

ГООА «Новгородский Кванториум»

«Определение качества продуктов методами молекулярной биологии и биоинформатики»

Выполнила:

Капитанова Татьяна
Константиновна,
ученица биоквантума,
проектный модуль

Научный руководитель:

Кузьмина Ирина
Анатольевна, педагог
дополнительного
образования ГОАУ
«Новгородский
Кванториум»

Великий Новгород

2022 г.

Оглавление

Краткое описание проекта.	1
Введение	2
1. Проблема.	2
2. Актуальность.	2
3. Опрос и его анализ.	3
4. Цель проекта.	4
5. Задачи.	4
Литературный обзор.	4
1. Существующие методы определения качества продуктов.	4
2. Выделение геномной ДНК.	5
3. Конструирование праймеров.	5
4. Полимеразная цепная реакция.	6
5. Электрофорез в агарозном геле.	7
6. Секвенирование.	7
7. Множественное выравнивание.	7
Материалы и методы	7
Практическая часть.	8
1. Описание предложенного нами метода.	8
2. Выбор гена.	9
3. Ход работы.	9
Выводы.	13
Заключение.	14
Список литературы.	14

Краткое описание проекта.

Проект направлен на разработку ДНК-системы определения в пробе наличия гена, кодирующего 5.8S рРНК, которая содержит консервативные участки определенного рода ягод.

Проблемой проекта является стремление производителей удешевить производство товаров из плодово-ягодного сырья путем замены натуральных ягод искусственными заменителями.

Текстовая работа представляет собой литературный обзор и практическую часть. В литературном обзоре изложен материал, касающийся использования альтернативных способов анализа качества продуктов и методов, используемых в проекте

Практическая часть представляет собой работу по подборе гена, праймеров и проведения ПЦР *in silico*.

Проект находится в стадии прототипирования.

Введение.

Каждый день вместе с пищей человек получает каротиноиды, флавоноиды, фенольные кислоты, гидролизуемые дубильные вещества и различные витамины. Они обеспечивают нормальную работу нервной системы, стабильное течение метаболических процессов, различных иммунных реакций. В наибольшем количестве эти соединения человек получает из ягод [1].

В настоящее время многие люди отказываются от домашних заготовок, делая выбор в пользу аналогов из супермаркета. Вследствие этого, в рационе человека преобладают продукты, которые сделаны из искусственно выведенных ягод и фруктов.

Нередко заводы и компании вместо применения плодов прибегают к использованию разного рода добавок и заменителей. Это может привести к полному вытеснению натуральных компонентов, из-за чего пищевую ценность будут составлять лишь сахара, жиры, белки и углеводы.

Проблема проекта.

Производители, в стремлении удешевить производство заменяют натуральные фрукты, овощи или ягоды различными искусственными заменителями с целью удешевить производство. Из-за такой альтернативы теряется пищевая ценность продукта.

Актуальность.

Существует множество способов определить химические и физические свойства анализируемого образца. Такие методы исследования дают понимание о содержании конкретных органических или неорганических веществ в пробе, а также о вязкости, упругости и тягучести продуктов.

На данный момент способ определения качества пищевых продуктов методами молекулярной биологии и биоинформатики не используется, хотя такая технология позволяет проверить исследуемый продукт на добавление в него ягодно-плодового сырья.

Опрос и его анализ.

Проведя опрос по теме исследования среди 59 человек, мы получили следующий результат:

1. Респонденты предпочитают чернику, малину и клубнику. Эти данные помогут в выборе актуальных для потребителей объектов исследования (рис.1).

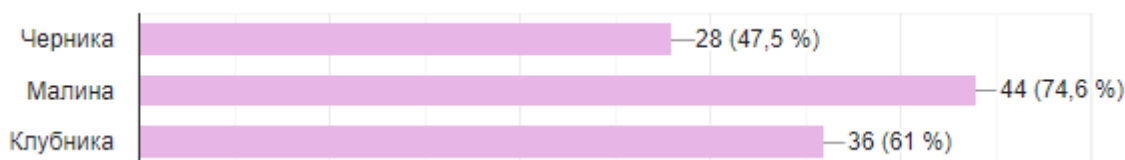


Рисунок 1 Предпочтения респондентов

2. Мы видим, что люди обеспокоены составом продуктов (рис. 2).

В какой степени вас беспокоит натуральность продуктов питания?

59 ответов

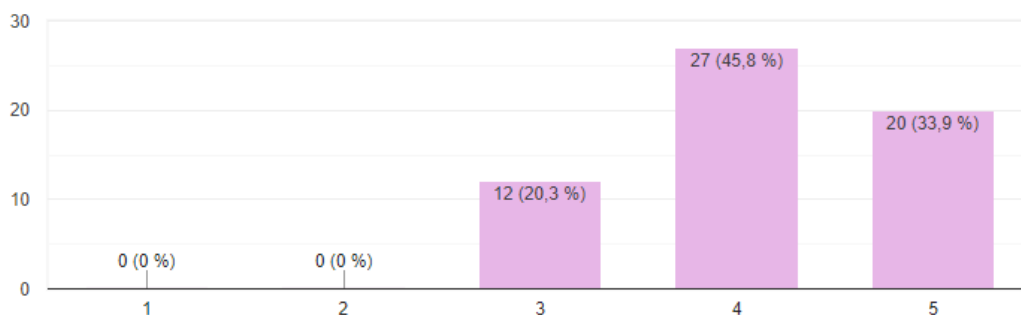


Рисунок 2 Результаты опроса, где 1 - абсолютно всё равно, 5 - очень обеспокоен натуральностью выбранного продукта

3. Результаты данного вопроса позволяют сделать вывод об актуальности темы проекта (рис. 3).

Как вы считаете, необходим ли независимый анализ продуктов на наличие натуральных фруктов и овощей?

59 ответов

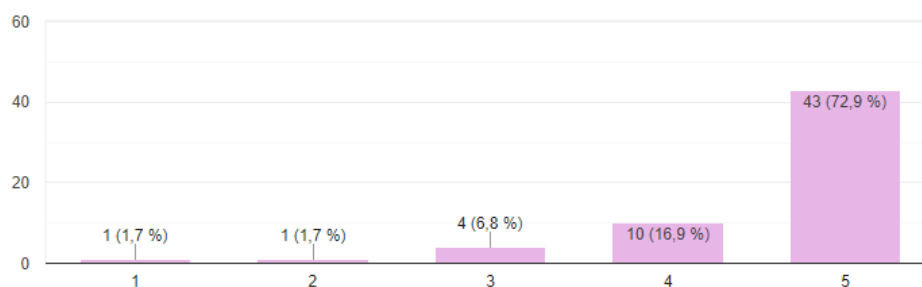


Рисунок 3 Результаты опроса. По мнению респондентов, анализ продуктов необходим

Цель.

Разработать метод анализа качества продуктов питания методами молекулярной биологии и биоинформатики.

Задачи.

- 1) Изучить материал по теме проекта.
- 2) Провести анкетирование.
- 3) Разработать методику анализа пищевых продуктов с помощью молекулярной биологии и биоинформатики.
- 4) Испробовать методику *in silico*.
- 5) Сделать выводы о предложенном методе анализа.

Литературный обзор.

1. Существующие методы определения качества продуктов.

1. Спектральные методы

Спектральный анализ с высокой точностью характеризует состав вещества, отличается высокой избирательностью, универсальностью и чувствительностью. С его помощью можно исследовать любые вещества в различных агрегатных состояниях. Практическая значимость спектральных аналитических методов заключается в возможности осуществления автоматического контроля измеряемых параметров [2].

2. Хроматографические методы

Позволяют определять как летучие, так и нелетучие компоненты пищи, как основные ингредиенты, так и примеси. Из-за универсальности, чувствительности, экспрессности, доступности аппаратуры хроматографические методы применяются для анализа исходного пищевого сырья на всех стадиях технологического процесса и контроля качества на выходе продукции [3].

3. Реологические методы

Основаны на изучении консистенции и тягучести пищи при определенных приложенных силах, чтобы понять основные физико-химические принципы "структурирования" пищевых материалов и их взаимодействия [4].

4. Вольтамперометрические методы

Основаны на расшифровке поляризационных кривых (вольтамперограмм), полученных в электролитической ячейке с поляризующимся индикаторным электродом и неполяризующимся электродом сравнения.

Вольтамперограмма дает качественную и количественную информацию о органических или неорганических веществах, восстанавливающихся или окисляющихся на индикаторном микроэлектроде (деполяризаторах), а также о характере электродного процесса [5].

2. Выделение геномной ДНК.

Любое практическое исследование в области генетики не может начаться без получения образца ДНК, который далее может быть отсеквенирован или использован для какой-либо модификации.

Существует несколько методов выделения геномной ДНК, но все они содержат следующие обязательные этапы:

1. Лизис клеток под действием физических факторов (например, ультразвук или многократное замораживание и оттаивание образцов) или химических агентов (додецил сульфат натрия, хаотропные агенты, ферменты).
2. Удаление из клеточного лизата белков с помощью протеаз либо фенола и хлороформа.
3. Центрифугирование для удаления денатурированных белков и фрагментов клеточных органелл.
4. Выделение ДНК путем осаждения этанолом либо связывания ДНК с сорбентом.

Промывка ДНК, растворение ДНК в буферном растворе.

Наиболее легким в плане исполнения считается метод выделения ДНК посредством сорбции на специальном носителе. В качестве сорбента может выступать силикагель, ионообменные смолы, целлюлозные (бумажные) фильтры, магнитные частицы [6].

3. Конструирование праймеров.

Праймеры – это короткие (как правило, 18-30 нуклеотидов) химически синтезированные олигодезоксирибонуклеотиды, являющиеся затравками (инициаторами) синтеза цепи ДНК с помощью ДНК-полимеразы [7].

Подбор праймеров осуществляется вручную или с помощью специализированного ПО.

Есть требования, которым должны соответствовать праймеры для удачной постановки ПЦР-реакции [8].

1. Длина должна составлять 18-30 п.н.;
2. Температура отжига должна лежать в диапазоне 50-65°C;
3. Температура отжига обоих праймеров должна быть сходной;
4. Праймеры не должны быть комплементарны друг другу;

4. Полимеразная цепная реакция.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – метод молекулярной биологии, который благодаря повторяющемуся процессу удвоения молекул ДНК позволяет за небольшое время увеличить количество ДНК в геометрической прогрессии [9].

Эта реакция была изобретена в 1983 году американским биохимиком Кэри Муллисом, который в 1993 году получил за неё Нобелевскую премию по химии [10].

Для проведения ПЦР требуются следующие компоненты:

1. ДНК-матрица
2. ДНК-зависимая ДНК-полимераза (или просто ДНК-полимераза) – фермент, который синтезирует новые комплементарные цепи ДНК на матрице исходной ДНК.
3. Дезоксинуклеозидтрифосфаты (дНТФ, dNTP), используемые ДНК-полимеразой в качестве источника мономерных звеньев при синтезе ДНК.
4. Праймеры.
5. Вода и буфер для создания оптимальных условий для работы ДНК-полимеразы и предотвращения сорбции продуктов реакции на стенках реакционной пробирки.

Полимеразная цепная реакция основана на многократном последовательном прохождении нескольких этапов:

- Денатурация ДНК – разрушение водородных связей между нуклеотидами ферментом хеликазой при 95-98°C
- Отжиг праймеров – присоединение праймеров к одноцепочечным молекулам ДНК (50-72°C)
- Элонгация – синтез второй цепи ДНК, присоединение нуклеотидов к 3'-концу праймера по принципу комплементарности (72°C)

За каждый цикл ПЦР количество ДНК удваивается, то всего за 25 циклов с одной молекулы ДНК можно получить 225 копий (более 33,5 млн. молекул).

ПЦР проводят в специальных аппаратах (амплификаторах, или термоциклерах), которые работают в режиме быстрого изменения температуры реакционной смеси в соответствии с заданной программой.

5. Электрофорез в агарозном геле.

Гель-электрофорез служит для разделения фрагментов ДНК/РНК по длине и их визуализации с помощью интеркалирующих красителей. ДНК обладает отрицательным зарядом, поэтому движется от катода к аноду. Применяется ДНК-маркер длин, каждый из фрагментов которого определяет разную длину участков. Если в пробе при постановке ПЦР нет искомого участка, то продукт не нарабатывается, и мы не сможем увидеть его на гель-электрофорезе.

6. Секвенирование

Секвенированием называют процесс определения точного порядка расположения нуклеотидов в молекуле ДНК.

Английский биохимик Фредерик Сэнгер в 1975 г. Первый предложил метод определения первичной структуры ДНК, основанный на использовании ДНК-полимеразы и радиоактивно меченых нуклеотидов («Плюс-минус секвенирование»).

Принцип метода Сэнгера: удлинение цепи ДНК ферментом происходит до момента включения дидезоксинуклеотида. В ходе реакции мечения в каком-то положении случайным образом происходит включение в строящуюся цепь вместо dNTP меченого ddNTP, что ведет к остановке синтеза. Разделение полученных фрагментов методом электрофореза в геле позволяет определить последовательность нуклеотидов [11].

7. Множественное выравнивание.

Множественное выравнивание - выравнивание трёх и более биологических последовательностей, обычно белков, ДНК или РНК.

В большинстве случаев предполагается, что входной набор последовательностей имеет эволюционную связь. Используя множественное выравнивание, можно оценить эволюционное происхождение последовательностей, проведя филогенетический анализ [12].

Материалы и методы.

В своем проекте мы применяли методы вычислительной биологии (*in silico*), которые позволяют охватить огромное количество данных, полученных в различных лабораториях по всему миру.

Для исследования мы использовали отсеквенированные последовательности генов, которые были взяты из открытой базы данных «NCBI Nucleotide» [13].

В качестве биоинформатического ПО, в котором выполнялись все основные задачи (множественное выравнивание, ПЦР *in silico*), была использована программа «UNIPRO UGENE» [14].

Чтобы убедиться в том, что полученный нами участок есть у всех растений рода *Rubus*, мы воспользовались сервисом BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [15] от Национального центра биотехнической информации. Этот ресурс находит области сходства между последовательностями. Программа сравнивает последовательности нуклеотидов или белков с базами данных последовательностей и вычисляет статистическую значимость и процент идентичности.

Практическая часть.

1. Описание предложенного нами метода.

Метод анализа на качество пищевых продуктов, предложенный нами, подразумевает под собой ПЦР-анализ на наличие гена, консервативного для определенного рода растений. В нашем случае, качественным будет считаться тот исследуемый образец, который содержит в себе выбранный консервативный ген. Для различных пищевых продуктов следует подобрать ген и праймеры, специфичные для плода, содержащегося в продукте. По результатам анализа мы сможем сделать вывод о том, содержится ли в продукте ягоды, фрукты или овощи, заявленные производителем.

Методика анализа *in vitro*:

- 1) Выделить ДНК из продуктов, взятых на исследование
- 2) Подобрать праймеры, амплифицирующие определенный участок гена, уникальный для данного плода
- 3) Провести ПЦР
- 4) Оценить результаты ПЦР с помощью гель-электрофореза
- 5) Сделать выводы о натуральности продукта, исходя из результатов электрофореза.

В нашем проекте мы используем описанный метод *in silico*.

2. Выбор гена.

Филогенетические связи между живыми организмами могут быть прослежены путем сравнения последовательностей генов и отдельных участков генов, кодирующих рибосомальные РНК [16].

В работе мы использовали отсекуеннированные последовательности выбранных ягод, содержащие гены 18s рРНК, 5.8 рРНК, 26s рРНК и внутренние транскрибируемые спейсеры 1 и 2 из базы данных нуклеотидных последовательностей NCBI.

На основе множественного выравнивания данных последовательностей был сделан вывод о консервативности 5.8 рРНК для растений рода *Rubus*.

3. Ход работы:

- 1) Найти и скачать отсекуеннированные изоляты, содержащие гены, кодирующие 18s рибосомальную РНК, внутренний транскрибируемый спейсер 1, 5.8S рибосомальную РНК и внутренний транскрибируемый спейсер 2 и 26s рибосомальную РНК.
- 2) Выполнить множественное выравнивание выбранных последовательностей с помощью MUSCLE.
- 3) Подобрать праймеры к полученному консенсусу.
- 4) Провести ПЦР *in silico*.
- 5) Проанализировать полученный продукт ПЦР с помощью BLAST, чтобы определить принадлежность образца к роду растения.

Шаг 1: Исходя из ответов респондентов, для исследования были выбраны такие ягоды, как европейская малина *Rubus idaeus* (GenBank: KM037411.1), ежевика *Rubus phoenicolasius* (GenBank: LC624402.1), морошка *Rubus chamaemorus* (GenBank: LC624368.1), тибетская земляничная малина *Rubus illecebrosus* (GenBank: LC624406.1).

На сайте NCBI в разделе «Nucleotide» найдем последовательности изолятов и скачаем в формате GenBank.

Шаг 2: Открыв последовательности в программе UNIPRO UGENE, мы добавляем их в выравнивание, и делаем выравнивание с помощью MUSCLE. На панораме выравнивания мы можем видеть один сплошной фрагмент (рис.4).



Рисунок 4 Множественное выравнивание образцов растений рода *Rubus*. Панорама выравнивания

Выделив консенсус данного участка, мы сравнили его с последовательностью малины *Rubus idaeus* (GenBank: KM037411.1) и сделали вывод, что данный участок выравнивания является геном, кодирующим 5.8s рибосомальную РНК (рис. 5). Этот участок является консервативным, и он одинаков для всех растений рода *Rubus*.

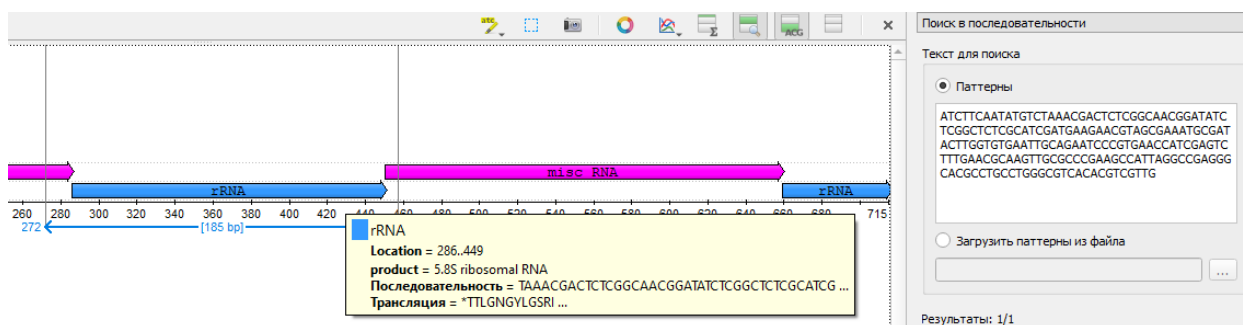


Рисунок 5 Поиск консенсуса в последовательности малины *Rubus idaeus*

Шаг 3: Благодаря выравнивания 4 видов растений рода *Rubus*, мы определили, что последовательность гена 5.8s рРНК в нашем проекте искомая, и прямо в последовательности малины *Rubus idaeus* (GenBank: KM037411.1) осуществляем подбор праймеров для проведения ПЦР in silico.

Шаг 5: Чтобы проверить наше предположение, что ген 5.8s рРНК является консервативным для растений рода *Rubus*, проведем анализ полученного продукта ПЦР с помощью сервиса BLAST.

Job Title Nucleotide Sequence

RID 51CU0XBW013 Search expires on 04-10 06:12 am [Download All](#)

Program BLASTN [Citation](#)

Database nt [See details](#)

Query ID Icl|Query_63913

Description None

Molecule type dna

Query Length 164

Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear exclude

Type common name, binomial, taxid or group name

[+ Add organism](#)

Percent Identity to **E value** to **Query Coverage** to

[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions | Graphic Summary | Alignments | Taxonomy

Sequences producing significant alignments [Download](#) | [Select columns](#) | Show 100

select all 100 sequences selected

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
✓ Rubus titanus isolate RSA12_17 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, compl...	Rubus titanus	303	303	100%	3e-78	100.00%	462	OL899298
✓ Rubus berqii x Rubus rigidus isolate RSA44_17 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RN...	Rubus berqii x R...	303	303	100%	3e-78	100.00%	401	OL899298
✓ Rubus berqii x Rubus rigidus isolate RSA41_17 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RN...	Rubus berqii x R...	303	303	100%	3e-78	100.00%	471	OL899294
✓ Rubus pinnatus subsp. pinnatus isolate RSA38_17 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal...	Rubus pinnatus s...	303	303	100%	3e-78	100.00%	613	OL899287
✓ Rubus pinnatus subsp. pinnatus isolate RSA08_17 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal...	Rubus pinnatus s...	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899288
✓ Rubus pinnatus subsp. pinnatus isolate RSA02_17 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal...	Rubus pinnatus s...	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899285
✓ Rubus rigidus isolate MS18_18 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complet...	Rubus rigidus	303	303	100%	3e-78	100.00%	639	OL899284
✓ Rubus capperi isolate MS39_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complet...	Rubus capperi	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899283
✓ Rubus capperi isolate MS42_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complet...	Rubus capperi	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899282
✓ Rubus capperi isolate MS76_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complet...	Rubus capperi	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899281
✓ Rubus capperi isolate MS74_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complet...	Rubus capperi	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899280
✓ Rubus capperi isolate MS43_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complet...	Rubus capperi	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899279
✓ Rubus pinnatus subsp. pinnatus isolate MS95_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal...	Rubus pinnatus s...	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899278
✓ Rubus pinnatus isolate MS80_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, compl...	Rubus pinnatus	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899277
✓ Rubus capperi isolate MS88_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complet...	Rubus capperi	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899276
✓ Rubus capperi isolate MS16_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complet...	Rubus capperi	303	303	100%	3e-78	100.00%	639	OL899275
✓ Rubus capperi isolate MS64_18 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complet...	Rubus capperi	303	303	100%	3e-78	100.00%	614	OL899274
✓ Rubus capperi isolate MS46B_18 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, compl...	Rubus capperi	303	303	100%	3e-78	100.00%	641	OL899273
✓ Rubus acetulus isolate MS08_18 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, compl...	Rubus acetulus	303	303	100%	3e-78	100.00%	612	OL899270
✓ Rubus berqii isolate RSA17_17 c11 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spa...	Rubus berqii	303	303	100%	3e-78	100.00%	714	OL899266
✓ Rubus berqii isolate RSA17_17 c10 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spa...	Rubus berqii	303	303	100%	3e-78	100.00%	714	OL899264
✓ Rubus rosifolius isolate MS21_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, comp...	Rubus rosifolius	303	303	100%	3e-78	100.00%	624	OL899261
✓ Rubus ellipticus isolate MS14_18 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, compl...	Rubus ellipticus	303	303	100%	3e-78	100.00%	654	OL899259
✓ Rubus phoenicolasius isolate MS61_20 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene...	Rubus phoenicol...	303	303	100%	3e-78	100.00%	600	OL899258
✓ Rubus pinnatus x Rubus sp. MS-2021 (sect. Argubi) isolate MS48_18 c2 internal transcribed spacer 1, partial sequ...	Rubus pinnatus x...	303	303	100%	3e-78	100.00%	694	OL899256
✓ Rubus trichogynus isolate MS33_18 c8 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...	Rubus trichogynus	303	303	100%	3e-78	100.00%	714	OL899255
✓ Rubus sp. 1 MS-2021 isolate RSA25_17 c5 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcri...	Rubus sp. 1 MS-...	303	303	100%	3e-78	100.00%	713	OL899254
✓ Rubus trichogynus isolate MS33_18 c7 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed...	Rubus trichogynus	303	303	100%	3e-78	100.00%	715	OL899253
✓ Rubus titanus isolate RSA48_17 c9 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spa...	Rubus titanus	303	303	100%	3e-78	100.00%	714	OL899252
✓ Rubus titanus isolate RSA48_17 c8 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spa...	Rubus titanus	303	303	100%	3e-78	100.00%	715	OL899251

Рисунок 9 Результаты анализа базы данных NCBI сервисом BLAST

Мы видим, что процент идентичности нашего продукта ПЦР к последовательностям, имеющимся в базе данных, составляет 100% в каждом из случаев (рис. 9).

Проведя выборку последовательностей из результатов BLAST (брать все не имело смысла, так как некоторые виды растений повторялись), мы провели множественное выравнивание с помощью MUSCLE (рис. 10). Аналогично шагу 2, мы увидели консенсус на панораме выравнивания (рис. 11) и, скопировав его последовательность, сравнили с последовательностью малины *Rubus idaeus* (GenBank: KM037411.1).

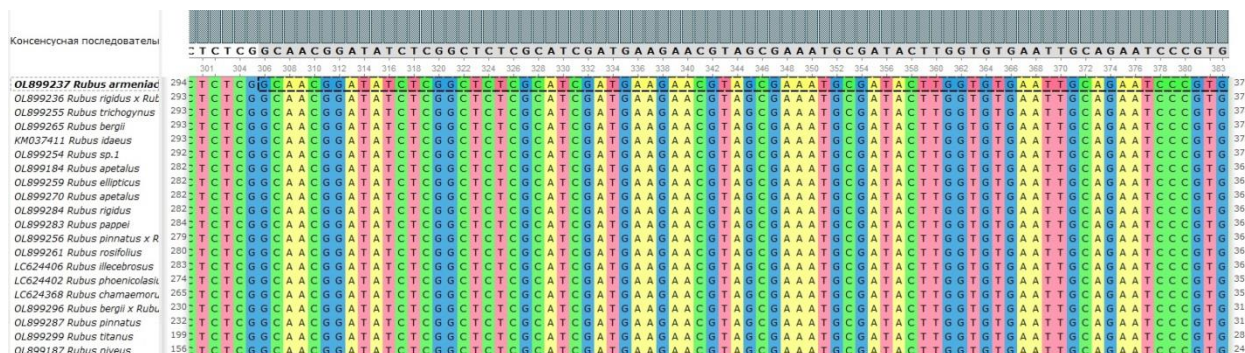


Рисунок 10 Выравнивание последовательностей из BLAST



Рисунок 11 Панорама выравнивания из BLAST

Можем сделать вывод, что консенсус участка выравнивания большей своей частью располагается на гене 5.8s рРНК (рис. 12)

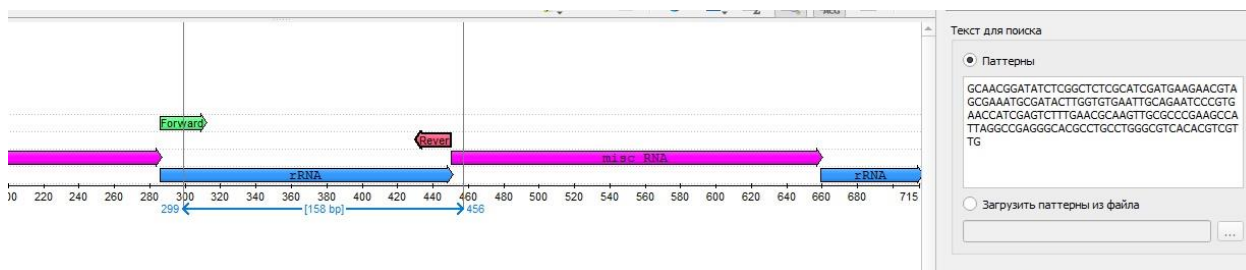


Рисунок 12 Сравнение консенсуса с последовательностью *Rubus idaeus*

Выводы.

- 1) Собран материал по теме проекта
- 2) Проведено множественное выравнивание последовательностей
- 3) Подобраны праймеры и ген, являющийся консервативным для рода *Rubus*.
- 4) Проведена ПЦР in silico
- 5) Проанализирован продукт ПЦР.

Заключение.

Мы разработали способ определения качества продуктов из плодово-ягодного сырья, используя методы молекулярной биологии и биоинформатики. Полученный метод подразумевает под собой ПЦР-анализ ДНК из выделенных продуктов. ПЦР-реакция ставится с добавлением специфичных праймеров, амплифицирующих ген 5.8s рибосомальной РНК, последовательность которого консервативна для всех растений рода *Rubus*. Наличие наработанного продукта ПЦР будет говорить о содержании плодово-ягодного сырья (натуральных компонентов продукта), что говорит о качестве продукта.

Разработанный метод планируется опробовать **in vitro**.

Список литературы.

1. Heikki M. Salo, Nga Nguyen, Emmi Alakärppä, Linards Klavins, Anne Linn Høykerud, Katja Karppinen, Laura Jaakola, Maris Klavins, Hely Häggman. Authentication of berries and berry-based food products, COMPREHENSIVE REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND FOOD SAFETY, august 2021.
2. Базарнова Ю.Г. Теоретические основы методов исследования пищевых продуктов. Учеб. пособие. — СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2014. — 136 с.
3. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Анализ пищевых продуктов и напитков хроматографическими методами. «Контроль качества продукции», Август 2003.
4. Энциклопедия пищевой химии L. Day, M. Golding, in, 2016
5. Вихарев, Н.А. Чемерис, С.А. Зуйкова, Н.Г. Домина. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА. Учебно-методическое указание для студентов технологических специальностей ХТПЗ, ХТНВ и ООС заочного факультета. Издательство АлтГТУ, Барнаул 2009. УДК 543.4(076)
6. Гребенкина Н.А., Глазова О.В., Митяева О.Н., Андреюк Д.С. Практикум по геномному редактированию
7. Введение в технику полимеразной цепной реакции : метод. В24 пособие к лабораторным занятиям по специальному практикуму для студентов биол. фак. / авт.-сост. В. В. Гринев. – Минск : БГУ, 2008 – 48 с.
8. Введение в технику полимеразной цепной реакции : метод. В24 пособие к лабораторным занятиям по специальному практикуму для студентов биол. фак. / авт.-сост. В. В. Гринев. – Минск : БГУ, 2008 – 48 с.

9. Гребенкина Н.А., Глазова О.В., Митяева О.Н., Андреюк Д.С.
Практикум по геномному редактированию
10. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/summary/>
11. NGS: высокопроизводительное секвенирование / Д. В. Ребриков, Д. О. Коростин, Е. С. Шубина, В. В. Ильинский ; под общ. ред. Д. В. Ребрикова.—3-е изд.—М. : Лаборатория знаний, 2020.—232 с. :ил.— ISBN 978-5-00101-255-9.
- 12.«МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ ПО НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ГЕНА 18S РИБОСОМНОЙ РНК», Учебное пособие, КАЗАНСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ, 2011
13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/?term=>
14. <https://ugene.net/ru/>
- 15.<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
- 16.Остроумов Л. А., Садовая Т. Н., Беспоместных К. В.
Филогенетический анализ типовых штаммов плесеней *roqueforti*, *camemberti* рода *Penicillium**. Техника и технология пищевых производств, 2010