

Сведения о ходе выполнения ПНИ по Соглашению от 17 июня 2014 г. № 14.574.21.0027 по теме «Разработка технологии послеоперационного мониторинга метастатического опухолевого роста путем анализа неклоточной свободно циркулирующей ДНК крови»
Научный руководитель работ д.б.н., проф. В.Н. Попов

В ходе выполнения ПНИ по Соглашению о предоставлении субсидии от 17 июня 2014 г. № 14.574.21.0027 с Минобрнауки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» на этапе № 1 «Выбор направления исследований» в период с 17 июня 2014 г. по 31 декабря 2014 г. выполнялись следующие работы:

- 1.1. Аналитический обзор современной научно-технической, нормативной, методической литературы по технологии послеоперационного мониторинга метастатического опухолевого роста путем анализа неклоточной свободно циркулирующей ДНК крови.
- 1.2. Обоснование и выбор направления исследований.
- 1.3. Проведение патентных исследований
- 1.4. Оптимизация методики выделения сцДНК из крови и опухолевых тканей.
- 1.5. Создание библиотеки образцов ДНК полученных из опухолевой ткани и крови пациентов.
- 1.6. Оптимизация технологии получения проб ДНК из неклоточной фракции крови пациента (свободно циркулирующей ДНК крови).
- 1.7. Разработка лабораторного технологического регламента получения проб ДНК из неклоточной фракции крови пациента.
- 1.8. Получение экспериментальных образцов проб ДНК.

При этом были получены следующие результаты:

Выполнен анализ научно-технической литературы по базам данных Web of Science, Scopus, РИНЦ, а также технической документации, основное внимание уделено анализу литературы за последние 5 лет. Выполнены патентные исследования по ГОСТ 15.011-96. В результате выполнения 1 этапа проекта нами проведена оптимизация методики выделения сцДНК из крови и опухолевых тканей, создана библиотеки образцов ДНК полученных из опухолевой ткани и крови пациентов, разработан лабораторный технологический регламент получения проб ДНК из неклоточной фракции крови пациента. По результатам этапа подготовлены и приняты к публикации одна научная статья в журнале, индексируемом в базах данных Web of Science и Scopus; представлены доклады на конференции, опубликована статья на сайте stf.ru.

Для секвенирования исходного образца (опухоли) использован секвенатор производства фир-мы Life Technologie (США) Ion Torrent PGM и набор праймеров HotSpot Cancer Panel для целевого ресеквенирования кодирующих последовательностей (экзонов) наиболее значимых онкогенов и первичного анализа генетического материала опухоли.

Последовательности ДНК из опухолевого образца почки сравниваются с ДНК из здоровой ткани для установления индивидуального профиля соматических перестроек, характерных только для данного пациента и данной опухоли. Выделение сцДНК является одним из критических этапов данного проекта. Для получения достоверных количественных данных мы оптимизировали существующие подходы выделения сцДНК с целью минимизировать загрязнение сцДНК фракции генетическим материалом из ядерных клеток крови (лейко- и лимфоцитов). Нами произведено сравнение ряда коммерчески доступных наборов для выделения ДНК (как отечественных, так и зарубежных производителей) и установлен наиболее подходящий (обеспечивающий наибольшую концентрацию и целостность сцДНК с минимальным уровнем контаминации клеточной ДНК) – набор компании Qiagen. Нами сформирована когорта первично-оперированных пациентов, страдающих раком различной локализации, у которых будет производится мониторинг концентрации мутантных аллелей в сцДНК крови. Предполагаемая

периодичность анализа – 1 раз в 3 месяца. Данные тестирования будут рассмотрены и проанализированы в сочетании с данными других, более традиционных, методов обследования, а также с учетом проводимых курсов радио- и химиотерапии. Этап № 1 выполнен надлежащим образом, в соответствии с техническим заданием на выполнение ПНИ. Разработанная отчетная документация представлена согласно утверждённым Минобрнауки России «Методическим указаниям по оформлению отчётной документации».

Научные исследования по данной тематике в России и мире находятся на начальной стадии и значительный вклад в ее развитие вносят работы авторов проекта.

Экспериментальный и теоретический уровень ожидаемых результатов сопоставим с мировым, а по ряду позиций будет опережать отечественные и зарубежные разработки в смежных областях.

Комиссия Минобрнауки России признала обязательства по Соглашению на отчетном этапе исполненными надлежащим образом.