

Российский национальный исследовательский медицинский  
университет имени Н.И. Пирогова

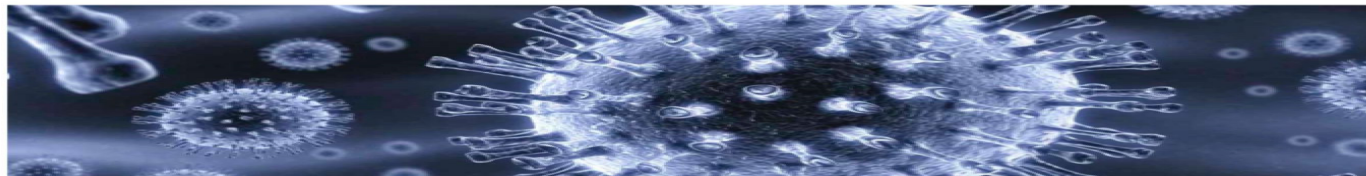
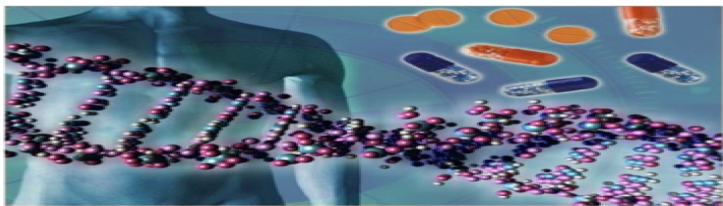
Кафедра клинической лабораторной диагностики ФДПО

**Щербо Сергей Николаевич**

**СОВРЕМЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ**

**ТЕХНОЛОГИИ КАК ОСНОВА МЕДИЦИНЫ**

**БУДУЩЕГО**



## **ФЕСТИВАЛЬ ГЕНОМИКИ 2015, БОСТОН:**

**«Вчера вернулся с Фестиваля Геномики. Как-будто слетал на другую планету или побывал в будущем. Ошеломлен геномной революцией, которая набирает ход. Я работаю в одном из самых передовых институтов, однако, чувствовал себя провинциалом на этом празднике высоких технологий.**

**Через пять лет будут расшифрованы геномы сотен тысяч людей, а через десять – геномы сотен миллионов людей.**

**Ничего в человеческом деле (здоровье, питание, медицина) не будет делаться без геномного анализа. Поставлена задача предсказания фенотипа по геному. Разработаны методики измерения фенотипа и представления его в цифровом виде. По геному научатся предсказывать предполагаемые заболевания, оптимальные лекарства, а также, лицо, рост, вес, голос, интеллект, оптимального брачного партнёра и всё-всё другое. Анализ будут делать машины, которые можно будет гонять в домашних условиях. В этот проект вкладываются колоссальные частные деньги. Всё серьёзно.»**

**Грядет эра персонализированной медицины и готовиться к ней нужно уже сегодня.**

*Джордж Черч. 2007*

**Медицина XXI века: Медицина 4 «П»**

**П**редиктивная (предсказательная)

**П**редупредительная (профилактическая)

**П**артисипативная (participatory) – *пациент участник процесса, его информируют и обучают. Ему помогают в выборе, о нем заботятся.*

**П**ерсонализированная (индивидуальная)

*Лерой Гуд (Leroy Hood) США, 2008)*

**П**рецизионная **2015 год** **Медицина 5 «П»**

**(Медицинский алфавит. Современная лаборатория №4, 2015.)**

**Эпоха патерналистской медицины, когда доктор знает лучше, а пациент счастлив, что у него есть врач, закончилась.**

**Майкл Спектр, New Yorker, 2013.**

**Медицина, основанная на превосходстве врача.**

**Первым врачом в Древнем Египте считается Имхотеп, который еще и верховный жрец.**

**Гиппократ был отцом не только медицины, но и медицинского патернализма: врачам следует скрывать «от больного многое», включая будущее или нынешнее состояние пациента».**

**Только в 16 и 17 веках появляются врачи (Джон Грегори, Томас Персиваль) признающие, что у пациента может или должно быть право голоса при лечении.**

**Первое упоминание об информированном согласии появилось только в 1957 году.**

## **МЕДИНФОРМАЦИЯ СТАНОВИТСЯ ДОСТУПНОЙ**

**В недавнем прошлом пациент не мог ни посмотреть, ни повлиять на записи, которые делаются при коротком (менее 10 минут) визите к врачу об ИХ состоянии здоровья, ИХ организме, при этом ОНИ же и платят.**

**Сегодня при наличии сыпи на коже можно сделать фото с помощью смартфона и загрузить его в приложение для обработки. Через несколько минут надежный компьютерный алгоритм, отличающийся большей точностью, чем большинство врачей, выдал бы ей текст с диагнозом. Текст включал бы описание шагов, которые необходимо предпринять, возможно, местное лечение с помощью мази или рекомендация сходить к дерматологу для получения очной консультации.**

**Всеобъемлющая мединформация о человеке будет доступной, анализируемой и передаваемой: от полученной с помощью датчиков, результатов УЗИ, лабораторных исследований до геномного секвенирования. Многие терабайты данных человека за всю жизнь будут накапливаться в личном облачном хранилище.**

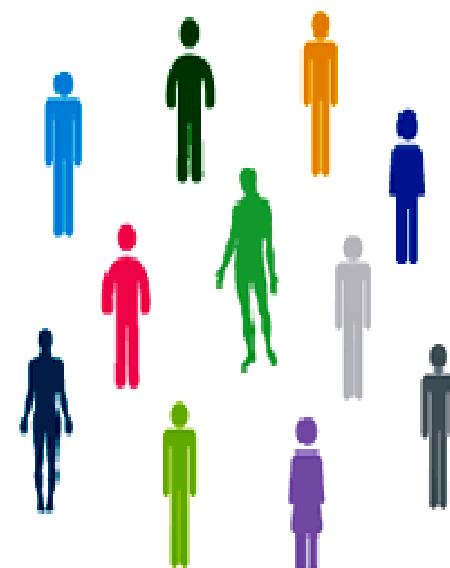
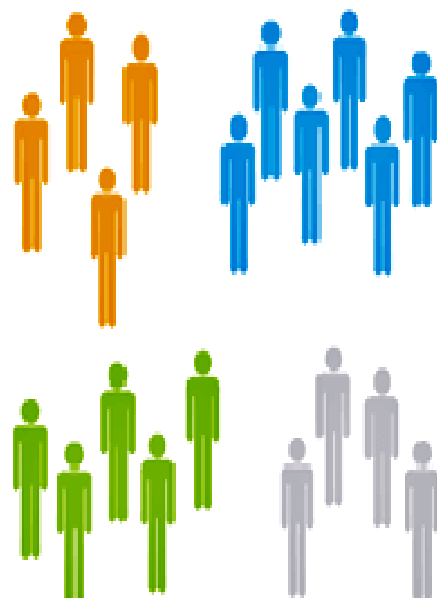
# **Программа фундаментальных исследований государственных академий наук на 2013-2020**

**ГОДЫ ( Распоряжение Правительства РФ 03.12.2012 г.)**

**Ближайшей целью российской медицины является  
внедрение персонализированной медицины,  
предполагающее не уход от традиционной медицины, а  
формирование на основе традиционного базиса  
персонализированного подхода к каждому человеку с  
учетом индивидуальной фармакокинетики, создания  
аутологичных клеточных и тканевых продуктов, в том  
числе комбинированных.**

**14 ПЛАТФОРМ ПО РАЗВИТИЮ НАУКИ МЗ РФ 2015 г.**

# ТАКОЙ ДОЛЖНА СТАТЬ МЕДИЦИНА XXI ВЕКА



**Дорогая**

Доказательная Медицина  
Всей Популяции

**Более дешевая**

Доказательная  
Медицина Групп

**Настоящая**

Персонализированная  
Медицина Индивидуумов

## Одинаковый подход ко всем



Все пациенты с одним заболеванием получают одинаковое лечение



Отсутствие эффекта

Положительный эффект

Нежелательные реакции



Некоторые пациенты получают эффект от приема лекарств, в то время как у других нету никакого эффекта, либо происходят нежелательные лекарственные реакции

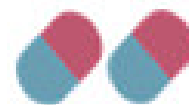
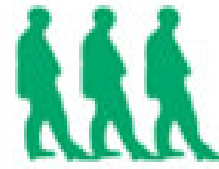
## Персонализированный подход



Предварительная диагностика, подразделение пациентов на различные группы



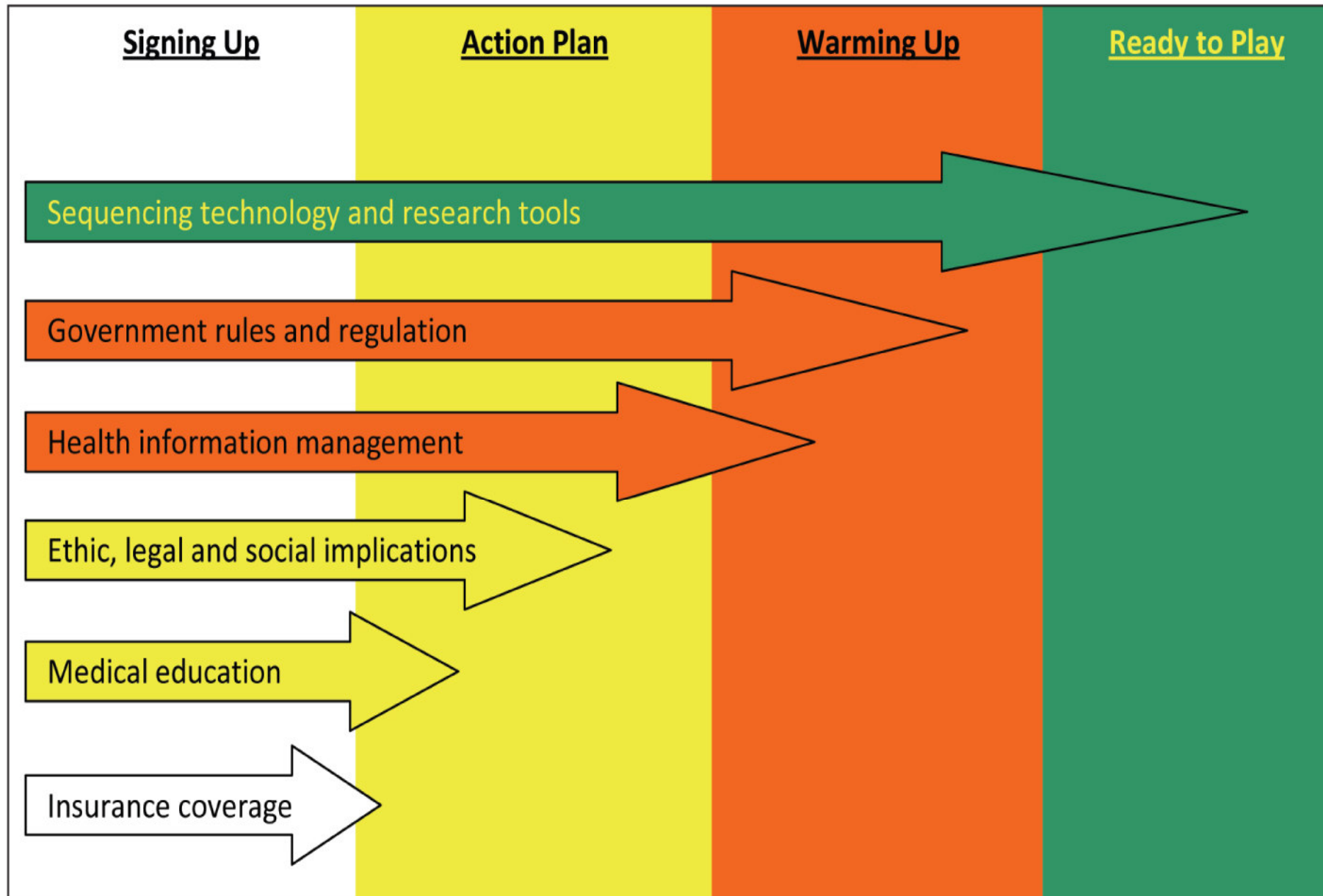
Положительный эффект



Предварительное распределение пациентов на группы, восприимчивых или невосприимчивых к определенной терапии



Source: Hua LV



**This diagram portrays the stage of readiness of the important players for implementation of personalized medicine, according to the Personalized Medicine Coalition.**

**РОССИЯ (2016 г.):**  
**НАЦИОНАЛЬНАЯ АССОЦИАЦИЯ**  
**ЛАБОРАТОРНОЙ,**  
**ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ И**  
**ТРАНСЛЯЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ**  
**(НАЛПТМ.РФ, NALPTM.RU)**

# МОНОГРАФИЯ «ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА»

Подготовлены к печати 2 тома : том 1 «Биологические основы»  
и том 2 «Лабораторные технологии».



На конференции «Стратегия персонализированной медицины и ее развитие во фтизиопульмонологии» в Москве в декабре 2013 г.: слева направо профессор С. Сучков (Россия), Хироси Абэ (Япония), Дик ван Гент (Нидерланды), А. Маршал (США), С. Щербо (Россия)

**Щербо Сергей Николаевич**, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ФДПО РНИМУ имени Н.И. Пирогова, профессор кафедры кожных и венерических болезней Медицинского института РУДН, президент Национальной ассоциации лабораторной, персонализированной и трансляционной медицины, вице-президент Российской ассоциации медицинской лабораторной диагностики.

**Щербо Дмитрий Сергеевич**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института трансляционной медицины РНИМУ имени Н.И. Пирогова.



1

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ

С.Н. Щербо, Д.С. Щербо

## ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННАЯ МЕДИЦИНА

В семи томах



Том 1

С.Н. Щербо, Д.С. Щербо

### БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ



Москва  
Российский университет дружбы народов  
2016

# ПРЕЦИЗИОННАЯ МЕДИЦИНА



**Национальные институты здоровья США (NIH) создают группу из одного миллиона людей, которые будут участвовать с 2016 г. в масштабных медицинских исследованиях, в задачу которых входит:**

- Количественно оценить риски для ряда заболеваний, включая факторы окружающей среды, генетические факторы и сочетания этих факторов**
- Понять причины индивидуальных отличий реакций людей на общепринятую терапию (фармакогеномика)**
- Найти биологические маркеры, которые указывают или уменьшают риск развития обычных болезней**
- Внедрить технологии мобильного здоровья (mHealth), чтобы следить за действиями участников, физиологическими параметрами и состоянием окружающей среды**
- Развить новые классификацию болезней и их взаимосвязей**
- Предоставить участникам исследования данные и информацию, которые улучшат их здоровье и создадут базу для испытаний направленной терапии.**

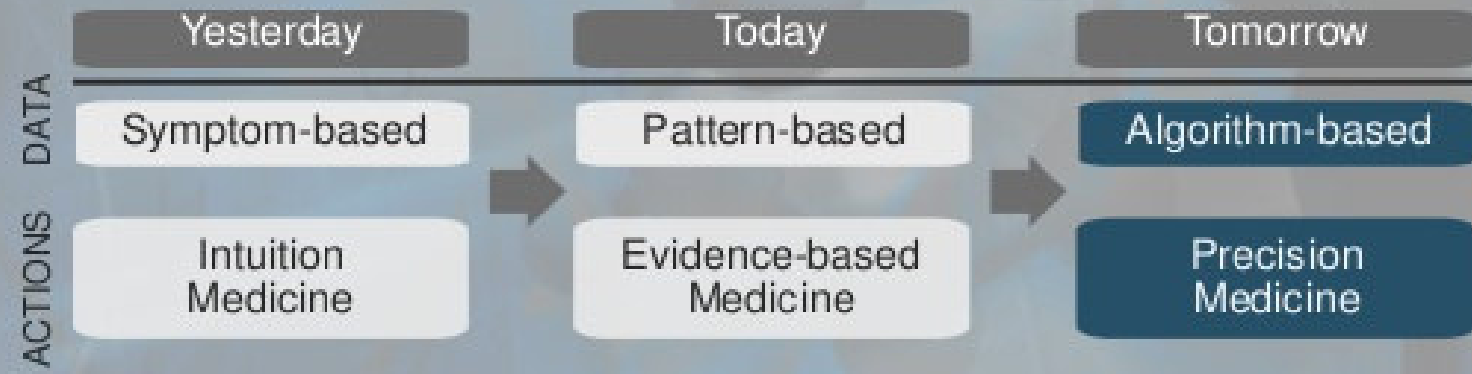
## **КРУПНЕЙШАЯ БАЗА ДАННЫХ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ (Великобритания, 2015 г.)**



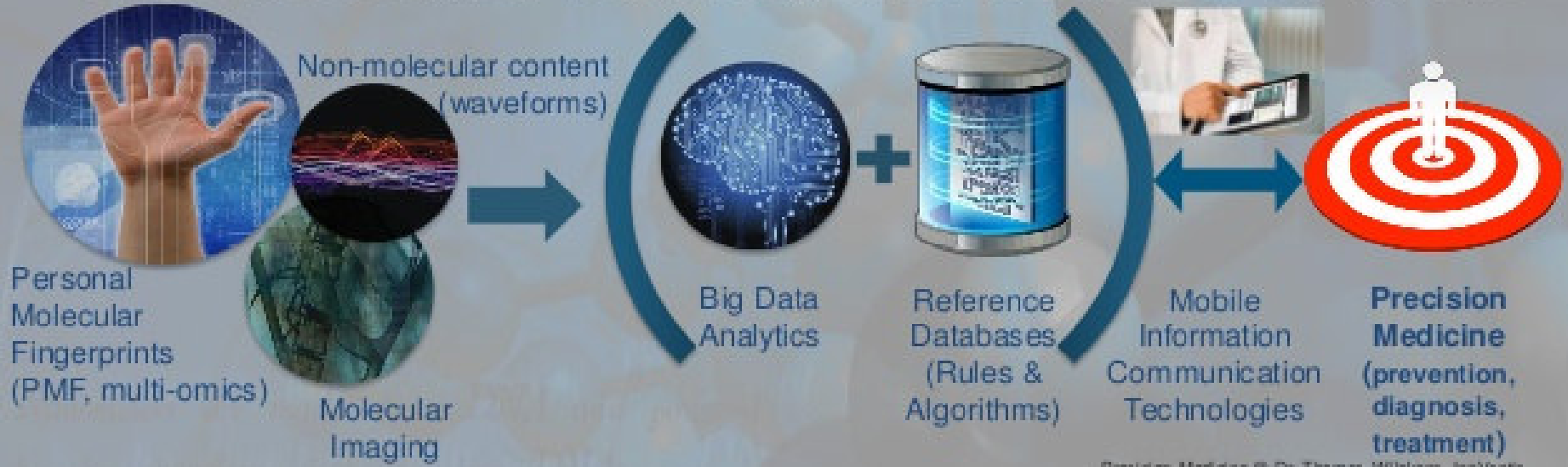
Десять крупнейших фармацевтических и биотехнологических компаний договорились о сотрудничестве с британской государственной организацией Genomics England с целью использования генетической информации пациентов Национальной службы здравоохранения Великобритании (NHS) в медицинских исследованиях, **чтобы расшифровать геном 100 тысяч пациентов, страдающих от онкологических или редких заболеваний.** Старт проекта «**100 тысяч геномов**» состоялся в 2012 г. ( бюджет 100 млн евро) и. к 2015 г. удалось расшифровать геном 3 тысяч пациентов. Если к 2017 г. компании смогут достигнуть своей цели и расшифровать 100 тысяч геномов, они соберут одну из крупнейших в мире базу данных генетической информации.



# Precision Medicine - Paradigm Shift



*Application of rules, algorithms and reference databases enables ACTIONABLE clinical decision support & PRECISE/EFFICIENT care*

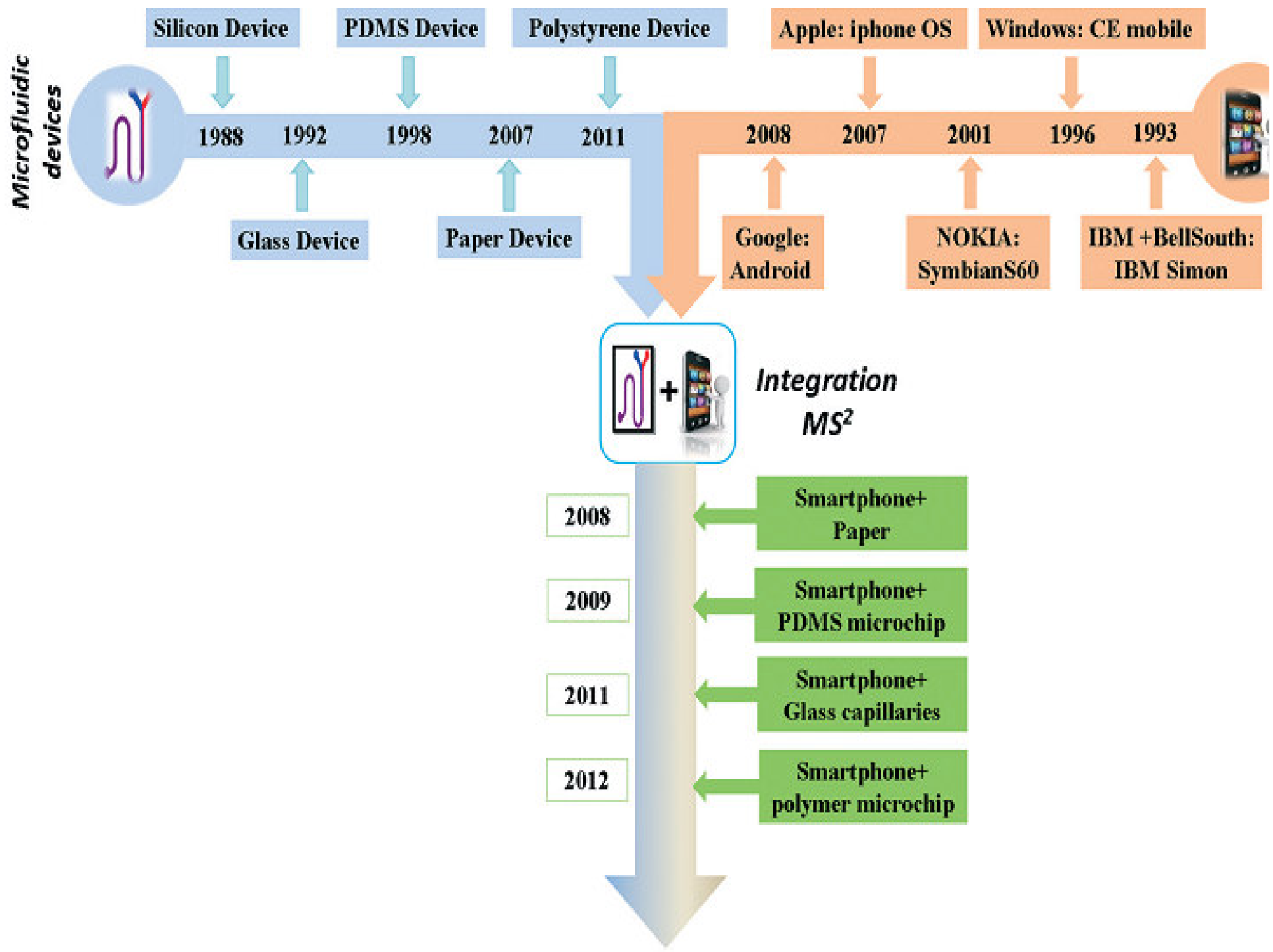


# МОБИЛЬНАЯ МЕДИЦИНА mHealth

**НОСИМЫЕ УСТРОЙСТВА, ПОДКЛЮЧЕННЫЕ К ПЛАТФОРМАМ ПОЗВОЛЯТ ОБЕСПЕЧИТЬ ФАКТИЧЕСКИ НЕПРЕРЫВНОЕ МЕДИЦИНСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ, В ЧАСТНОСТИ ОБНАРУЖИВАТЬ РАННИЕ ПРИЗНАКИ ПРОБЛЕМ СО ЗДОРОВЬЕМ.**

**РОСТ ИНВЕСТИЦИЙ В ЦИФРОВОЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЕ УВЕЛИЧИЛСЯ С 1,5 млрд. долларов США в 2011 г. ДО 5,8 млрд. долларов в 2015 г.**





# **ТЕЛЕФОН, СМАРТФОН И НЕДОРОГИЕ МОБИЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА**

**Образовательные инициативы через СМС, посвященные туберкулезу, малярии и ИППП.**

**Микрофлюидные устройства (лаборатория на чипе) используется для диагностики инфекционных болезней: вируса герпеса, ВИЧ, малярии.**

**Фолдоскоп – бумажный микроскоп, дающий увеличение в 2000 раз и стоящий менее 1 доллара**

**Использование ПЦР в портативных мобильных устройствах типа «Генный радар» компании Nanobiosym, Biomere для диагностики гонореи, ИППП, вируса Западного Нила, туберкулеза.**

**Колориметрический тест на туберкулез, малярию и ВИЧ, выполняемый с использованием тестовой полоски и камеры смартфона (Кембриджский университет).**

# **ТРИ ВАЖНЕЙШИХ ТЕХНОЛОГИИ НАЧАЛА ВТОРОГО ДЕСЯТИЛЕТИЯ XXI ВЕКА:**

**УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ  
НАПРАВЛЕННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ;**

**СОЗДАНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СИСТЕМ  
РЕДАКТИРОВАНИЯ ГЕНОМА;**

**ЗНАЧИТЕЛЬНОЕ УДЕШЕВЛЕНИЕ И РУТИННОЕ  
ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОМНЫХ СЕКВЕНАТОРОВ.**

# **ГЕНОМИКА. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ.**



# ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ

## Deciphering Complex Disease

A systems biology approach using the SOLiD™ System

Detect and Sequence Insertions and Deletions

Discover and Quantitate Non-Coding RNA

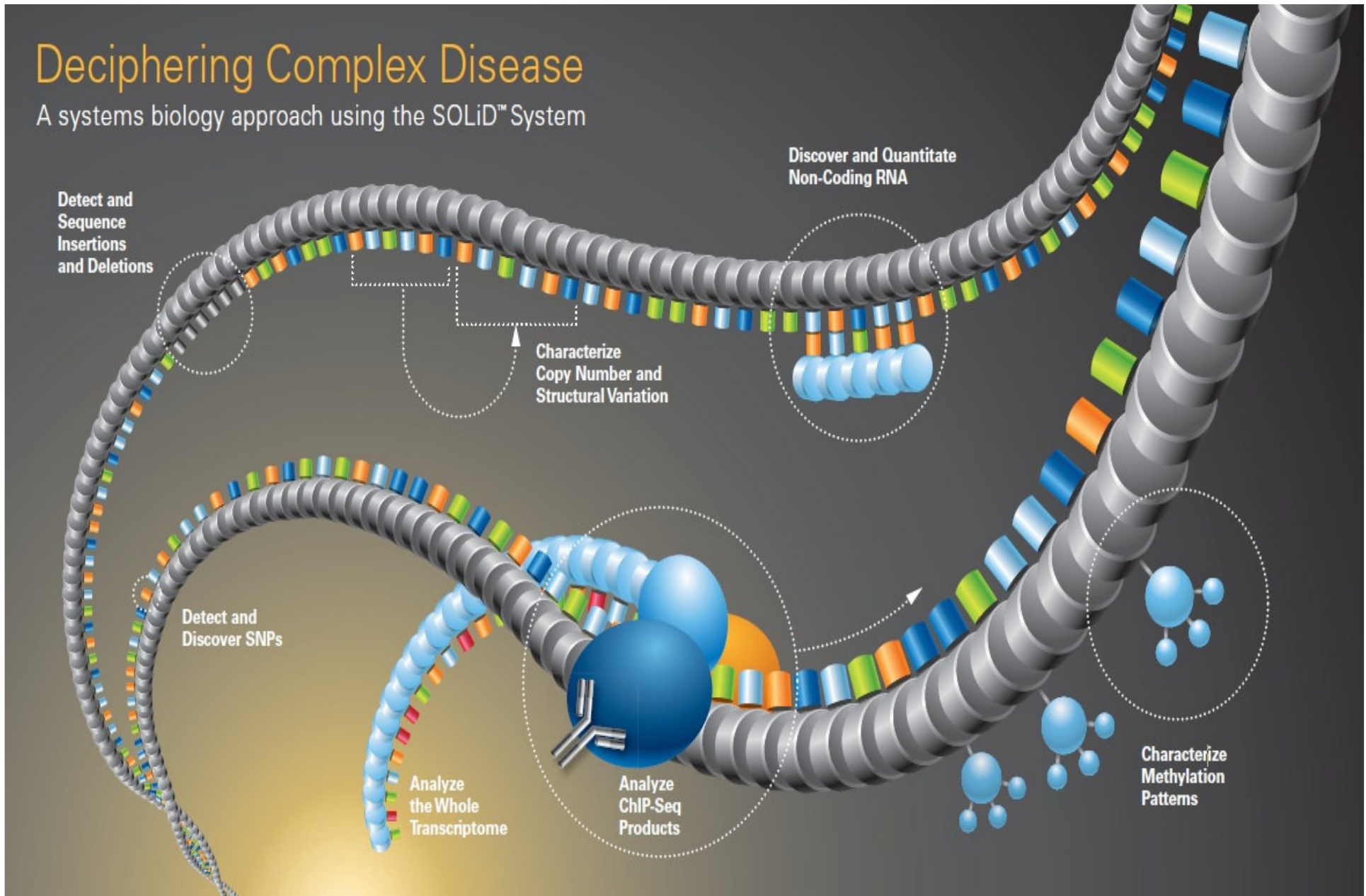
Characterize Copy Number and Structural Variation

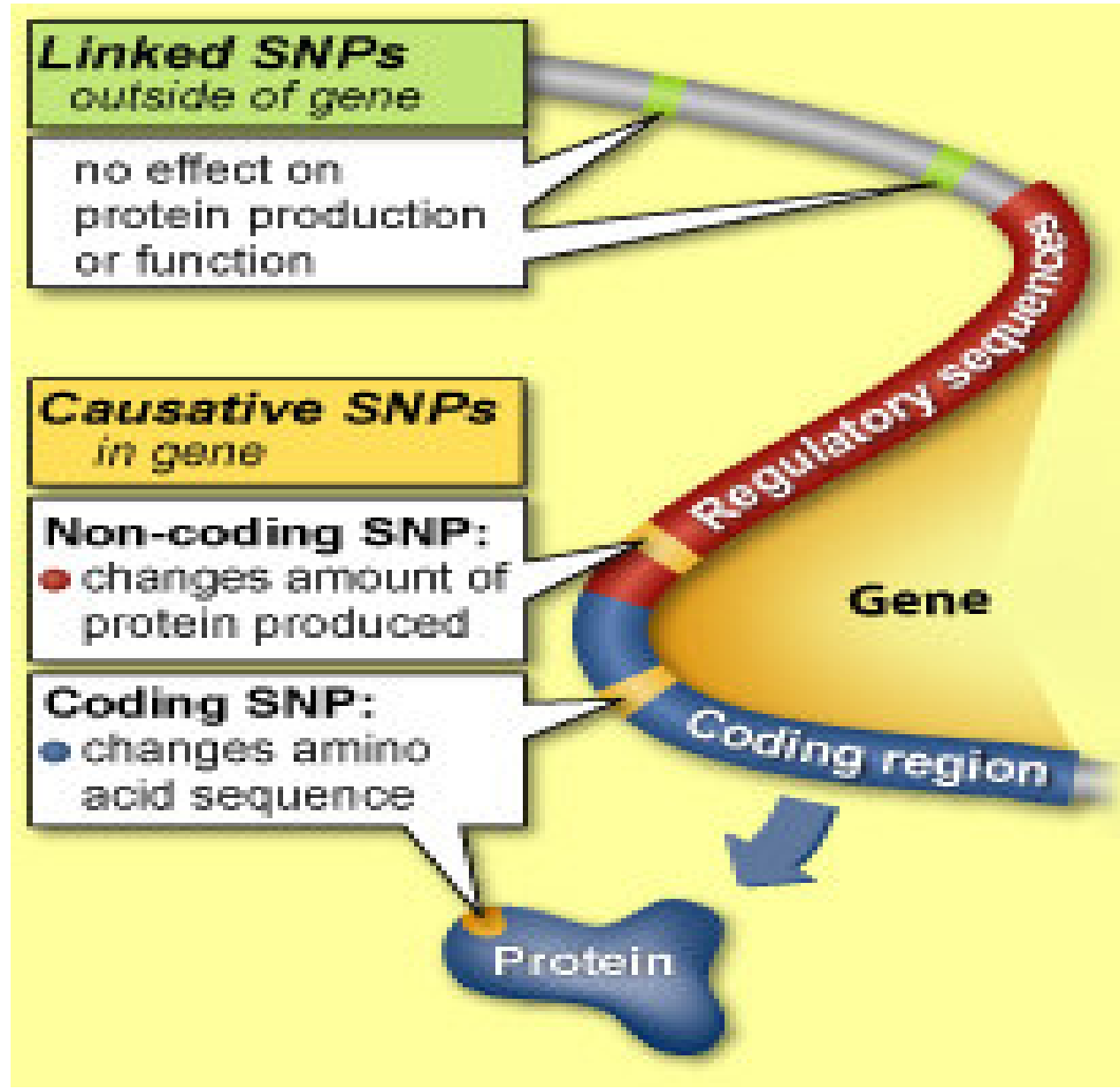
Detect and Discover SNPs

Analyze the Whole Transcriptome

Analyze ChIP-Seq Products

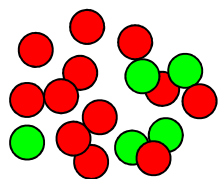
Characterize Methylation Patterns





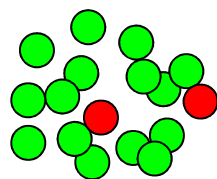
# Выявление «генов предрасположенности» к заболеванию проводится путем сопоставлений частот генотипов у больных и здоровых

Группа больных



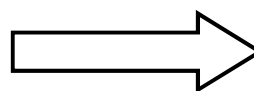
$P_{\text{больные}}$

Контроль (здоровые)



$P_{\text{контроль}}$

>>



● - генотип, указывающий на предрасположенность к заболеванию.

**OR** – количественная мера предрасположенности (**O**dd **R**atio), показывает во сколько раз повышена вероятность заболеть для носителя «плохого» генотипа

$$OR = \frac{P_{\text{больные}} (1 - P_{\text{контроль}})}{P_{\text{контроль}} (1 - P_{\text{больные}})}$$

**Распространенные аллели с большим эффектом,  
обнаруженные в GWAS (по Ch.S. Ku, 2010)**

<b>Болезнь</b>	<b>Наименование гена</b>	<b>rs</b>	<b>OR</b>	<b>OMIM</b>	<b>Регион</b>
<b>Возраст-зависимая дегенерация сетчатки</b>	<b>CFH</b>	<b>380390-C</b>	<b>4.60</b>	<b>134370</b>	<b>1q31</b>
<b>Эксфолиативная глаукома</b>	<b>LOXL1</b>	<b>382942-G</b>	<b>20.10</b>	<b>153456</b>	<b>15q24.1</b>
<b>Болезнь Крона</b>	<b>JL23R</b>	<b>10889677</b>	<b>2.13</b>	<b>607562</b>	<b>1p31.3</b>
<b>Рак яичка</b>	<b>KILTG</b>	<b>3782179</b>	<b>3.08</b>	<b>184745</b>	<b>12q22</b>
		<b>4474514</b>	<b>3.07</b>		

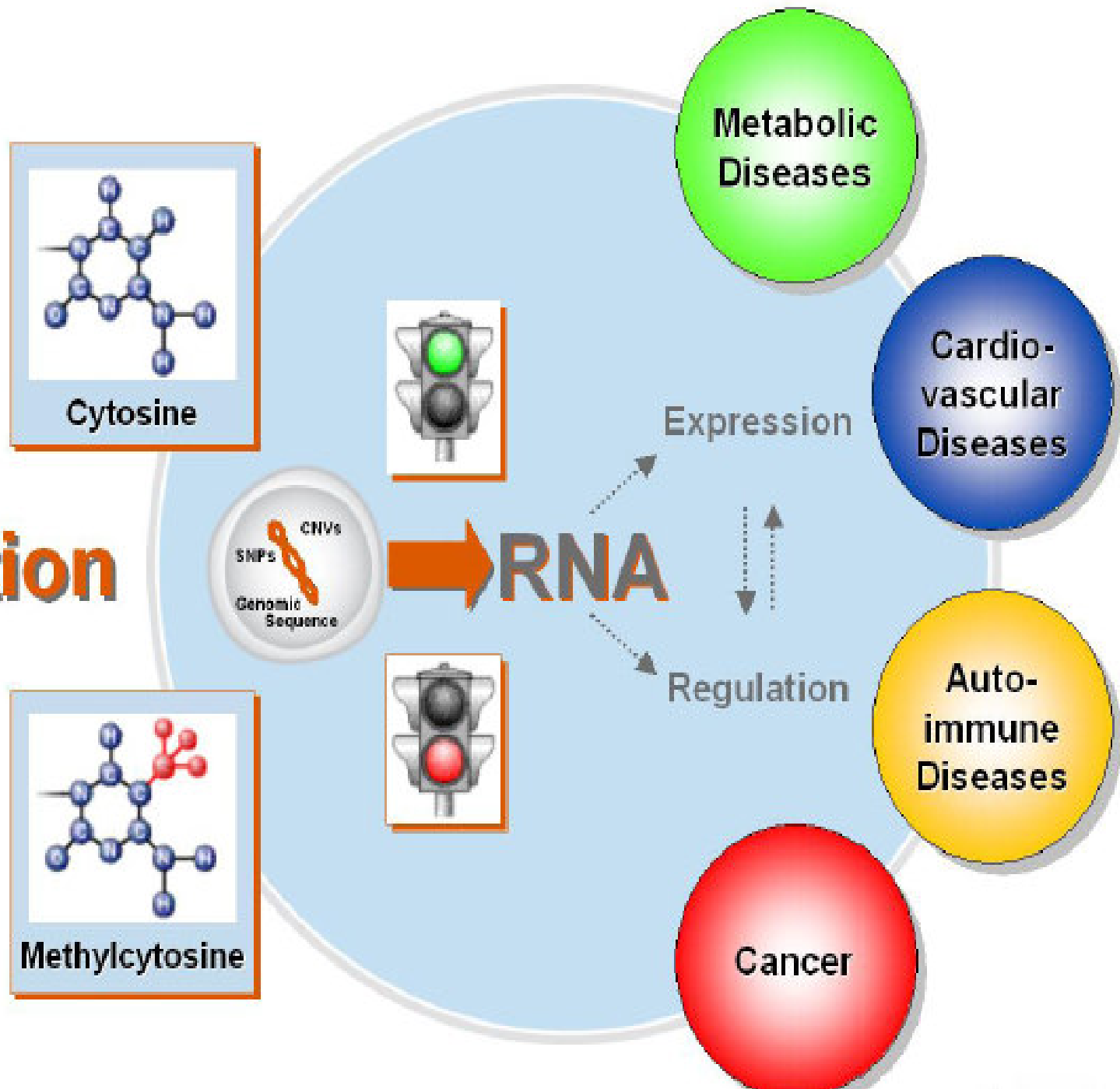


# ЭПИГЕНЕТИКА

Изменения экспрессии генов или фенотипа клетки, вызванные механизмами, не затрагивающими изменение нуклеотидной последовательности ДНК изучает эпигенетика. Эпигенетические изменения представляют собой химические модификации последовательности ДНК или гистонов – белков, необходимых для упаковки нитей ДНК в хромосомы.

К эпигенетическим, то есть к внешним по отношению к ДНК механизмам регуляции экспрессии генома относят метилование, ацетилирование, убиквитинилирование (ковалентное присоединение к белку мишени множество молекул убиквитина) и фосфорилирование.

# Methylation



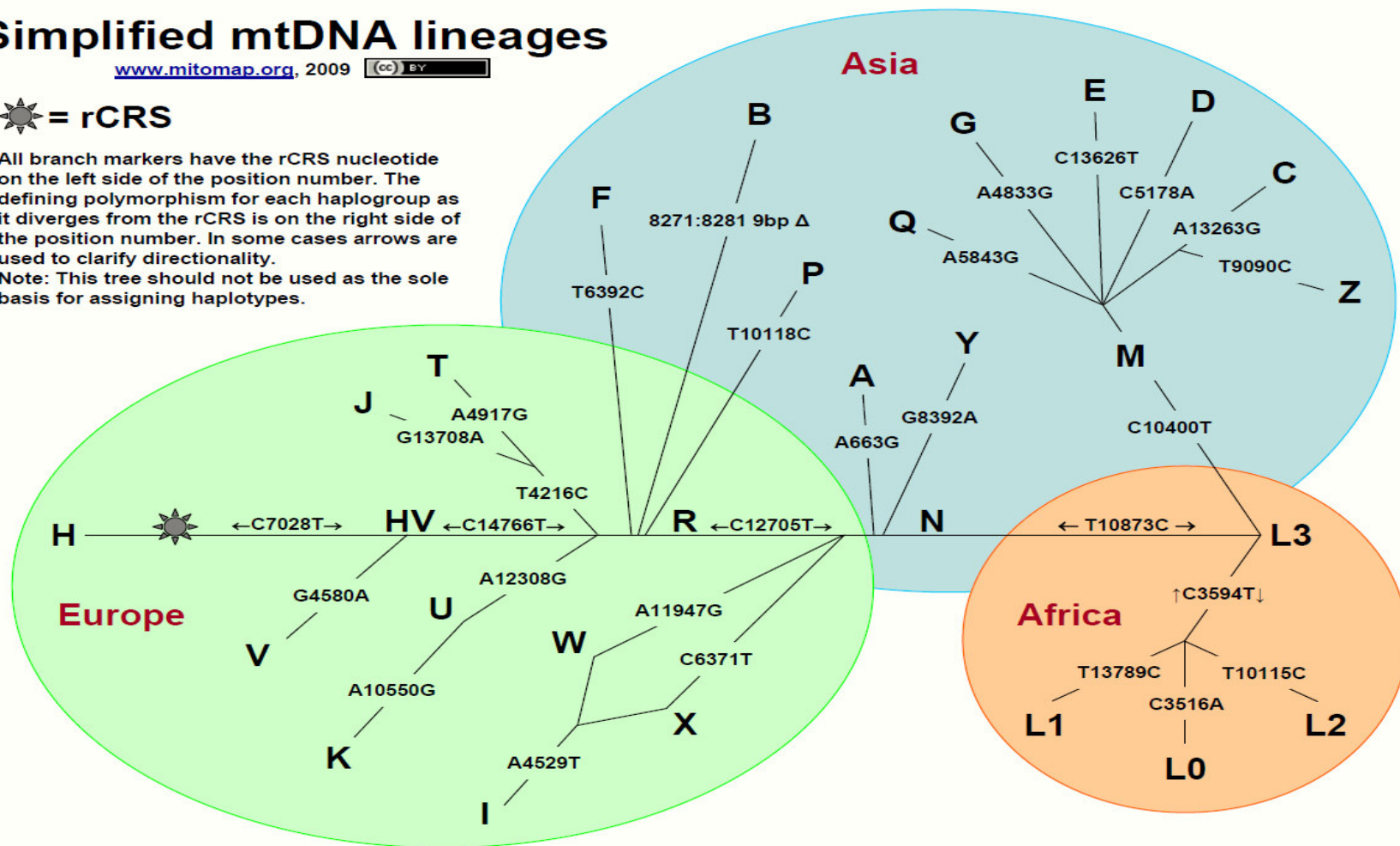
# ГАПЛОГРУППЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

## Simplified mtDNA lineages

[www.mitomap.org](http://www.mitomap.org), 2009 (cc) BY

☼ = rCRS

All branch markers have the rCRS nucleotide on the left side of the position number. The defining polymorphism for each haplogroup as it diverges from the rCRS is on the right side of the position number. In some cases arrows are used to clarify directionality. Note: This tree should not be used as the sole basis for assigning haplotypes.



# **ВЛИЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГАПЛОТИПОВ НА ОРГАНИЗМ**

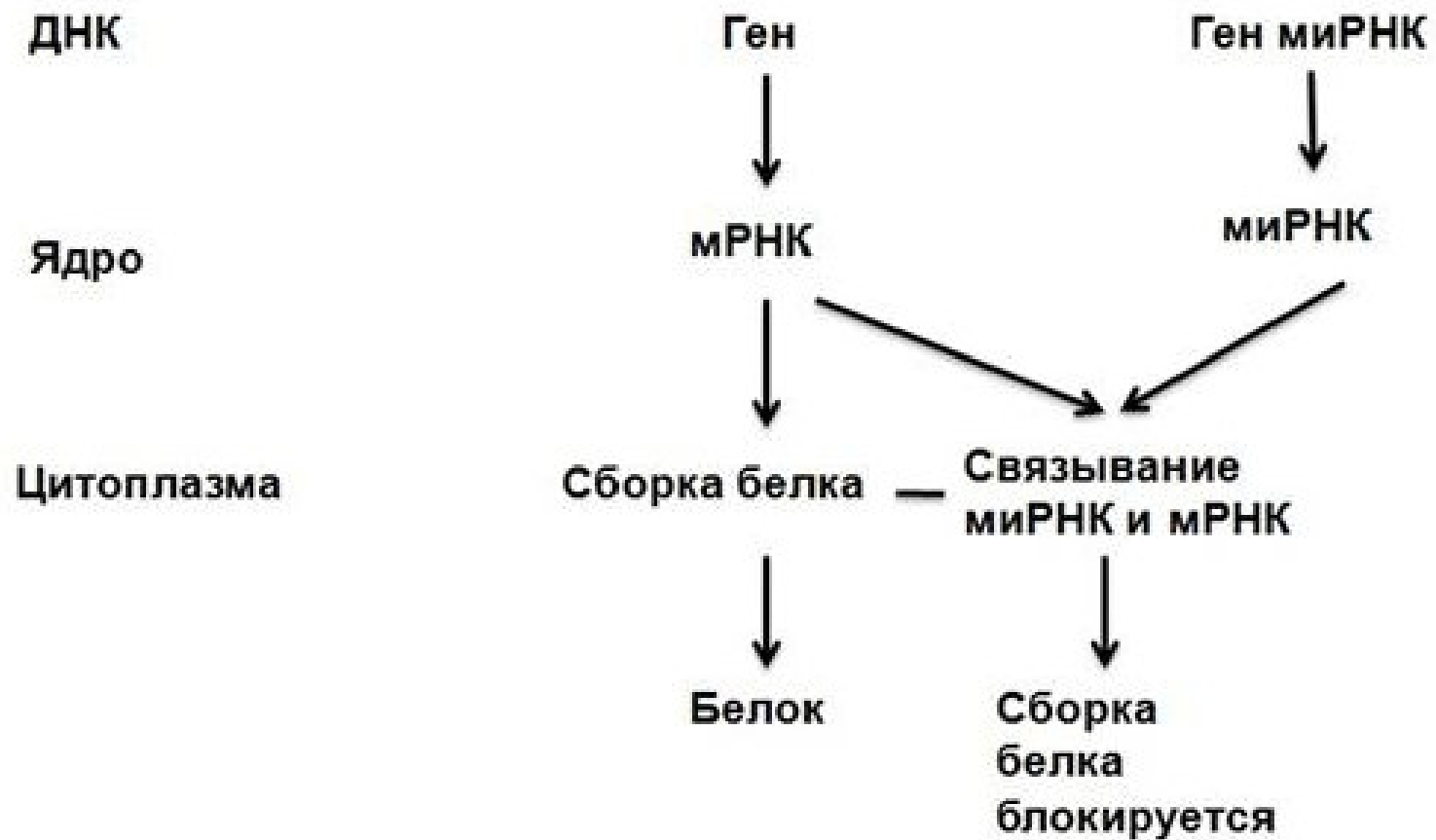
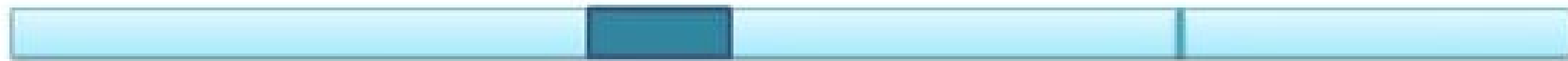
<b>Гаплогруппа</b>	<b>Пониженная вероятность</b>
<b>J, Uk</b>	<b>болезни Паркинсона</b>
<b>U, T</b>	<b>болезни Альцгеймера</b>
<b>T</b>	<b>рака молочной железы</b>
<b>H</b>	<b>возрастной дегенерации сетчатки</b>
<b>H</b>	<b>сепсиса</b>
<b>N9a</b>	<b>диабета, метаболического синдрома и инфаркта миокарда у азиатов</b>

# РНКОМ

Известно более двух тысяч микроРНК человека (miRBase), каждая из которых может регулировать работу сотен генов-мишеней.

**Микро-РНК (miRNA) – это класс малых РНК, которые имеют длину около 22 нуклеотидов.** Эти РНК играют важную роль в регуляции трансляции и деградациии мРНК. Регуляция осуществляется путем комплементарного связывания микро-РНК с мишенями – частично комплементарными сайтами в нетранслируемых участках мРНК. Как и все виды РНК, микро-РНК кодируются генами.

ГЕНОМ человека содержит ~ 25 тыс генов и 1600 генов миРНК



## Cancer

Leukemia (CLL),  
lung cancer (NSCLC),  
colorectal cancer,  
papillary thyroid  
carcinoma and  
breast cancer

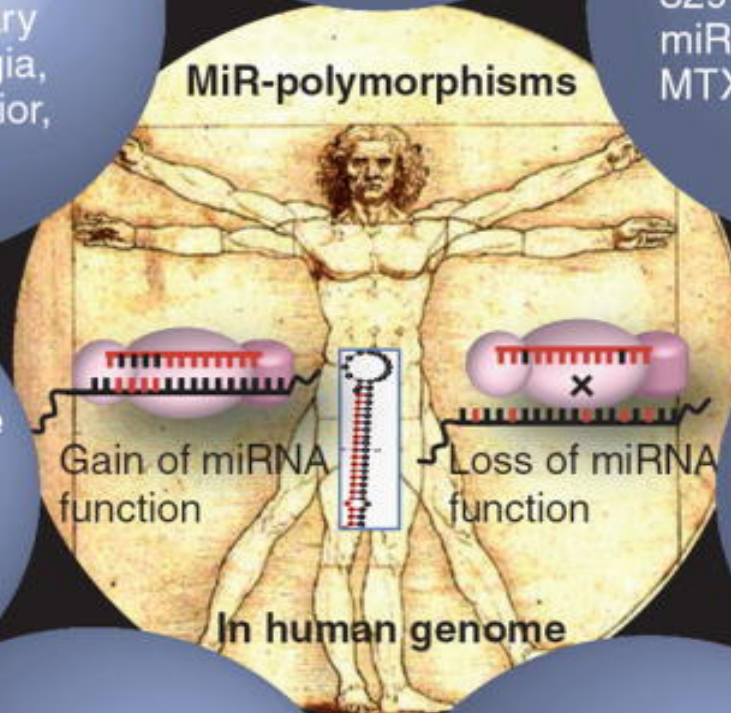
## Neurological disorders

Tourette syndrome,  
ADHD, hereditary  
spastic paraplegia,  
agressive behavior,  
Parkinson's  
disease

## Drug resistance

829C>T in DHFR genes  
miR-24  
MTX resistance

## MiR-polymorphisms



## Hypertension and cardiovascular disease

An 1166A>C *AGTR1*  
gene miR-155

## Muscular hypertrophy & gastric mucosal atrophy

## Diarrhea, irritable bowel syndrome (IBS-D)

## Type 2 diabetes

ACAA- insertion/  
deletion

# Возможности микроРНК в диагностике опухолей

Дифференцировать  
доброкачественные опухоли  
от злокачественных  
новообразований

Контролировать эффект  
терапевтического воздействия  
(лучевая и химиотерапия)

Выявлять различные  
патоморфологические типы  
опухолей

Разработать алгоритмы  
ранней диагностики  
онкологических заболеваний

## ПРИМЕНЕНИЕ

Ранняя диагностика

Определение гистотипа  
опухоли, стадии развития,  
потенциала к  
метастазированию

Прогностическое значение  
выживаемости

Потенциальная терапия



# МИКРОБИОЧИПЫ



# **ОБЛАСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МИКРОБИОЧИПОВ**

**ВЫЯВЛЕНИЕ ИНФЕКЦИОННЫХ АГЕНТОВ И ИХ  
АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ**

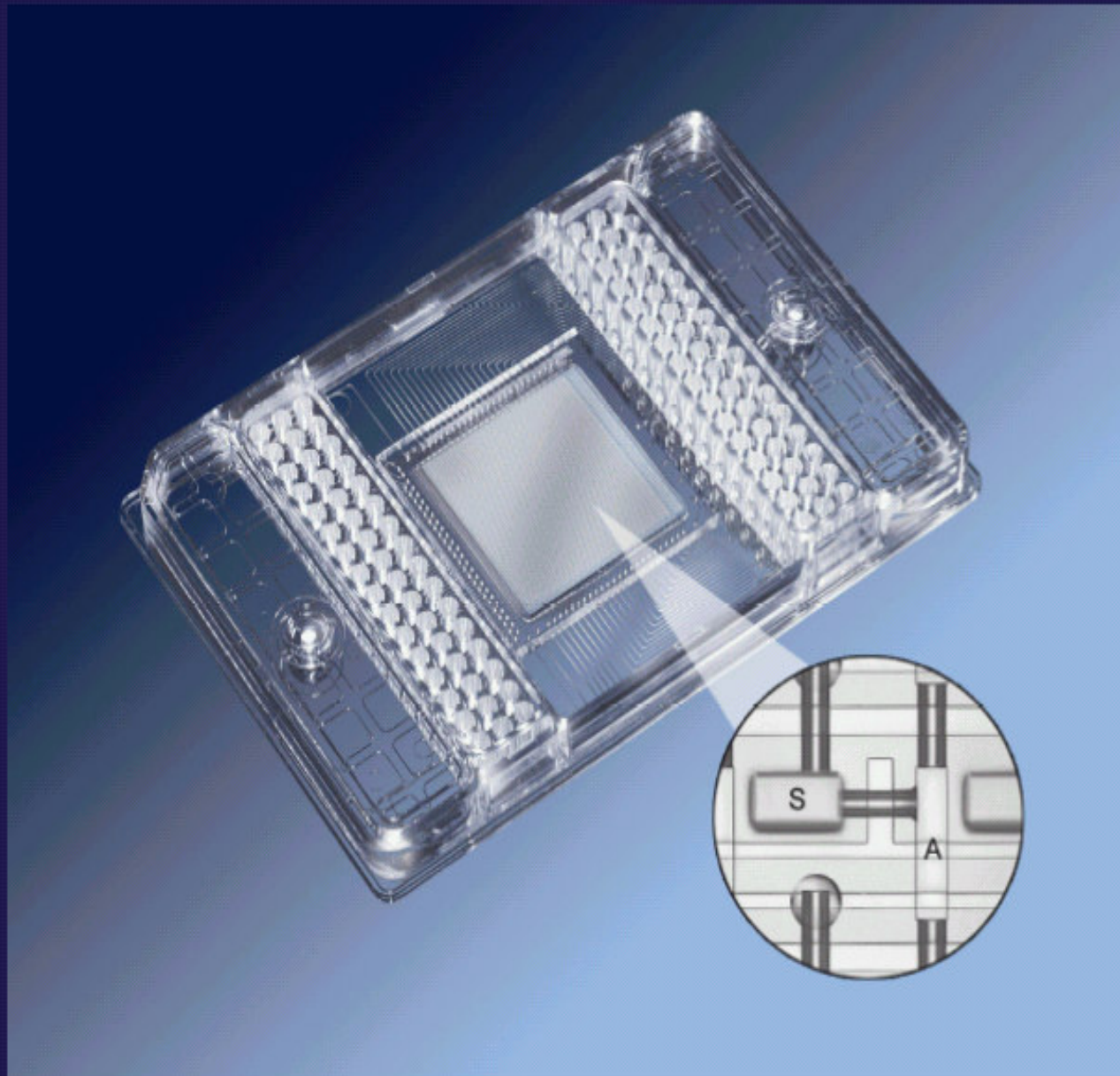
**ПОЛИМОРФИЗМ ПО ЕДИНИЧНЫМ НУКЛЕОТИДАМ  
(ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ, ССЗ И ДР.)**

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ, ПРОФИЛЯ  
микроРНК**

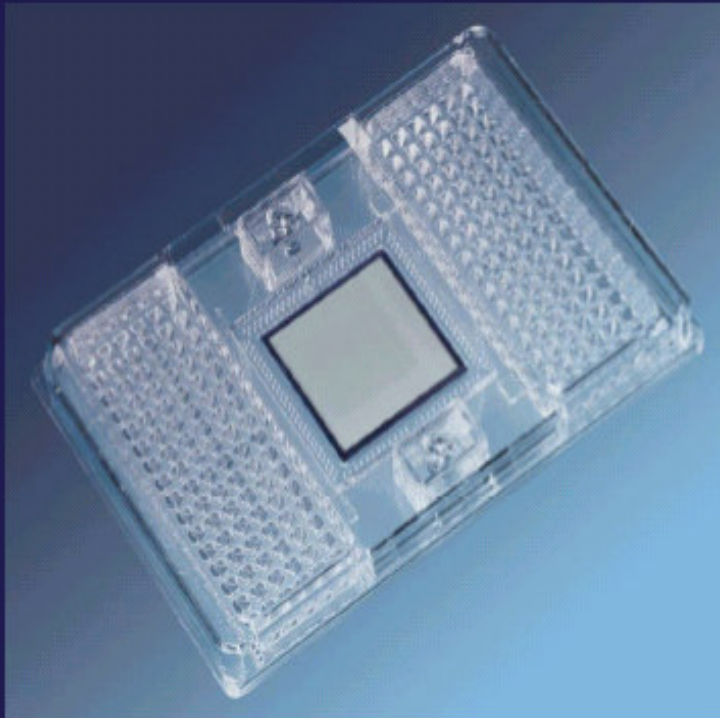
**ИЗУЧЕНИЕ ВОСПРИИМЧИВОСТИ К ЛС**

# **Биочипы на основе микрофлюидомных технологий**

# The Dynamic Array™ Architecture



96.96



9,216 data points

48.48



2,304 data points

# Digital Array Image

Sample

---

Negative control

---

Positive control

# ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ

В настоящее время в ПМ можно выделить несколько направлений ГТ: преимплантационное, пренатальное, неонатальное, педиатрическое и терапевтическое для взрослого населения. Обычно ГТ применяют в случаях наличия клинических симптомов или родственников, страдающих генетическим заболеванием. Технологически ГТ осуществляется двумя методами, во-первых, таргетной диагностикой при наличии конкретных генетических полиморфизмов, и, во-вторых, полногеномного секвенирования. В первом случае исследуют конкретные генетические полиморфизмы: ОНП, CNV, вставки, делеции, дупликации и т.д. целевых генов или хромосомного региона. Полногеномные исследования применяют при заболеваниях с не совсем четкой клинической картиной, МФЗ, а также при проведении скрининговых исследований для выявления редких и не очевидных фенотипов



# ГЕНЕТИЧЕСКОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ



# СЕКВЕНИРОВАНИЕ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ NEXT-GENERATION SEQUENCING (NGS)

**В 2005 ГОДУ ВОЗНИКЛИ ПЕРВЫЕ ПЛАТФОРМЫ ДЛЯ ПАРАЛЛЕЛЬНОГО ДНК СЕКВЕНИРОВАНИЯ, ОТКРЫВ ЭРУ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ**

**В НАСТОЯЩЕЕ ВРЕМЯ НА РЫНКЕ ЛИДИРУЕТ КОМПАНИЯ ILLUMINA, КОТОРАЯ ЗА ДВА-ТРИ ГОДА СОБИРАЕТСЯ ДОВЕСТИ СТОИМОСТЬ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ОДНОГО ГЕНОМА С 30X ПОКРЫТИЕМ (КРАТНОСТЬ ПРОЧТЕНИЯ) ДО СУММЫ МЕНЬШЕ 1000 ДОЛЛАРОВ США.**

**ТАРГЕТНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ – ОГРАНИЧЕННОЕ ИНТЕРЕСУЮЩИМИ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ УЧАСТКАМИ ГЕНОМА, КОТОРЫЕ МОЖНО ПРОЧИТАТЬ С БОЛЕЕ ВЫСОКИМ ПОКРЫТИЕМ.**

# ПОЛНОГЕНОМНЫЙ И ЭКЗОМНЫЙ СИКВЕНС

Для проведения **полногеномного сиквенса** генома человека необходимы 3-4 дня начиная с пробоподготовки, 303-403 кратного прочтения с размерами фрагментов 250 п.н.

**Экзом** составляет 1,5% генома при более чем 1003 кратном прочтении.

( Topol E.J. Individualized medicine from prewomb to tomb.//Cell. – 2014. – 27.)

Сравнение проводится с референсным геномом по ОНП, делеции-инсерции, CNV и другим полиморфизмам.

( Frazer K.A. et al. Human genetic variation and its contribution to complex traits.//Nat. Rev. Genet. – 2009. – 10. – P. 241-251.

## **СЕКВЕНИРОВАНИЕ 2014 ГОД**

**К 2011-2014 гг. сложилась более ровная ситуация и целью является достижение цены секвенирования полного генома за 1000 долларов США. Фирма Life Technology представила в 2012 г. секвенатор Ion Proton, который должен был к концу года выйти на указанный уровень стоимости. Однако в настоящее время стоимость при анализе значительного количества образцов колеблется между 5000 и 4000 долларов США.**

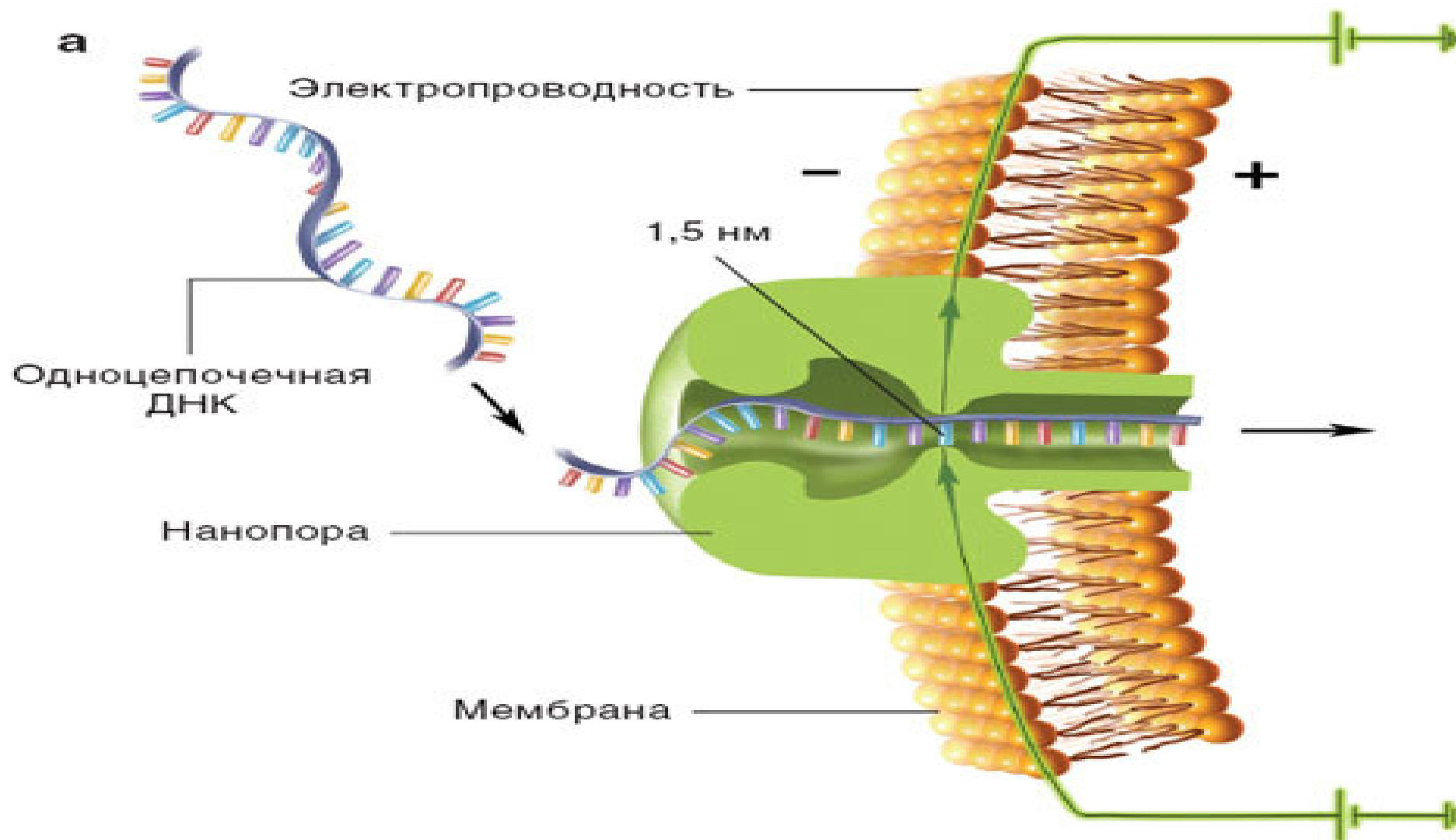
**В 2012-2014 гг. в США появились первые рутинные диагностические методы, основанные на технологиях высокопроизводительного секвенирования, а секвенатор MiSeqDx получил одобрение FDA по применению в медицинской практике.**



**Генеральный директор компании Illumina, Джей Флэтли, заявил, что полное секвенирование ДНК для каждого новорожденного будет технически возможным и доступным менее чем за пять лет, что обещает революцию в здравоохранении и к 2019 году оно будет обычным делом. В конце 2013 г. о готовности к этому здравоохранения Великобритании объявил министр здравоохранения и запущен проект, целью которого является секвенирование 100 000 полных геномов к 2017 году.**



# СИКВЕНС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОПОР



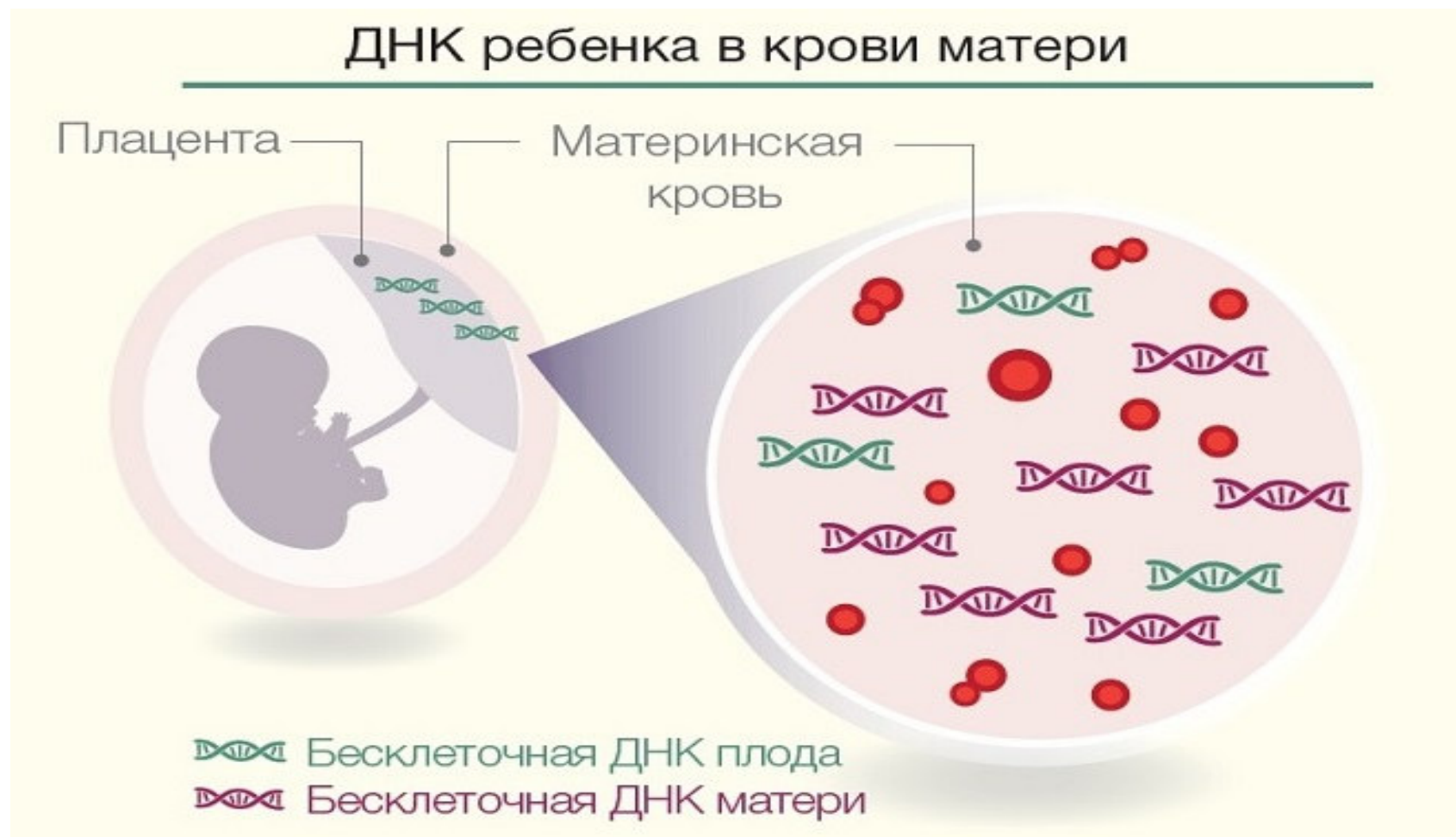
**ТЕХНОЛОГИИ АНАЛИЗА  
СВОБОДНОЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ  
ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК**

**ПРЕНАТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ  
АНАЛИЗ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК ПРИ  
РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ**

## Использование в ГТ циркулирующей в кровотоке матери внеклеточной ДНК плода (cell-free fetal DNA, cffDNA)

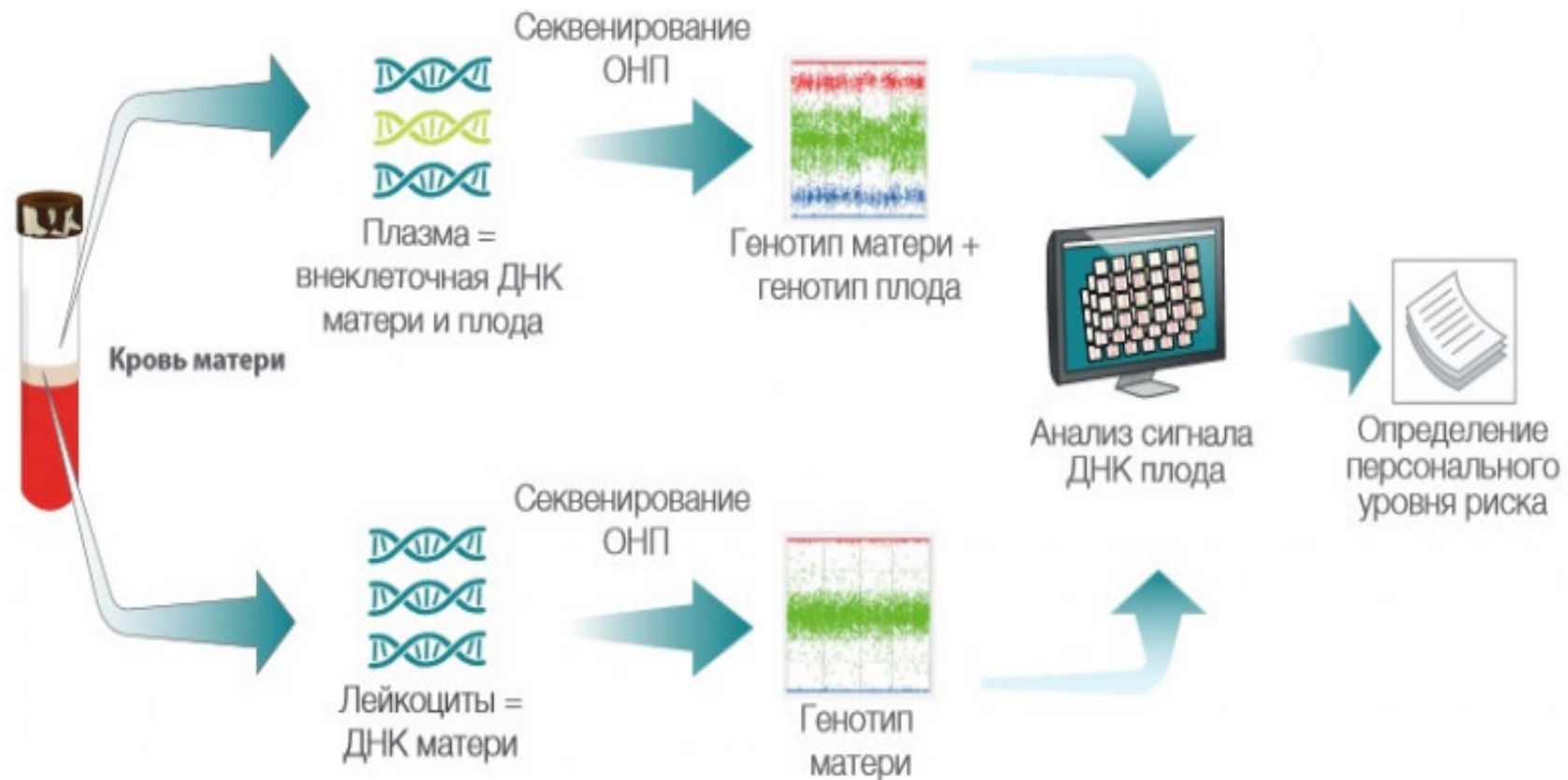
Весьма перспективной технологией пренатального ГТ является использование циркулирующей в кровотоке матери внеклеточной ДНК плода, начиная уже с пятой недели беременности. По числу прочтений, которые относятся к исследуемой хромосоме относительно референсной, можно определить случаи анеуплодии, выявить пол будущего ребенка, хромосомные перестройки. Указанный метод в 2012 г. одобрен как дополнение к существующим протоколам в США, но назначается либо при высоком риске наследственных заболеваний, или по желанию. Если проводится высокопроизводительное секвенирование всей внеклеточной ДНК и матери и плода, то это дает возможность диагностировать любое наследственное заболевание.

## НАЧИНАЯ С 5 НЕДЕЛИ БЕРЕМЕННОСТИ ПРОВОДИТСЯ ЗАБОР 18 МЛ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ





**Количественный, когда просто сравнивают количество исследуемых хромосом (13, 18, 21 и половых) относительно шестой и определяют вероятность наличия синдромов Дауна, Эдвардса, Патау, Клайнфельтера и Тернера.**



## **СЛОЖНЫЙ ГЕНОМНЫЙ ЛАНДШАФТ ОПУХОЛИ**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ NGS ПОКАЗАЛО ЧТО ОПУХОЛЬ ПРЕДСТАВЛЯЕТ СОБОЙ СОВОКУПНОСТЬ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ПРОФИЛЯМИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ.**

**МОДЕЛЬ «ВЕТВЯЩЕЙСЯ ЭВОЛЮЦИИ»: ОПУХОЛЬ ИНИЦИИРОВАНА КЛЕТКАМИ, НЕСУЩИМИ ПЕРВИЧНУЮ МУТАЦИЮ, ЧЕРЕЗ НЕКОТОРОЕ ВРЕМЯ ДАЕТ НАЧАЛО ЦЕЛОМУ РЯДУ КЛОНАЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ (ЛОМАЕТСЯ СИСТЕМА ЗАЩИТЫ ДНК)**

**ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК ПОЗВОЛЯЮТ ВЫЯВЛЯТЬ РАЗНООБРАЗИЕ ИХ ГЕНОМНЫХ НАРУШЕНИЙ И ИЗМЕНЕНИЙ ТРАНСКРИПТОМОВ.**



# ГТ онкологических заболеваний

По оценкам для злокачественной трансформации клетки в зависимости от типа рака необходимо от 3 до 12 мутаций. Некоторые мутации (TP53, KRAS и ряд других) выявляются в ряде опухолей, а некоторые тканеспецифичны (RB1). Технология высокопроизводительного секвенирования позволяет проанализировать все мутации генома опухолевой клетки в одном секвенировании экзона. Хотя опухоли часто генетически гетерогенны благодаря многократному прочтению генома даже редкие варианты могут быть идентифицированы.

Отметим некоторые особенности и ограничения при анализе раковых геномов: ограниченное количество ДНК в биоптате, некротизация опухолей и примеси нормальных клеток, различные клоны опухоли, а также необходимость одновременного секвенирования генома пациента, опухоли и референсного.

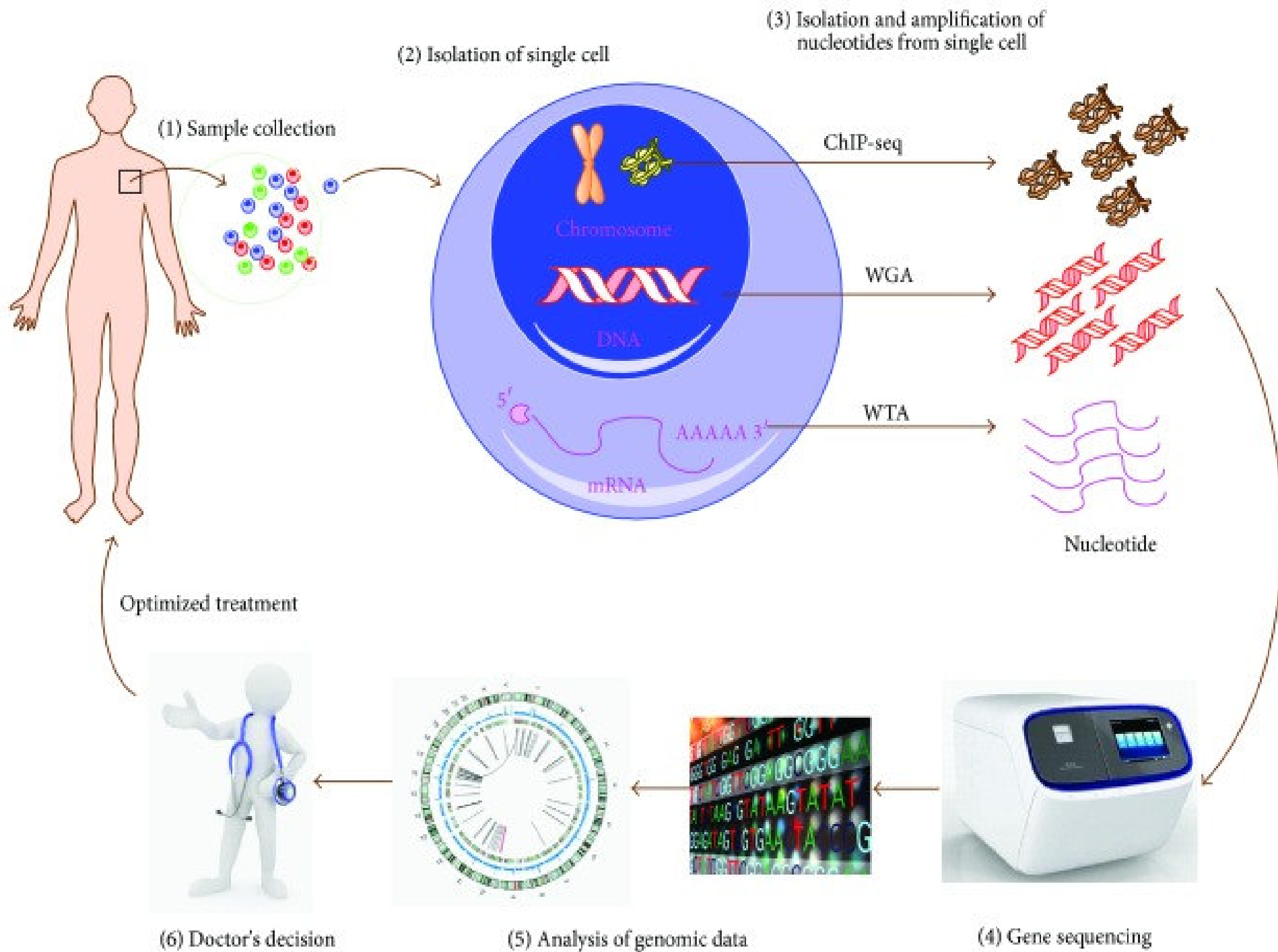
# Сиквенс одной клетки

**ВОЗМОЖНОСТЬ СИКВЕНСА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КЛЕТОК ОТКРЫВАЕТ НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ.**

( Battlich N. et al. Image-based transcriptomics in thousands of single human cells at single-molecule resolution.// Nat. Methods. – 2013. – 10. – P. 1127-1133.

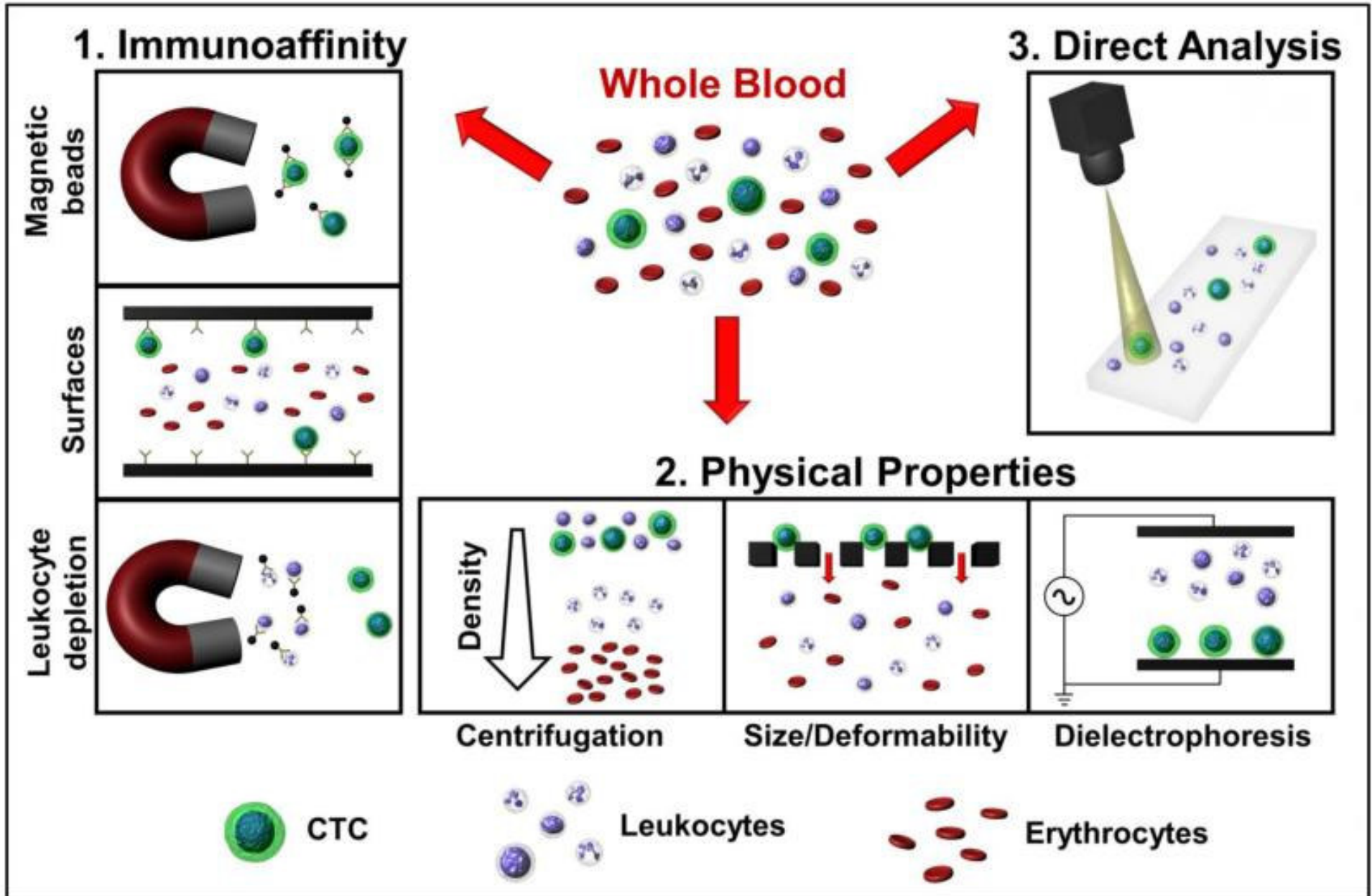
**ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ДНК В ОПУХОЛЕВЫХ ТКАНЯХ ПО СРАВНЕНИЮ С НОРМАЛЬНОЙ, ОТ ПАЦИЕНТА К ПАЦИЕНТУ. DE NOVO МУТАЦИИ, НАБЛЮДАЕМЫЕ В СПЕРМЕ С ВОЗРАСТОМ, АССОЦИИРУЮТСЯ С АУТИЗМОМ, ШИЗОФРЕНИЕЙ, И УМСТВЕННОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ.**

( Boycott K.M. et al Rare-disease genetics in he era of next-generation sequencing: discovery to translation.// Nat. Rev. Genet. – 2013. – 14. – P. 681-691.)



# **ЖИДКОСТНАЯ БИОПСИЯ**

**ВЫЯВЛЕНИЕ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ  
ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК (ЦОК,СТС)**



# СТС - МИКРОБИОЧИП

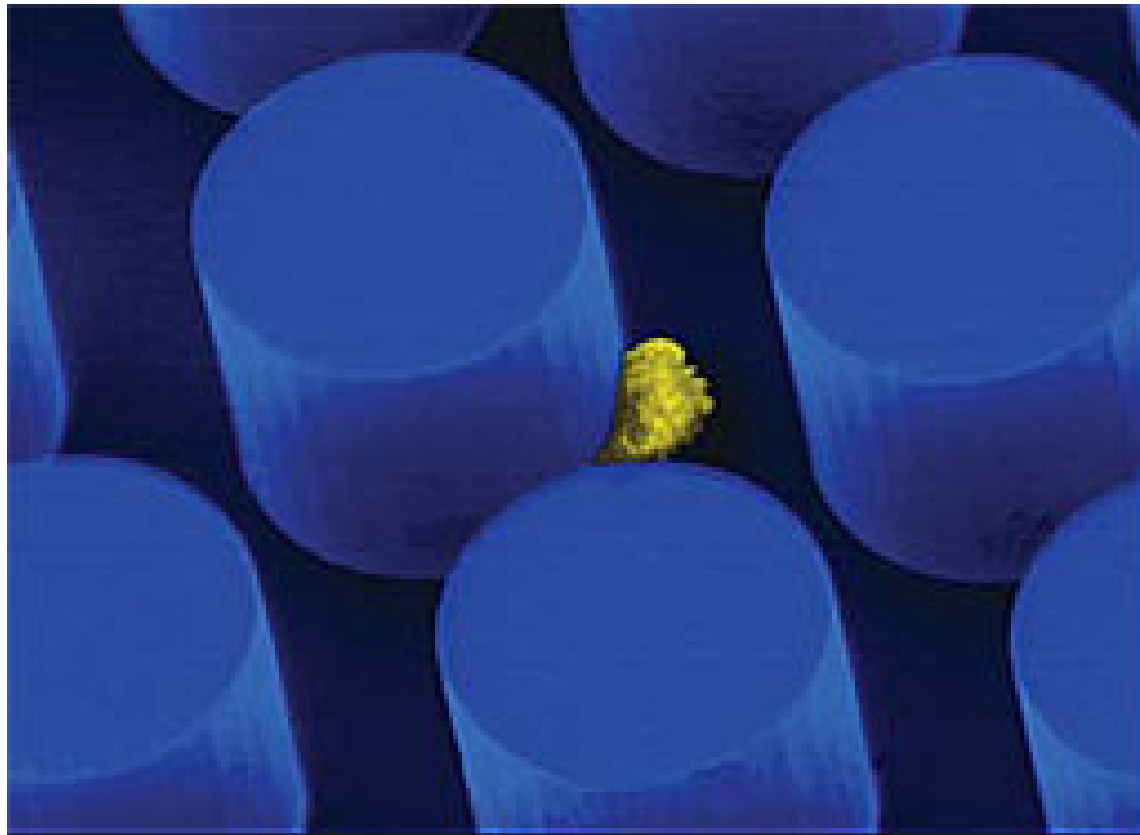
СТС-чип состоит из кремниевого чипа с присоединенными к нему колонками, камеры, куда помещают чип и пневматического насоса.

Колонки покрыты антителами к адгезивным молекулам эпителиальных клеток (EрСАМ, epithelial cell adhesion molecule) играют роль миниатюрных пробирок, в которых смешиваются клетки и химические вещества. СТС-чип содержит **78 тыс. микроколонок**, выхватывающих раковые клетки из смеси нормальных компонентов крови. В отличие от обычных клеток почти все клетки карцином несут на поверхности EрСАМ.

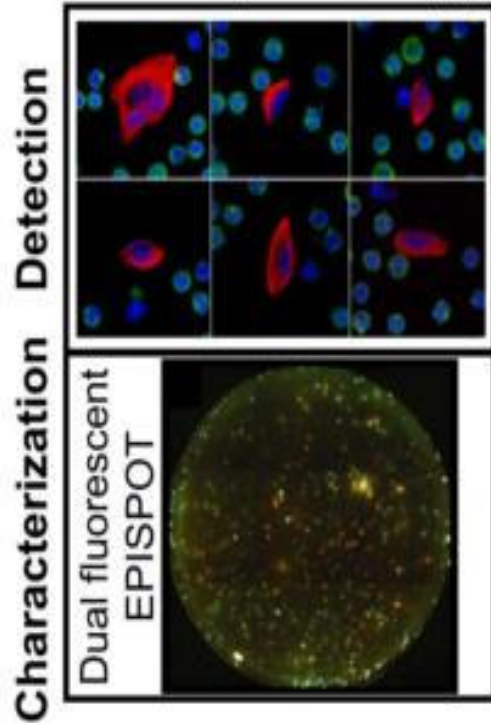
СТС-чип обнаруживает одну ЦОК крови даже среди миллиарда нормальных, в 100 раз превосходя по чувствительности наиболее распространенные методы идентификации аномальных клеток, требующие инкубации больших объемов крови с покрытыми антителами шариками.



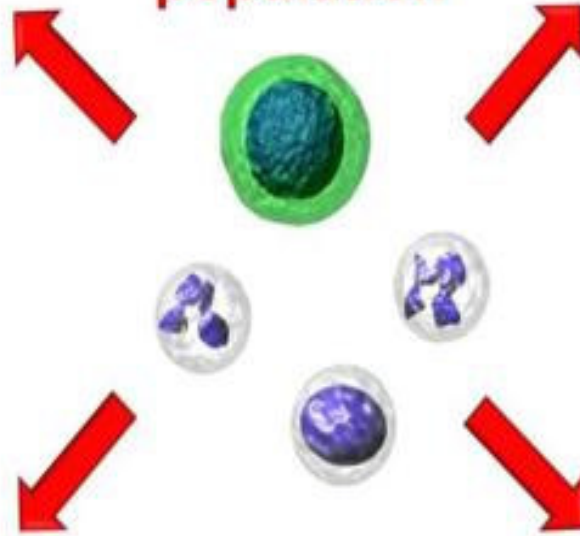
**Раковая клетка легких "прилипла" к микроколонке  
*СТС*-чипа, которая покрыта антителами к одному из  
поверхностных белков клетки.  
Размеры каждой колонки - 100 x 100 мкм**



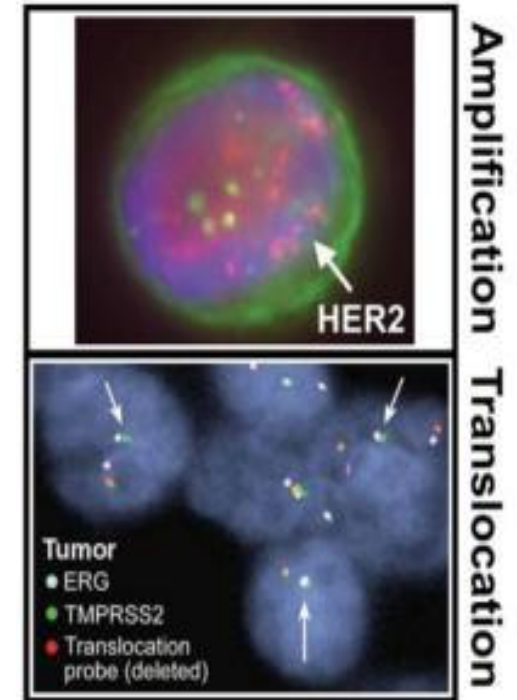
# 1. Immunophenotyping



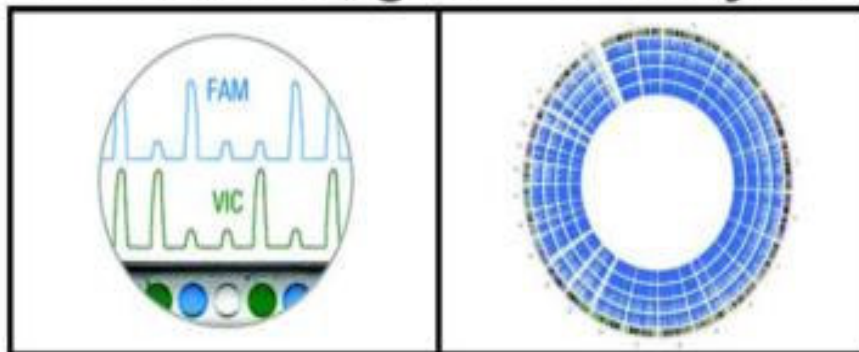
Enriched CTC population



# 2. FISH



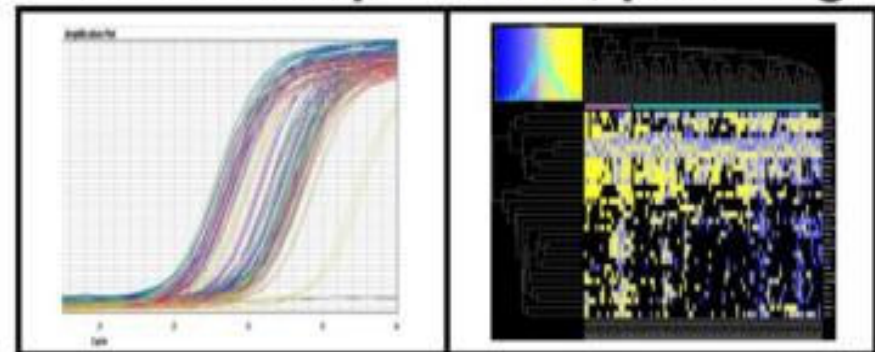
# 3. Mutation, genome analysis



Targeted PCR

DNA sequencing

# 4. Gene expression, profiling



RT-PCR

Expression profiling

**БЛАГОДАРЮ ЗА ВНИМАНИЕ!**

