

Шумина: «За год наш бизнес в России удвоился»

[Надежда Маркина](#)

Репортаж с прошедшего недавно симпозиума по применению секвенированию нового поколения в медицине и науке [опубликованный на информационно-аналитическом портале PCR.ru](#).

Что можно сегодня сделать методами секвенирования нового поколения в медицине и в науке? Этот вопрос российские и зарубежные специалисты обсуждали на недавнем симпозиуме по полногеномному секвенированию «Genetico. NGS».

Полногеномное секвенирование все еще дорого для медицины. Альтернативы

Основные области применения методов NGS перечислил основатель и экс-директор компании «Институт стволовых клеток человека» **Артур Исаев**: это научные исследования, медицина и криминалистика. В медицине NGS пока еще не перешли в ранг рутинных методов. Во-первых, из-за стоимости: «Хотя уже много лет мы слышим, что стоимость секвенирования генома человека приближается к \$1000, для практического здравоохранения эти методы все еще остаются дорогими». Во-вторых, эти методы требуют интеллектуальных затрат — в лаборатории необходимо иметь биоинформатиков. В практической медицине у NGS есть альтернатива — технология «чипов», которые обеспечивают не прочтение всей последовательности ДНК, а анализ изменчивых участков, в которых возникают мутации. Она дешевле, поэтому зачастую у медицинского центра выбор падает на нее.

Такой выбор несколько лет назад сделала и компания Genetico, разработавшая ДНК-чип «Этноген» на выявление 65 моногенных наследственных заболеваний и 5 мультигенных заболеваний, рассказывает Исаев. Чип хорошо себя показал для первичного скрининга, но специалисты не вполне были этим удовлетворены и постепенно двигались к созданию лаборатории NGS. Преимущества NGS — универсальность, этими методами можно решить любую задачу. В Genetico они, в частности, используются для преимплантационной генетической диагностики (ПГД). В случае риска наследственной патологии у будущего ребенка ПГД применяют перед процедурой ЭКО, чтобы выбрать для имплантации заведомо здоровые эмбрионы (на стадии 4–10 клеток). Другое применение NGS — пренатальная неинвазивная диагностика возможных патологий у будущего ребенка по его ДНК в крови матери. Помимо пренатальной диагностики, перспективные направления для методов NGS в медицине — скрининг наследственных заболеваний, генетический анализ раковой опухоли и подбор таргетной терапии.

Однако не все специалисты поддержали мнение Артура Исаева, его выступление вызвало критику со стороны некоторых практических врачей. Суть критики: сегодня секвенирование генома — в большинстве случаев дорогая и неоправданная навязанная услуга. Она не нужна, если пациент не относится к группе риска. В частности, так считает д.б.н., проф. Александр Поляков, зав. лабораторией ДНК-диагностики Медико-генетического научного центра. Другая претензия в том, что NGS не дает точного диагноза. Отвечая, Артур Исаев уточнил, что на сегодня NGS — это хороший скрининговый метод, но для пациентов в группе риска его недостаточно, им нужна инвазивная диагностика.

Стадии применения NGS в клинике: от отдельных генов к полному геному

Доктор **Флориан Грэдлер** — специалист компании Illumina (ведущей в области NGS) в Германии — рассказал о перспективах полногеномного и полноэкзомного секвенирования. Его аргументы в пользу этих высокотехнологичных методов опирались на пример редких (орфанных) заболеваний. Постановка диагноза больным, страдающим таким заболеванием, традиционными методами занимает 5—7 лет. Генетическое тестирование радикально ускоряет процесс. У него есть разные ступени. Можно анализировать отдельные гены — это быстрее и дешевле, но при этом есть риск не найти нужную мутацию. Следующая ступень — клиническое секвенирование экзона (при этом прочитывают все гены, про которые известна их связь с болезнями). Далее идет секвенирование всего экзона (дороже, но таким путем можно «поймать» мутацию, для которой связь с болезнью ранее не была известна). Наконец, секвенирование полного генома — самый дорогой путь, однако и самый информативный, так как при этом прочитываются не только гены, но и регуляторные участки генома, а в них тоже могут быть ключевые мутации.

Чем подробнее — тем дороже, но тем больше информации. Поэтому постепенно медицина движется от анализа отдельных генов к анализу всего генома. И Illumina — активный игрок на этом поле.

Специально для читателей PCR.ru доктор Флориан Грэдлер ответил на несколько вопросов

Доктор Грэдлер, каковы планы Illumina на российском рынке? Каким вы видите будущее — ожидаете ли рост рынка, стабильность или спад?

Мы определенно ожидаем рост рынка. За последний год наш бизнес в России удвоился. Сейчас Illumina занимает очень сильные позиции на российском исследовательском рынке. За 7–8 лет мы поставили 120 систем для NGS секвенирования в российские институты, не только в Москве, но также в Санкт-Петербурге, в Казани, Екатеринбурге, Новосибирске, Владивостоке. Сейчас мы презентовали наши приборы во многих городах России и в будущем ожидаем расширить поставки. Так что я ожидаю, что рынок нашей продукции будет только расти.

Как можно оценить объем продаж в Россию по сравнению с другими странами — он большой или не очень?

Это зависит от того, с какими странами сравнивать. Поскольку Illumina — американская компания, то, конечно, в США продажи намного больше — все основные университеты имеют несколько наших систем. Что касается Европы, то тут можно сравнивать, например, в Германии мы сейчас продаем в пять раз больше систем, чем в России. Но Россия — большая страна, и я ожидаю, что у российского рынка большой потенциал для роста. У вас образованное население и очень много ученых, и я думаю, что они нуждаются в большем количестве технологической инфраструктуры для своих исследовательских лабораторий.

Кто преобладает среди ваших клиентов в России — научные организации или медицинские?

На сегодня научные организации преобладают. Но среди наших клиентов немало таких, которые занимают промежуточное положение между наукой и медициной. Они ведут исследования, но на клиническом материале реальных пациентов. И мы сейчас активно распространяемся на медицинский рынок. Он несколько отличается от научного, в нем нужны другие подходы. Но мы уже сделали большой шаг в него. У наших систем много областей применения в медицине: пренатальное тестирование, онкология, иммунология, криминалистика.

Каково соотношение государственных и частных медицинских учреждений среди ваших клиентов?

Я не знаю точных цифр, думаю, что пока большинство государственных, но сейчас быстро растет доля частных компаний.

А какие ваши приборы сейчас наиболее востребованы в науке и в медицине?

Наши приборы довольно многоцелевые, одну и ту же модель можно использовать и в науке, и в медицине. С одной стороны, мы видим, что лидеры на рынке — это мощные инструменты, предназначенные для национальных геномных инициатив. Сегодня такие есть, например, в Англии, где в рамках национальной геномной инициативы секвенировано более 100 тысяч геномов, есть несколько проектов в Германии, в США, во Франции, в Израиле этот проект обсуждается. Насколько я знаю, в России тоже есть национальный геномный проект. Мощные системы типа NovaSeq идеально подходят для таких проектов, а также для других задач, требующих исследований большого количества образцов. С другой стороны, мы видим, что все более популярны небольшие приборы, удобные для клиник. Для практических целей они выбирают настольные (benchmark) системы, которые можно поставить в обычной лаборатории, но которые полностью автоматизированы и включают софт для анализа данных. Я думаю, порядка 100 таких настольных систем уже работают в российских лабораториях. Самая популярная среди них — это MiSeq. В медицинские учреждения можно поставлять только те приборы, которые зарегистрированы в Минздраве. MiSeq — зарегистрирован.

Какова доля Москвы и Петербурга среди заказчиков?

Не знаю точную долю, но она высока. Россия — централизованная страна, и это означает, что большая часть ведущих исследовательских институтов сосредоточена в Москве и Санкт-Петербурге. Но я считаю очень позитивной тенденцией, что сейчас многие региональные институты приобретают высокие технологии. Сегодня информатика становится все менее и менее локальной, она использует облачные сервисы, которые обеспечивают обмен данными. И с нашей облачной системой легко организовать совместную обработку данных, распределенную между Москвой, Новосибирском, Владивостоком, и точно так же в любой момент можно использовать возможности всего мира. Сейчас невозможно заниматься молекулярной генетикой в изолированной от мира лаборатории, без глобальной кооперации.

Есть ли у Illumina в России постоянные, а может быть, любимые клиенты?

Трудно сказать. У меня очень позитивный опыт общения со многими институтами в России, со многими интересными людьми, со многими учеными в очень разных областях. Я не могу выделить кого-то одного.

Геномные данные пациентов должны храниться вечно

Какова конкретная роль NGS в постановке диагноза, уточнила в своем выступлении д.м.н., зав. лаб. медицинской генетики РНЦХ им. Петровского **Елена Заклязьминская**. Она перечислила условия, при которых больного стоит направить на секвенирование. Это следует делать, если ему не поставлен диагноз, но есть уверенность в наследственной природе заболевания, либо если диагноз поставлен, но заболевание зависит от многих генов и в его точных механизмах надо разбираться.

Мы еще мало знаем о геноме, подчеркнула Заклязьминская. В геноме человека от 24 до 32 тысяч генов, и функции половины нам неизвестны. Если секвенирование не помогает поставить диагноз, то может быть, именно по этой причине. Но знания постоянно пополняются, и то, что мы сегодня не можем расшифровать, сможем завтра. В связи с этим, она поставила очень важный вопрос — о том, что персональные геномные данные должны храниться. Зачастую в лаборатории их уничтожают, лишая возможности повторного анализа (при том, что пациент заплатил деньги!). Причина проста и банальна: геномные данные занимают много места. «Геномные данные должны храниться вечно, ну, по меньшей мере 50 лет!» — поддержал ее А.В.Поляков.

Своим опытом поделился **Дмитрий Влодавец**, к.м.н., руководитель Детского нервно-мышечного центра НИКИ педиатрии. Он рассказал о применении NGS в современной неврологии, например, для диагностирования миодистрофий — нервно-мышечных заболеваний, которых существует великое множество. Большинство из них связано с мутациями в гене белка дистрофина (DMD), этот ген очень большой, и мутации в нем возникают самые разные. Выявить их можно, исследуя методом ПЦР разные участки гена, но более эффективно — секвенировать ген полностью, чтобы обнаружить все возможные мутации и определить разновидность болезни. Для миодистрофий перспективны не только генетические методы диагностики, но и генная терапия — уже есть такие препараты, но в России они пока не зарегистрированы.

Российские лаборатории: «упорные еноты», «наивные кисы» и «хитрые козы»

Проблему качества секвенирования поднял к.б.н. **Федор Коновалов**, руководитель «Лаборатории клинической биоинформатики». В любом лабораторном исследовании присутствует человеческий фактор, и, к сожалению, вероятность того, что чей-то биологический образец перепутали, не нулевая. По мнению Коновалова, наш российский рынок в области секвенирования — это пока «Дикий Запад», от ошибок не застрахован никто. Он привел свою классификацию клинических лабораторий по их надежности и отношению к собственным ошибкам.

Первый тип лабораторий — «упорный енот». Сотрудники такой лаборатории делают все от них зависящее для получения хороших сиквенсов, ориентируются на мировой уровень. Если совершают ошибки, относятся к ним серьезно и извлекают уроки.

Второй тип — «наивная киса». При совершении ошибки их позиция: «Не судите строго, мы всего лишь учимся» (на деньги клиентов!). Они легко признают ошибки и не придают им значения.

Третий тип — «хитрая коза». Они хорошо понимают, от чего зависят продажи тестов, — как это ни печально, не от качества секвенирования. Поэтому они не заботятся о качестве и экономят на всем, на чем могут. А если их ловят на ошибках — отбалтываются.

Выбор между стоимостью и информативностью: на сегодня оптимально полноэкзомное секвенирование

О выборе типа генетического анализа применительно к медицинской диагностике рассказала к.б.н. **Инна Поволоцкая**, руководитель отдела биоинформатических исследований медицинского центра Genetico. Как выбрать нужное исследование из трех ступеней, различающихся по сложности и по стоимости: секвенирование панели генов — секвенирование экзома — секвенирование генома? Сегодня чаще делают выбор в пользу секвенирования панели генов, заведомо ответственных за то или иное заболевание. Это проще и дешевле. Но список генов ограничен и быстро устаревает. К этой же категории, уточняет Поволоцкая, относится и секвенирование «клинического экзома» — это просто гигантская панель клинически значимых генов. Полноэкзомное секвенирование позволяет найти мутацию во всей белок-кодирующей части генома, но оставляет за бортом некодирующую часть. Наконец, полногеномное секвенирование — самое дорогое, но и самое информативное, так как позволяет выявить мутации не только в генах, но и в их регуляторах. То есть выбор приходится делать по шкале «стоимость — информативность».

Разницу в возможности методов можно выразить в цифрах. В исследовании, о котором рассказала Инна Поволоцкая, было показано, что полноэкзомное секвенирование по сравнению с анализом отдельных генов увеличивает выявляемость патогенных мутаций на 24%, а полногеномное по сравнению с полноэкзомным — еще на 16%. И по балансу цены и эффективности сегодня оптимальным методом служит секвенирование полного экзома, считает специалист.

NGS в науке

Ближе к концу симпозиума медицинская проблематика использования NGS сменилась на научную. В выступлении **Василия Раменского**, к. ф.-м.н., сотрудника лаборатории геномной инженерии МФТИ, прозвучала актуальная проблема, решаемая биоинформатиками. Как предсказать эффект геномных вариантов? Как понять, какое реальное значение будет иметь та или иная найденная в геноме мутация — все эти замены нуклеотидов, делеции или инсерции ДНК? Мутации делятся на три категории — с высокой, средней и низкой функциональностью, в зависимости от того, как сильно они вызывают повреждения гена. Биоинформатики могут сегодня предсказывать эту категорию с неплохой вероятностью.

Интересный пример использования методов NGS для анализа метагеномов привела в своем докладе к.б.н. **Мария Логачева**, сотрудник лаборатории эволюционной геномики НИИ Физико-химической биологии им. Белозерского МГУ. Метагеном — это смесь геномов разных организмов в том или ином сообществе. Необходимость его исследования возникает в самых разных ситуациях, и надо знать, какие методы лучше всего для этого подходят. В эксперименте, о котором рассказала Мария Логачева, ученые исследовали метагеном в смеси разных растений. При этом они сравнивали два метода NGS — Illumina и Ion Torrent (ионное полупроводниковое секвенирование). И два подхода: полногеномный анализ и анализ маркерных участков (для растительных геномов ими служат участки генов рибосомных белков). Цель исследования — в составе метагенома вычленить геномы отдельных растений. Данные, полученные двумя методами, оказались различными, и самое удивительное — из смеси растений исчез находящийся там рис. Начался детективный поиск пропавшего вида, исследователи изменяли разные факторы, и когда изменили условия полимеразной цепной реакции, рис наконец вернулся на место. А ученые поняли, как правильно применять методы NGS для исследования растительных метагеномов.

<http://www.pcr.ru/state/illumina-za-god-nash-biznes-v-rossii-udvoilsya/>