанией Polyseq Biotechnology (КНР), которая создала собственные нанопоровые белки, наборы для подготовки библиотек, конструкцию чипа, программное обеспечение и алгоритмы глубокого обучения. Ключевые характеристики устройства: точность одного прочтения 97 %, длина прочтений от 300 тысяч пар оснований и более, консенсусная точность при 50-кратном покрытии 99,99 %, 2560 пор на чипе с возможностью повторного использования до 5 раз, скорость чтения 400 нуклеотидов в секунду, а также поддержка адаптивного секвенирования и наличие наборов для подготовки библиотек и баркодирования<sup>6</sup>.

Секвенатор PolyseqHive представляет собой эволюционное развитие модели PolyseqOne, отличаясь прежде всего многопоточной архитектурой – вместо одноканальной системы в PolyseqOne здесь реализовано 8 независимых каналов секвенирования, что существенно повышает производительность при сохранении компактных габаритов устройства. Технологические усовершенствования включают параллельную обработку образцов с индивидуальным контролем параметров для каждого канала, усовершенствованный алгоритм первичного анализа данных с сокращенным временем обработки, а также расширенную совместимость с различными типами нанопоровых мембран.

Секвенаторы CycloneSEQ-WT02 и CycloneSEQ-WY01 от китайской компании MGI Tech Co., Ltd. (входящей в состав BGI Group) представляют собой современные платформы для высокопроизводительного секвенирования, основанные на запатентованной технологии DNBSEQ (DNA Nanoball Sequencing – технология секвенирования от MGI Tech, основанная на использованииnanoшариков ДНК). CycloneSEQ-WT02 ориентирован на масштабные геномные исследования, предлагая пропускную способность до 1.5 Тб за запуск и поддержку чтений длиной

<sup>4</sup> Последовательность адаптера; адаптер (adapter sequence, adapter): синтетический олигонуклеотид известной последовательности, который может быть добавлен к 3' или 5' концам фрагмента нуклеиновой кислоты. (ГОСТ Р ИСО 20397-2-2023. Биотехнология. Массовое параллельное секвенирование. Часть 2. Оценка качества данных секвенирования. М.: Стандартинформ; 2023. 24 с.).

<sup>5</sup> Секвенаторы Qitan Tech. URL: <https://albiogen.ru/qitan/> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>6</sup> Секвенатор нанопоровый Polyseq One. URL: <https://www.dia-m.ru/catalog/lab/sekvenatory-belkov-dnk/sekvenatory-dnk-3-go-pokoleniya-nanoporovyye/sekvenator-nanoporovyy-polyseq-one/> (дата обращения: 02.06.2025).

Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.  
 Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozerov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.

до 400 п.н., что делает его идеальным для полногеномного секвенирования сложных организмов. Модель интегрирована с системой автоматической подготовки библиотек MGISP-960, значительно ускоряющей процесс обработки образцов.

В отличие от него, CycloneSEQ-WY01 представляет собой более компактное решение с пропускной способностью до 500 Гб, оптимизированное для клинической диагностики и полевых исследований. Его ключевые преимущества – высокая скорость анализа и возможность работы с малыми количествами ДНК. Обе системы демонстрируют высокую точность (ошибка менее 0,1 %), превосходя по этому показателю технологию Oxford Nanopore Technologies, но требуют этапа ПЦР-амплификации. По сравнению с платформами Illumina, китайские секвенаторы предлагают более экономичную эксплуатацию, хотя и уступают в максимальной производительности<sup>7</sup>.

Российский секвенатор «Нанопорус», разработанный ООО «Нанопорус» совместно с Институтом инженерной физики и Институтом теоретической и экспериментальной биофизики РАН, представляет собой платформу для одномолекулярного нанопорового секвенирования в реальном времени, основанную на регистрации изменений ионного тока при прохождении молекулы ДНК или РНК через белковую нанопору. В отличие от традиционных методов, таких как секвенирование по Сэнгеру или технологии Illumina, «Нанопорус» обеспечивает сверхдлинные чтения, что позволяет эффективно анализировать сложные геномные регионы, включая повторы и структурные вариации, а также де-



**Рисунок 3 – Перспективные мобильные нанопоровые секвенаторы (рисунок составлен авторами)**

**Figure 3: Promising mobile nanopore sequencers (figure compiled by the authors)**

тектировать эпигенетические модификации без предварительной амплификации [7, 8]. Основными преимуществами технологии являются портативность, низкая стоимость подготовки образцов и возможность работы с нативными молекулами ДНК/РНК.

Перспективные мобильные нанопоровые секвенаторы представлены на рисунке 3.

Сравнительная характеристика нанопоровых секвенаторов представлена в таблице 1.

После выбора подходящей платформы для нанопорового секвенирования ключевым этапом становится подготовка образцов, поскольку качество и чистота исходного материала напрямую влияют на эффективность секвенирования и достоверность получаемых данных. В зависимости от типа

**Таблица 1 – Сравнительная характеристика нанопоровых секвенаторов**  
**Table 1. Comparative characteristics of nanopore sequencers**

Компания / Company	Модель / Model	Показатель качества / Q score	Максимальная длина чтения, тысяча пар нуклеотидов / Maximum reading length, thousand base pairs	Скорость секвенирования, нуклеотидов/с / Sequencing speed, nucleotides/s	Максимальный выход данных в сутки, гигабаз (Гб) / Maximum data output per day, gigabases (Gb)
Oxford Nanopore	MinION Mk1C	Q15-Q30	4000	400-700	30
	GridION				150
	PromethION 24/48				300
Qitan Tech	QNome-3841	Q15-Q20	100	200-400	20
	QNome-3841 hex	Q18-Q22	100	300-500	40
Polyseq Biotechnology	PolyseqOne	Q10-Q15	50	100-400	5
	PolyseqHive	Q12-Q18	50	200-400	20

<sup>7</sup> Секвенаторы MGI. URL: <https://en.mgi-tech.com/products/> (дата обращения: 25.06.2025).

*Продолжение таблицы 1*

<b>Компания / Company</b>	<b>Модель / Model</b>	<b>Показатель качества / Q score</b>	<b>Максимальная длина чтения, тысяч пар нуклеотидов / Maximum reading length, thousand base pairs</b>	<b>Скорость секвенирования, нуклеотидов/с / Sequencing speed, nucleotides/s</b>	<b>Максимальный выход данных в сутки, гигабаз (Гб) / Maximum data output per day, gigabases (Gb)</b>
BGI Group	CycloneSEQ-WT02	Q30–Q40	100	350–420	1500
	CycloneSEQ-WY01	Q30–Q38	100	350–420	500
Нанопорус / Nanoporus	Нанопорус / Nanoporus	Q10–Q30	200	150–435	10

**Примечание.**  
 Таблица составлена авторами на основе официальных данных:  
 Oxford Nanopore Technologies. MinION Mk1C sequencing device.  
 URL: <https://nanoporetech.com/products/sequence/minion> (дата обращения: 25.06.2025);  
 Oxford Nanopore Technologies. GridION X5 / GridION sequencing device.  
 URL: <https://nanoporetech.com/products/sequence/gridion> (дата обращения: 25.06.2025);  
 Oxford Nanopore Technologies. PromethION (PromethION 24 / PromethION 48).  
 URL: <https://nanoporetech.com/products/sequence/promethion> (дата обращения: 25.06.2025);  
 Qitan Tech. QNome-3841 / QNome-3841 hex - product pages / distributor info.  
 URL: <https://albiogen.ru/qitan/> (дата обращения: 25.06.2025);  
 PolyseqHive - product page. URL: <https://www.polyseq.com/newsinfo/8470438.html> (дата обращения: 25.06.2025);  
 MGI (BGI Group). CycloneSEQ-WT02 / CycloneSEQ-WY01 - product pages / datasheets.  
 URL: <https://en.mgi-tech.com/products/> (дата обращения: 25.06.2025);  
 Первый отечественный нанопоровый секвенатор «Нанопорус»; 2025. URL: <https://nanoporus.ru/> (дата обращения: 25.06.2025).

*Note.*  
*The table was compiled by the authors based on official data.*

изучаемого биоматериала и целей исследования применяются различные протоколы выделения и обработки нуклеиновых кислот. Далее рассмотрим основные подходы к подготовке образцов для нанопорового секвенирования.

#### **Подготовка образцов**

Подготовка образцов является критически важным этапом, который включает несколько ключевых процессов.

1. Лигирование: на этом этапе используются специфические адаптеры для подготовки ДНК к секвенированию. Адаптеры необходимы для связывания с нанопорами и обеспечивают возможность считывания последовательностей. Лигирование позволяет создать библиотеки, которые могут быть эффективно секвенированы [9].

2. ПЦР: используется для амплификации целевых регионов генома, что позволяет получить достаточное количество материала для анализа. Этот метод позволяет увеличить количество копий специфических фрагментов ДНК, что критично для последующего секвенирования [10].

3. Создание библиотек: формирование библиотек ДНК включает очистку и нормализацию фрагментов для достижения оптимальной концентрации. Это позволяет гарантировать, что все образцы будут представлены в достаточном количестве для секвенирования [11].

После корректной подготовки образцов следующим критически важным этапом становится обработка и анализ получаемых данных. Современные алгоритмы биоинформационной обработки сигналов нанопорового секвенирования позволяют минимизировать ошибки чтения, улучшить точность определения нуклеотидной последовательности и обеспечить комплексную интерпретацию результатов. Рассмотрим ключевые программные решения и методы анализа данных, применяемые на различных этапах обработки информации.

#### **Использование ПО**

**Первичная обработка «сырых» данных (бейзклинг).** Процесс преобразования электрических сигналов в нуклеотидные последовательности является критически

Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.  
Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozerov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.

важным первым этапом анализа данных нанопорового секвенирования. Основным программным обеспечением для этого служит MinKNOW<sup>8</sup> – управляющее ПО от Oxford Nanopore Technologies, которое не только контролирует процесс секвенирования в реальном времени, но и осуществляет мониторинг качества потока ионного тока. MinKNOW интегрирован с алгоритмами бейзклинга и поддерживает GPU-ускорение<sup>9</sup>, что позволяет обрабатывать данные непосредственно во время эксперимента. Для непосредственного преобразования сигналов в последовательности чаще всего используется Guppy<sup>10</sup> – это программа для расшифровки сигналов секвенатора в нуклеотидные последовательности, обеспечивающая точность около 95–97 % в зависимости от выбранного режима работы. Guppy предлагает три основных режима: Fast (быстрый, но менее точный), High-accuracy (оптимальный баланс скорости и точности) и Super-accuracy (максимальная точность ценой скорости обработки). Более современной альтернативой является Bonito<sup>11</sup>, использующий трансформерные модели нейронных сетей и достигающий точности до 99 % для некоторых типов образцов. Для исследователей, предлагающих открытые решения, существует DeepNano-blitz<sup>12</sup>, основанный на рекуррентных нейронных сетях, хотя его

точность несколько уступает коммерческим аналогам [7].

**Контроль качества и предобработка данных.** После получения первичных последовательностей крайне важным этапом становится контроль качества и предварительная обработка данных. NanoPlot<sup>13</sup> предоставляет комплексные средства визуализации ключевых показателей качества, включая распределение длины ридов, показатели качества и другие параметры. Для очистки данных от адаптерных последовательностей используется Porechop<sup>14</sup>, который эффективно идентифицирует и удаляет лигированные адаптеры. Filtlong<sup>15</sup> и NanoFilt<sup>16</sup> предлагают функционал для фильтрации ридов по различным критериям: качеству, длине и другим параметрам. NanoFilt особенно полезен для комплексной обработки данных, включая обрезание низкокачественных концов и фильтрацию по заданным пороговым значениям [12, 13].

**Выравнивание и сборка последовательностей.** Для анализа референсного генома наиболее популярным инструментом является Minimap2<sup>17</sup> – высокоскоростная программа для выравнивания последовательностей, специально оптимизированная для работы с длинными ридами. GraphMap<sup>18</sup> предлагает более точное выравнивание с возможностью коррекции ошибок, характерных для нанопорового секвенирования. В случаях

<sup>8</sup> Oxford Nanopore Technologies. MinKNOW – device control and data acquisition software. URL: <https://nanoporetech.com/document/experiment-companion-minknow> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>9</sup> GPU-ускорение – это использование графического процессора для быстрой обработки данных. В MinKNOW оно позволяет выполнять бейзклинг в реальном времени прямо во время секвенирования.

<sup>10</sup> Guppy - Guppy – basecalling software for nanopore sequencing. URL: <https://nanoporetech.com/software/other/guppy> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>11</sup> Oxford Nanopore Technologies. Bonito – neural network-based basecaller using transformer models. URL: <https://github.com/nanoporetech/bonito> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>12</sup> DeepNano-blitz – open-source basecaller based on recurrent neural networks. URL: <https://github.com/fmfn-compbio/deepnano-blitz> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>13</sup> Oxford Nanopore Technologies. NanoPlot – plotting tool for long-read sequencing data and alignments. URL: <https://github.com/wdecoster/NanoPlot> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>14</sup> Oxford Nanopore Technologies. Porechop – adapter trimmer for Nanopore reads. URL: <https://github.com/rrwick/Porechop> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>15</sup> Filtlong – инструмент фильтрации длинных чтений по качеству и длине. URL: <https://github.com/rrwick/Filtlong> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>16</sup> NanoFilt – утилита для фильтрации и обрезки длинных чтений секвенирования. URL: <https://github.com/wdecoster/nanofilt> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>17</sup> Oxford Nanopore Technologies / Heng Li et al. Minimap2 – fast and versatile sequence alignment program. URL: <https://github.com/lh3/minimap2> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>18</sup> GraphMap – sensitive and accurate mapper for long, error-prone reads. URL: <https://github.com/isovic/graphmap> (дата обращения: 25.06.2025).

*de novo* сборки исследователи часто обращаются к специализированным ассемблерам<sup>19</sup>: Canu<sup>20</sup>, демонстрирующему отличные результаты с длинными ридами, Flye, или Shasta<sup>21</sup> – высокоскоростному ассемблеру, оптимизированному именно для данных ONT. Wtdbg2<sup>22</sup> представляет собой еще один мощный инструмент для сборки с коррекцией ошибок, особенно эффективный при работе с большими геномами [12, 14, 15].

**Анализ генетических вариантов и аннотация.** Для выявления и характеристики генетических вариантов применяется несколько специализированных инструментов. Medaka от ONT предоставляет инструменты для коррекции ошибок и анализа полиморфизмов<sup>23</sup>. Sniffles<sup>24</sup> специализируется на детекции структурных вариантов [16], тогда как NanoVar<sup>25</sup> разработан для анализа вариаций числа копий (CNV – Copy Number Variation) [17]. PEPPER-DeepVariant<sup>26</sup> показывает отличные результаты в выявлении одноклеточных полиморфизмов и инделов [18].

**Специализированные анализаторы.** В области эпигенетических исследований Nanopolish<sup>27</sup> и DeepSignal<sup>28</sup> позволяют детектировать различные модификации ДНК, включая метилирование. Для транскриптомных исследований FLAIR<sup>29</sup> и StringTie2<sup>30</sup> предлагают мощные инструменты для анализа изоформ РНК и реконструкции транскриптомов. В метагеномических исследованиях незаменимыми оказываются Kraken2<sup>31</sup> и Centrifuge<sup>32</sup>, обеспечивающие быструю таксономическую классификацию и анализ микроорганизмов [19, 20].

**Визуализация результатов.** Для визуального анализа результатов секвенирования широко используется Integrative Genomics Viewer (IGV)<sup>33</sup>, позволяющий просматривать выравнивания относительно референсного генома. Bandage<sup>34</sup> предоставляет удобные инструменты для анализа и визуализации графов сборки, а Poxomix<sup>35</sup> предлагает комплексные решения для визуализации контроля качества [21–23].

<sup>19</sup> Ассемблер – это программный инструмент, предназначенный для сборки (реконструкции) геномной последовательности из множества коротких или длинных фрагментов ДНК (ридов), полученных в результате секвенирования.

<sup>20</sup> Canu – a single-molecule sequence assembler for high-noise long reads. URL: <https://github.com/marbl/canu> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>21</sup> Shasta – de novo assembler for long Oxford Nanopore reads. URL: <https://github.com/paoloshasta/shasta> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>22</sup> Wtdbg2 – de novo assembler for long noisy reads. URL: <https://github.com/ruanjue/wtdbg2> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>23</sup> Oxford Nanopore Technologies. Medaka: sequence correction provided by ONT. URL: <https://github.com/nanoporetech/medaka> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>24</sup> Sniffles – structural variant caller for long-read sequencing data. URL: <https://github.com/fritzsedlazeck/Sniffles> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>25</sup> NanoVar – Structural variant caller using low-depth long-read sequencing. URL: <https://github.com/benoukraflab/NanoVar> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>26</sup> PEPPER-Margin-DeepVariant - haplotype-aware variant calling pipeline for long reads (ONT / PacBio). URL: <https://github.com/kishwarshafin/pepper> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>27</sup> Nanopolish – tool for signal-level analysis and polishing of nanopore sequencing data. URL: <https://github.com/jts/nanopolish> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>28</sup> DeepSignal – tool for detecting DNA methylation from nanopore reads. URL: <https://github.com/bioinformaticsCSU/deepsignal> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>29</sup> FLAIR – Full-Length Alternative Isoform analysis of RNA. URL: <https://github.com/BrooksLabUCSC/flair> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>30</sup> StringTie2 – transcript assembly and quantification tool for RNA-Seq. URL: <https://github.com/skovaka/stringtie2> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>31</sup> Kraken2 – taxonomic sequence classification tool. URL: <https://github.com/DerrickWood/kraken2> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>32</sup> Centrifuge – metagenomic sequence classification tool. URL: <https://github.com/DaehwanKimLab/centrifuge> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>33</sup> Integrative Genomics Viewer (IGV) – это интерактивная программа для визуализации геномных данных, разработанная в Broad Institute.

<sup>34</sup> Bandage – a bioinformatics application for navigating de novo assembly graphs easily. URL: <https://github.com/rrwick/Bandage> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>35</sup> Poxomix – bioinformatics tools tailored for nanopore sequencing. URL: <https://nanoporetech.github.io/poxomix/> (дата обращения: 25.06.2025).

Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.  
 Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozerov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.

Большинство перечисленных инструментов доступны через менеджер пакетов Bioconda<sup>36</sup> или в виде преднастроенных сборок, что значительно упрощает их развертывание и использование. Современные автоматизированные пайплайны<sup>37</sup>, такие как EPI2ME<sup>38</sup> от Oxford Nanopore Technologies, позволяют интегрировать все этапы анализа – от первичной обработки «сырых» данных до финальной интерпретации результатов, значительно ускоряя и упрощая процесс анализа данных нанопорового секвенирования.

Для проведения сравнительного анализа параметров качества нанопорового секвенирования систем «Нанопорус» и MinION в качестве матрицы использовали геном ДНК *E. coli*.

#### **Проведение нанопорового секвенирования генома ДНК *E. coli* на отечественном секвенаторе «Нанопорус» и платформе MinION**

**Выделение ДНК из *E. coli*.** В исследовании использовали штамм *E. coli* XL1-Blue (Евроген, Россия). ДНК из клеток *E. coli* выделяли с помощью набора D-cells (Биолабмикс, Россия) согласно прилагаемому протоколу. ДНК элиюировали в 60 мкл буфера для элюции. Концентрацию полученной ДНК измеряли на приборе Qubit 4 (Thermo FS, США) с помощью набора для измерения концентрации ДНК HS (Нанопорус, Россия), которая составляла 110 нг/мкл.

**Приготовление библиотеки ДНК и проведение секвенирования.** На приготовление библиотеки использовали 1,5 мкг выделенной ДНК. Библиотеку для секвенирования готовили с помощью набора Ligation Sequencing Kit (SQK-LSK114, Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) согласно прилагаемым протоколам. Для этого 50 мкл 1,5 мкг ДНК смешивали с 7 мкг Ultra II End-prep reaction buffer и 3 мкг Ultra II End-prep enzyme mix (NEBNext Ultra II End Repair/dA-Tailing Module, NEB, Великобритания). Реакцию проводили в режиме 20 °C – 5 мин и 65 °C – 5 мин в амплификаторе C1000 (BioRad, США) и после производили очистку реакционной смеси магнитными частицами AMPure XP (Синтол, Россия) (объем частиц – 60 мкл). Затем библиотеку элюировали в 31 мкл воды (μQ) при 37 °C в течение 10 мин. В полученном

образце библиотеки измеряли концентрацию ДНК на приборе Qubit 4 (Thermo FS, США) с помощью набора для измерения концентрации ДНК HS (Нанопорус, Россия).

Далее смешивали 30 мкл подготовленной ДНК после первого этапа, лигирующий буфер (Ligation Buffer, LNB) (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) – 12,5 мкл, T4-лигазы высокой активности (2000 ед/мкл) (Сибэнзим, Россия) – 5 мкл и Adapter Mix (LA) (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) – 2,5 мкл. Реакцию лигирования адаптеров проводили при комнатной температуре в течение 10 мин. Реакционную смесь очищали магнитными частицами SynMag (Синтол, Россия). Для этого смешивали 50 мкл реакционной смеси с 20 мкл частиц, перемешивали пипетированием и оставляли 10 мин на ротаторе. Далее частицы осаждали на магнитном штативе, убирали супернатант и 2 раза промывали SFB буфером (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) по 125 мкл, ресуспендируя каждый раз частицы. Далее библиотеку элюировали в 13 мкл EB буфера (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) при 37 °C в течение 10 мин. В полученном образце библиотеки измеряли концентрацию ДНК на приборе Qubit 4 (Thermo FS, США) с помощью набора для измерения концентрации ДНК HS (Нанопорус, Россия).

Далее осуществляли подготовку проточной ячейки FLO-MIN114 (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) для секвенирования согласно прилагаемым протоколам. Для этого предварительно производили смешивание 975 мкл буфера FCF (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) с 25 мкл раствора FCT (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Полученным раствором (800 мкл) заполняли проточную ячейку и инкубировали 5 мин при комнатной температуре. Далее производили подготовку библиотеки, для этого смешивали 37,5 мкл буфера SB (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания), 25,5 мкл буфера LIB (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) и 12 мкл библиотеки с предыдущего этапа пробоподготовки. После ячейку дополнительно заполняли еще 200 мкл буферной смеси FCF и производили загрузку библиотеки.

<sup>36</sup> Bioconda – a channel for distributing bioinformatics software via the Conda package manager. URL: <https://bioconda.github.io/> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>37</sup> Пайлайн – это автоматизированная последовательность вычислительных шагов, используемая для обработки и анализа данных в стандартизированном порядке.

<sup>38</sup> EPI2ME – data analysis platform and workflow engine for nanopore sequencing. URL: <https://nanoporetech.com/products/analyse/epi2me> (дата обращения: 25.06.2025).

Для секвенирования использовали нанопоровый секвенатор «Нанопорус» под управлением модифицированного программного обеспечения «Нанопорус». Ячейку с загруженным образцом библиотеки ДНК помещали в секвенатор и запускали процесс. Также параллельно ту же библиотека секвенировали с использованием прибора MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) под управлением ПО «Нанопорус» и аналогичных настройках секвенирования и байзкинга.

**Анализ полученных данных.** Байзкинг полученных последовательностей анализировали ДНК проводили с помощью программы для расшифровки сигналов интегрированной в ПО «Нанопорус», используя видеокарту RTX 3060Ti (Nvidia, США). Анализ качества секвенирования также проводили непосредственно в оболочке ПО «Нанопорус». Сборку генома *E. coli* проводили с помощью ассемблера Flye<sup>39</sup> и полировщика на основе

моделей искусственного интеллекта (ИИ) Medaka. Оценку точности сборок проводили на онлайн-платформе NCBI (National Center for Biotechnology Information, национальный центр биотехнологической информации, США)<sup>40</sup> с применением алгоритма Blast.

### Результаты и обсуждение

В ходе секвенирования геномной ДНК бактерий на приборах «Нанопорус» и MinION были получены схожие результаты как по качеству (показатель качества Q Score составлял в среднем 23) так и по длине прочтений (N50 [24] составляла 8,76 тысяч пар оснований) (рисунки 4, 5).

Сборка генома *E. coli* с помощью ассемблера Flye позволила получить последовательность полного генома с точностью последовательности порядка от 99,92 % ( $Q>30$ ) до 100 % ( $Q>70$ ) в зависимости от референсного генома, использовавшегося для сравнения (на основе базы данных NCBI) (рисунок 6).

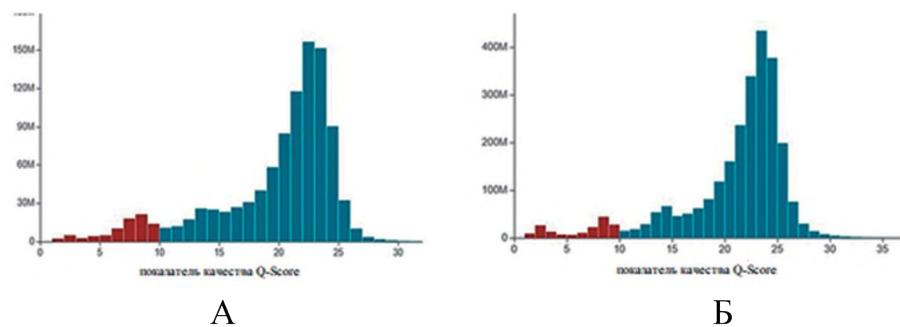


Рисунок 4 – Распределение по качеству полученных в ходе секвенирования ридов ДНК библиотеки *E. coli* на нанопоровых секвенаторах. А – MinION; Б – Нанопорус (данные авторов)

Figure 4: Distribution of the quality of the reads obtained during sequencing of the *E. coli* DNA library on nanopore sequencers. A, MinION; B, Nanoporus (data from the authors)

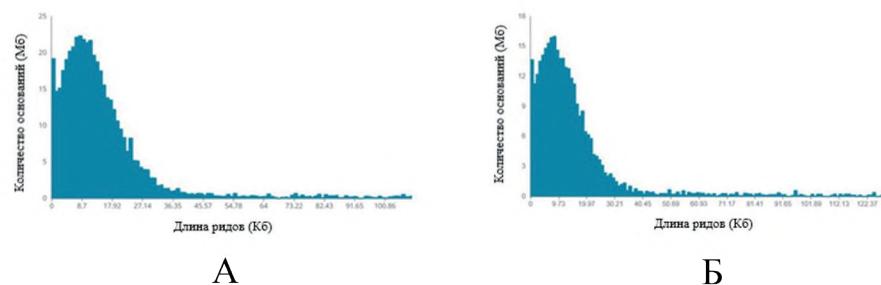


Рисунок 5 – Распределение по длине полученных в ходе секвенирования ридов ДНК библиотеки *E. coli* на нанопоровых секвенаторах. А – MinION; Б – Нанопорус (данные авторов)

Figure 5: Distribution of the length of reads obtained during sequencing of the *E. coli* DNA library on nanopore sequencers. A, MinION; B, Nanoporus (data from the authors)

<sup>39</sup> Kolmogorov M. Flye: fast and accurate genome assembly using repeat graphs. URL: <https://github.com/mikolmogorov/Flye> (дата обращения: 25.06.2025).

<sup>40</sup> NCBI BLAST. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov> (дата обращения: 25.06.2025).

Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.  
 Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozerov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.

Sequences producing significant alignments								Download	Select columns	Show	100	?
		Description		Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession	
<input checked="" type="checkbox"/>	select all	100 sequences selected										
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain B95, delta A chromosome, complete genome	Escherichia coli	52630	54009	100%	0.0	100.00%	4558291	CP085842_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain BL21 (Takara), complete genome	Escherichia coli	52630	54009	100%	0.0	100.00%	4528118	CP010816_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli BL21(DE3), complete genome	Escherichia coli BL21(DE3)	52630	54009	100%	0.0	100.00%	4558947	AM946981_2		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain DL21 chromosome, complete genome	Escherichia coli	52630	54009	100%	0.0	100.00%	4558813	CP079747_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain BLK9 chromosome, complete genome	Escherichia coli	52630	54009	100%	0.0	100.00%	4165587	CP014641_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain C43(DE3), complete genome	Escherichia coli	52630	54009	100%	0.0	100.00%	4501450	CP011938_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain BLR(DE3), complete genome	Escherichia coli	52630	54009	100%	0.0	100.00%	4550811	CP020368_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain INSC1002 chromosome, complete genome	Escherichia coli	52630	54009	100%	0.0	100.00%	4528123	CP045977_1		

Рисунок 6 – Точность сборки генома *E. coli* с помощью ассемблера Flye на основе полученных ридов после секвенирования на приборе «Нанопорус». Можно наблюдать показатели покрытия и идентичности равные 100 %, а также совпадение полученной сборки с референтом по длине, что подтверждает высокую точность сборки генома с использованием ассемблера Flye (сравнение произведено на основе базы данных NCBI. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)

Figure 6: Accuracy of *E. coli* genome assembly using the Flye assembler based on reads obtained after sequencing on a Nanoporus system. Coverage and identity values of 100 % are observed, as well as length matching of the resulting assembly with the reference, demonstrating the high accuracy of genome assembly using the Flye assembler (comparison was made using the NCBI database. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)

Далее с помощью полиривщика на основе моделей ИИ Medaka выполнена генерация консенсусной последовательности, где в качестве основной сборки использовали геном, полученный на основе ассемблера Flye. Выравнивание улучшенных геномных последовательностей на референсы на основе базы данных NCBI показаны на рисунке 7. После улучшения сборки точность полученной последовательности генома *E. coli* составила от 99,991 % (Q>40) до 100 % (Q>70).

Как показывают полученные результаты нанопорового секвенирования генома ДНК *E. coli*, проведенные на секвенаторе «Нанопорус» и платформе MinION, применение отечественного прибора позволяет получить сравнимые результаты секвенирования. При этом применение новой химии версии 114 и проточной ячейки позволяет получить сборки и консенсусные последовательности секвенируемых образцов ДНК с качеством,

сравнимым с качеством секвенирования на основе «эталонной» технологии типа Illumina (США). При этом несомненные преимущества технологии нанопор, такие как портативность, невысокая требовательность к вычислительным ресурсам, не привязанность к длине рида и возможность сборки очень сложных геномов (от теломеры до теломеры) свидетельствует, что эта технология в ближайшие годы будет являться одной из наиболее перспективных в области высокопроизводительного секвенирования.

### Перспективы применения технологии в войсках РХБ защиты

Нанопоровое секвенирование представляет собой перспективную технологию для решения задач биологической разведки и контроля в системе войск РХБ защиты. Мобильность оборудования, возможность автономной работы в полевых условиях и опе-

Sequences producing significant alignments								Download	Select columns	Show	100	?
		Description		Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession	
<input checked="" type="checkbox"/>	select all	100 sequences selected										
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain B95, delta A chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.037e+05	100%	0.0	100.00%	4558291	CP085842_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain BL21 (Takara), complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.040e+05	100%	0.0	100.00%	4528118	CP010816_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli BL21(DE3), complete genome	Escherichia coli BL21(DE3)	1.686e+05	2.034e+05	100%	0.0	100.00%	4558947	AM946981_2		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain DL21 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.036e+05	100%	0.0	100.00%	4558813	CP079747_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain BLK9 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.013e+05	100%	0.0	100.00%	4165587	CP014641_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain INSC1002 chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.050e+05	100%	0.0	100.00%	4528123	CP020368_1		
<input checked="" type="checkbox"/>		Escherichia coli strain T7Express LysY chromosome, complete genome	Escherichia coli	1.686e+05	2.040e+05	100%	0.0	100.00%	4478959	CP053597_1		

Рисунок 7 – Точность сборки генома *E. coli* после обработки инструментом Medaka (сравнение произведено на основе базы данных NCBI. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)

Figure 7: Accuracy of *E. coli* genome assembly after processing by the Medaka tool (comparison based on the NCBI database. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)

ративное получение результатов определяют его практическую ценность для обеспечения биологической безопасности. Среди них наиболее важные:

*оперативная идентификация патогенов* – возможность анализа длинных фрагментов нуклеиновых кислот (до нескольких миллионов пар оснований) позволяет проводить быструю и точную идентификацию биологических патогенных агентов в полевых условиях, что критически важно для своевременного принятия решений при биологических инцидентах [25];

*экономическая эффективность развертывания оборудования* – сравнительно с традиционными методами секвенирования, нанопоровая технология предлагает сниженные эксплуатационные затраты и минимальные требования к инфраструктуре, что обеспечивает возможность создания сетевой системы биологического мониторинга на протяженных территориях [26];

*определение патогенного потенциала* – анализ эпигенетических модификаций и вирулентных маркеров позволяет оценивать патогенный потенциал выявленных микроорганизмов и отслеживать эволюцию биологических угроз, что необходимо для прогнозирования развития биологической обстановки [19];

*полевая диагностика в режиме реального времени* – технология обеспечивает возможность непосредственного применения в мобильных лабораториях РХБ разведки для экспресс-анализа проб окружающей среды и биологических образцов, сокращая время от момента отбора пробы до получения результата с нескольких дней до часов [9];

*индивидуальная оценка биологических рисков* – возможность быстрого секвенирования патогенов позволяет адаптировать средства защиты и медицинские контрмеры

к конкретным штаммам микроорганизмов, выявленным в зоне ответственности подразделений РХБ защиты [4].

Развортыивание технологии нанопорового секвенирования в войсках РХБ защиты позволит создать многоуровневую систему оперативного выявления и идентификации биологических угроз, соответствующую современным вызовам в области биологической безопасности.

### Заключение

Проведенное исследование демонстрирует, что отечественная платформа «Нанопорус» является конкурентоспособным решением для нанопорового секвенирования. Экспериментально подтверждено, что при использовании современной химии (версия 114) и алгоритмов биоинформационической обработки, система обеспечивает качество сборки геномов, сопоставимое как с платформой MinION, так и с «эталонными» технологиями типа Illumina.

Ключевыми преимуществами платформы «Нанопорус» являются ее портативность, сниженные эксплуатационные затраты и возможность работы в автономных условиях, что определяет ее высокую практическую значимость для применения в мобильных лабораториях войск РХБ защиты. Технология в целом демонстрирует значительный потенциал для решения широкого круга задач в области геномики, включая сборку сложных геномов и анализ эпигенетических модификаций.

Перспективы развития связаны с дальнейшей оптимизацией протоколов секвенирования, совершенствованием химии и методов биоинформационического анализа, что позволит повысить точность и расширить область применения платформы в практике биологической безопасности.

### Ограничения исследования / Limitations of the study

Данное исследование имеет ряд ограничений, которые следует учитывать при интерпретации результатов. Исследование выполнено на ограниченном наборе образцов (референсный штамм *E. coli*). Для статистически значимых выводов о производительности платформы в различных условиях необходимы масштабированные испытания на более широкой панели биологических образцов, включая иные виды бактерий, вирусы и эукариотические геномы. На результаты могла повлиять конкретная концентрация и качество исходной ДНК, а также стабильность условий окружающей среды при проведении секвенирования. Воспроизводимость результатов в различных полевых условиях требует дополнительной проверки. Сравнительный анализ возможностей технологий был основан на обзоре доступных научных публикаций, преимущественно на английском языке, что могло привести к неполному учету исследований, опубликованных в иных, в частности, российских, рецензируемых журналах. Эффективность работы платформы «Нанопорус» и качество сборки в значительной степени зависели от применения конкретных версий алгоритмов постобработки (Flye, Medaka). / This research has several limitations that should be considered when interpreting the results. The study was conducted using a limited set of samples (the reference strain *E. coli* XL1-Blue). To draw statistically significant conclusions about the platform's performance across various scenarios, scaled-up testing on

Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.  
Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozerov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.

a broader panel of biological specimens – including other bacterial species, viruses, and eukaryotic genomes – is required. The results may have been influenced by the specific concentration and quality of the input DNA, as well as the stability of the environmental conditions during sequencing. The reproducibility of these results in diverse field settings necessitates further verification. The comparative analysis of sequencing technologies was based on a review of available scientific literature, primarily from English-language sources accessible via the internet. This approach may have led to an incomplete consideration of relevant studies published in other languages, particularly in Russian peer-reviewed journals. The performance of the "Nanoporus" platform and the quality of the genome assemblies were highly dependent on the use of specific versions of bioinformatics tools for post-processing (Flye, Medaka).

#### **Список источников / References**

1. Wang Y, Zhao Y, Bollas A, Wang Y, Au KF. Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications. *Nature Biotechnology*. 2021;39(11):1348–65.  
<https://doi.org/10.1038/s41587-021-01108-x>
2. Peng M, Davis ML, Bentz ML. Short-read and long-read whole genome sequencing for SARS-CoV-2 variants identification. *Viruses*. 2025;17(4):584.  
<https://doi.org/10.3390/v17040584>
3. Brown A, Patel R, Chen S. Cost-effective genomic solutions: the impact of nanopore sequencing in low-resource settings. *BMC Genomics*. 2022;23(1):100.  
<https://doi.org/10.1186/s12864-022-09001-9>
4. Amarasinghe SL, Su S, Dong X, Zappia L, Ritchie ME, Gouil Q. Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biology*. 2020;21(1):30.  
<https://doi.org/10.1186/s13059-020-1935-5>
5. Logsdon GA, Vollger MR, Eichler EE. Long-read human genome sequencing and its applications. *Nature Reviews Genetics*. 2020;21(10):597–614.  
<https://doi.org/10.1038/s41576-020-0236-x>
6. Pugh J. The Current State of Nanopore Sequencing. *Methods in Molecular Biology*. 2023;2632:3–14.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2996-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2996-3_1)
7. Deamer D, Akeson M, Branton D. Three decades of nanopore sequencing. *Nature Biotechnology*. 2016;34:518–24.  
<https://doi.org/10.1038/nbt.3423>
8. Jain M, Olsen HE, Paten B, Akeson M. The Oxford Nanopore MinION: delivery of nanopore sequencing to the genomics community. *Genome Biology*. 2016;17:239.  
<https://doi.org/10.1186/s13059-016-1103-0>
9. Quick J, Loman NJ, Duraffour S, Simpson JT, Severi E, Cowley L, et al. Real-time, portable genome sequencing for Ebola surveillance. *Nature*. 2016;530(7589):228–32.  
<https://doi.org/10.1038/nature16996>
10. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*. 1988;239(4839):487–91.  
<https://doi.org/10.1126/science.2448875>
11. Taudt A, Colomé-Tatché M, Johannes F. Genetic sources of population epigenomic variation. *Nature Reviews Genetics*. 2016;17(6):319–32.  
<https://doi.org/10.1038/nrg.2016.45>
12. Li H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics*. 2018;34(18):3094–100.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty191>
13. De Coster W, Hert DS, Schultz DT, Cruts M, Van BC. NanoPack: visualizing and processing long-read sequencing data. *Bioinformatics*. 2018;34(15):2666–9.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty149>
14. Koren S, Walenz BP, Berlin K, Miller JR, Bergman NH, Phillippy AM. Canu: scalable and accurate long-read assembly via adaptive k-mer weighting. *Genome Research*. 2017;27(5):722–36.  
<https://doi.org/10.1101/gr.215087.116>
15. Ruan J, Li H. Fast and accurate long-read assembly with wtdbg2. *Nature Methods*. 2020;17:155–8.  
<https://doi.org/10.1038/s41592-019-0669-3>
16. Sedlazeck FJ, Rescheneder P, Smolka M, Fang H, Nattestad M, Haeseler A, et al. Accurate detection of complex structural variations using single-molecule sequencing. *Nature Methods*. 2018;15:461–8.  
<https://doi.org/10.1038/s41592-018-0001-7>
17. Tham CY, Tirado-Magallanes R, Goh Y, Fullwood MJ, Koh BTH, Wang W, et al. NanoVar: accurate characterization of patients' genomic structural variants using low-depth nanopore sequencing. *Genome Biology*. 2020;21:56.  
<https://doi.org/10.1186/s13059-020-01968-7>

18. Shafin K, Pesout T, Chang P-C, Nattestad M, Kolesnikov A, Goel S, et al. Haplotype-aware variant calling with PEPPER-Margin-DeepVariant enables high accuracy in nanopore long-reads. *Nature Methods*. 2021;18:1322–32.  
<https://doi.org/10.1038/s41592-021-01299-w>
19. Simpson JT, Workman RE, Zuzarte PC, David M, Dursi LJ, Timp W. Detecting DNA cytosine methylation using nanopore sequencing. *Nature Methods*. 2017;14:407–10.  
<https://doi.org/10.1038/nmeth.4184>
20. Kim D, Song L, Breitwieser FP, Salzberg SL. Centrifuge: rapid and sensitive classification of metagenomic sequences. *Genome Research*. 2016;26:1721–9.  
<https://doi.org/10.1101/gr.210641.116>
21. Robinson JT, Thorvaldsdóttir H, Winckler W, Guttman M, Lander ES, Getz G, et al. Integrative genomics viewer. *Nature Biotechnology*. 2011;29(1):24–6.  
<https://doi.org/10.1038/nbt.1754>
22. Wick RR, Schultz MB, Zobel J, Holt KE. Bandage: interactive visualization of de novo genome assemblies. *Bioinformatics*. 2015;31(20):3350–2.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv383>
23. Nicholls SM, Quick JC, Tang S, Loman NJ. Ultra-deep, long-read nanopore sequencing of mock microbial community standards. *GigaScience*. 2019;8(5):giz043.  
<https://doi.org/10.1093/gigascience/giz043>
24. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409(6822):860–921.  
<https://doi.org/10.1038/35057062>
25. Mardis ER. Next-generation DNA sequencing methods. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2008;9:387–402.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164359>
26. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: Ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*. 2016;17(6):333–51.  
<https://doi.org/10.1038/nrg.2016.49>

#### **Вклад авторов / Authors' contributions**

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: А.А. Петров – формирование концепции статьи, написание текста рукописи; А.М. Ермаков – подготовка экспериментальных данных; Д.П. Белозеров – сбор и анализ данных научной литературы, переработка текста рукописи, составление рисунков и таблиц; М.Ю. Павлюков – подготовка материалов для статьи по методам секвенирования; М.И. Солдатенкова – подготовка материалов для статьи по программному обеспечению; Д.А. Кутаев – редактирование текста рукописи; С.В. Борисевич – окончательное утверждение рукописи. / All authors confirm that their authorship meets the ICMJE criteria. The largest contribution is distributed as follows: A.A. Petrov – formation of the article concept, writing of the manuscript text; A.M. Ermakov – preparation of experimental data; D.P. Belozerov – collection and analysis of scientific literature data, revision of manuscript text, preparation of figures and tables; M.Yu. Pavlyukov – preparation of materials for the article on sequencing methods; M.I. Soldatenkova – preparation of materials for the article on software; D.A. Kutaev – editing the text of the manuscript; S.V. Borisevich – final approval of the manuscript for publication.

#### **Сведения о рецензировании / Peer review information**

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе. / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

#### **Об авторах/ Authors**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, Российская Федерация, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11.

Петров Александр Анатольевич. Начальник научно-исследовательского управления, д-р мед. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

Белозеров Денис Петрович. Старший научный сотрудник.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1858-8689>

Петров А.А., Ермаков А.М., Белозеров Д.П., Павлюков М.Ю., Солдатенкова М.И., Кутаев Д.А., Борисевич С.В.  
Petrov A.A., Ermakov A.M., Belozerov D.P., Pavlyukov M.Yu., Soldatenkova M.I., Kutaev D.A., Borisevich S.V.

*Павлюков Михаил Юрьевич.* Старший научный сотрудник.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-0150-0998>

*Солдатенкова Мария Игоревна.* Младший научный сотрудник.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7760-6019>

*Кутаев Дмитрий Анатольевич.* Заместитель начальника ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России по научной работе, канд. биол. наук.  
Борисевич Сергей Владимирович. Начальник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, профессор, академик РАН.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

**Контактная информация для всех авторов:** 48cnii@mil.ru  
**Контактное лицо:** Борисевич Сергей Владимирович; 48cnii@mil.ru

ООО «Нанопорус», 142201, Московская обл., г. Серпухов, ул. Сиреневая д. 8.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, 142290, Московская обл., г. Пущино, ул. Институтская, д. 3.

*Ермаков Артем Михайлович.* Заведующий лабораторией исследований генома, канд. биол. наук.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7810-0675>

**Контактная информация автора:** Ермаков Артем Михайлович; beoluchi@yandex.ru

48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Oktyabrskaya Str., 11, Sergiev Posad-6 141306, Russian Federation.

*Aleksandr A. Petrov.* Head of Research Department, Dr Sci. (Med.).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

*Denis P. Belozerov.* Senior Researcher.  
ORCID: 0009-0008-1858-8689

*Mikhail Yu. Pavlyukov.* Senior Researcher.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-0150-0998>

*Maria I. Soldatenkova.* Junior researcher.  
ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-7760-6019>

*Dmitriy A. Kutaev.* Deputy of Head of 48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation on scientific research, Cand. Sci. (Biol.).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4236-1368>

*Sergey V. Borisevich.* Head of 48 Central Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Academician of Russian Academy of Sciences, Dr Sci. (Biol.), Professor.  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

**Contact information for all authors:** 48cnii@mil.ru  
**Contact person:** Sergey V. Borisevich; 48cnii@mil.ru

Nanoporus LLC, Sirenevaya Str., 8, Serpukhov 142201, Moscow region, Russian Federation.

Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya Str., 3, Pushchino 142290, Russian Federation.

*Artem M. Ermakov.* Head of the Genome Research Laboratory, Cand. Sci. (Biol.).  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7810-0675>

**Contact information for author:** Artem M. Ermakov; beoluchi@yandex.ru