

Информация о выполнении проекта по Соглашению с Минобрнауки России о предоставлении субсидии № 14.607.21.0098 от 27.11.2014 за 3-й этап работ

Наименование организации - Получателя субсидии:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН).

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии от 27.11.2014 № 14.607.21.0098 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 №3 выполнены следующие работы:

1. Проведены экспериментальные исследования, направленные на определение генетических профилей циркулирующей ДНК, ассоциированных с чувствительностью и устойчивостью опухолей к ингибиторам тирозин-киназы.
2. Разработан алгоритм анализа и интерпретация данных таргетного секвенирования генетических профилей циркулирующей ДНК.
3. Разработан маркетинговый план для результатов ПНИЭР.
4. Организовано материально-техническое обеспечение работ ПНИЭР.

При этом были получены следующие результаты:

- Проведено таргетное секвенирование ДНК библиотек, полученных из опухолевой ДНК пациентов с диагнозом немелкоклеточный рак легкого на платформе MiSeq (Illumina). Разработанный алгоритм биоинформатического анализа позволил провести детекцию всех клинически значимых мутаций с частотой от 1%, в то время как использование для анализа данных программного обеспечения от производителя прибора (Illumina Somatic Variant Caller v2.1) приводило к ложноположительным результатам.
- Дополнительно к анализу мутационного профиля опухолевых тканей был проведен анализ представленности чтений целевых последовательностей с целью детектирования амплификации генов. В ходе анализа была обнаружена амплификация гена EGFR у двух пациентов, являющаяся как прогностическим, так и предиктивным биомаркером. Проведенный анализ демонстрирует перспективность технологии массового параллельного секвенирования в области определения молекулярного профиля опухоли и возможности замены метода FISH методом NGS в области детектирования амплификаций.
- Проведено таргетное секвенирование циркулирующей ДНК крови пациентов с диагнозом - немелкоклеточный рак легкого с использованием разработанной панели биомаркеров чувствительности к терапии ингибиторами TKI. Получены данные о наличии соматических мутаций, характерных для аденокарциномы (по данным COSMIC и TCGA). Все исследованные образцы содержали не менее двух опухоле-ассоциированных мутаций. При этом минимальная частота аллеля достоверно детектированных вариантов составляет 0,1%. Диагностические характеристики разработанного метода составили специфичность - 100% и чувствительность - 89%.
- С целью увеличения чувствительности разработанного метода был проведен анализ паттерна фрагментации цДНК плазмы крови и описание биологических ассоциаций обнаруженных паттернов фрагментации с локализацией регуляторного хроматина (модификации гистонов по данным ENCODE и др.) и других регуляторных последовательностей. Было показано, что представленность последовательностей циркулирующих ДНК в плазме крови отличается от их представленности в статистически фрагментированной геномной ДНК и коррелирует уровнем экспрессии.

Оценка элементов новизны научных (технологических) решений, применявшихся методик и решений.

Полученные результаты соответствуют мировому уровню исследований и разработок в области биомаркеров диагностического сопровождения таргетной терапии опухолей. На 3-м этапе ра-

бот, в результате таргетного секвенирования ДНК, выделенной из биоптатов и плазмы крови больных раком легкого, была продемонстрирована высокая чувствительность и специфичность теста для детекции чувствительности к терапии ингибиторами ТКИ.

При разработке дизайна биомаркерной панели были реализованы уникальные технические решения, позволяющие учесть биологические особенности циркулирующей ДНК, что позволит значительно повысить чувствительность и селективность детекции биомаркеров. Как известно из анализа информационных источников, в проекте был впервые использован алгоритм анализа паттернов фрагментации циркулирующей ДНК.

Разработан уникальный состав биомаркерных генов и реконструирован релевантный фрагмент сигнального каскада, который ранее не был описан для расширенного профилирования опухолей и определения чувствительности опухоли к таргетной терапии.

Разработанный метод детекции мутаций, связанных с чувствительностью к терапии ингибиторами ТКИ, по техническим характеристикам не уступает коммерчески доступным аналогам (например, TruSeq Amplicon - Cancer Panel (Illumina), AmpliSeq, Cancer Hotspot Panel (Thermo)). Более того, разработанный метод позволяет детектировать более широкий спектр мутаций, связанных с чувствительностью к терапии ингибиторами ТКИ.

Информация о полученных на отчетном этапе охраноспособных РИД:

В ходе выполнения 3-го Этапа проекта получены 2 Результата интеллектуальной деятельности:

- "База данных учета биологических образцов и описания клинико-патологических характеристик пациентов с заболеваниями легкого (БД-РЛ)", Свидетельство о гос. регистрации БД № 2015620538 от 25 марта 2015 г. (РФ)
- "Способ выделения циркулирующих ДНК из плазмы и сыворотки крови". Заявка на Изобретение № 2015152059 от 4 декабря 2015 г. " (РФ).

Полученные результаты полностью соответствуют требованиям Технического задания.