



 АНДРЕЙ ВИНЬКОВ

# О тех, кто умеет читать

# ДНК

Современные роботизированные и компьютерные технологии в биоинформатике запустили в мире новую генетическую революцию. Не отстаёт в этом развитии и Россия. Методы и оборудование для изучения структур и механизмов ДНК успешно разрабатывают и производят на предприятиях Москвы.

Рассказываем, где и как в столице можно изучить свой генетический код.

**Н**емного повторим историю генетической революции, чтобы деятельность биотех-компаний, о которых мы сейчас расскажем, стала понятнее.

Начало эре биоинформатики положило открытие в 1950-х четырёхбуквенного генетического кода. Биологи **Джеймс Уотсон** и **Фрэнсис Крик** обнаружили, что цепочки ДНК существуют в виде парных комплектов специальных молекул — **нуклеотидов**. Особенность этих комплектов в том, что все основания обеих цепочек попарно связаны друг с другом и при этом подчинены строгой закономерности: **аденин** (А) может находиться в паре только с **тимин**ом (Т); а **гуанин** (Г) — с **цитозин**ом (Ц). Когда последовательности этих нуклеотидов в ДНК разных организмов начали сравнивать друг с другом, родилась новая дисциплина. Мощный толчок её развитию дала разработка в конце 1970-х **Фредериком Сенгером** метода **секвенирования (расшифровки)** ДНК. Этому помогло быстрое развитие компьютерных технологий.

Объём данных, обрабатываемых биоинформатиками, поначалу был небольшим. Большие данные появились в XXI веке, когда секвенирование стало полностью автоматизированным, а ещё появились технологии обработки и передачи больших объёмов данных.

Ещё один технологический прорыв случился к 2008 году, когда компания **Illumina** выпустила секвенатор нового поколения и мировому рынку стала доступна **технология секвенирования нового поколения (Next Generation Sequencing, NGS)**. Она позволила одновременно проверять все отличия в геномах людей. Классическая иллюстрация производительности этой технологии такова: реализация проекта «Геном человека», описывающего 3 млрд пар нуклеотидов ДНК стандартными инструментами, заняла более 10 лет и потребовала \$3 млрд из бюджета США, тогда как NGS-секвенатору в 2008 году оказалось под силу выявить всю последовательность генома меньше чем за год уже за \$10 тысяч. Сейчас это исследование подешевело ещё сильнее — его можно выполнить всего за тысячу долларов.



Итак, технология прочтения генома человека работает. Это колоссальный массив информации. Но недостаточно только прочесть все эти пары букв; нужно понять, где и за что каждый фрагмент гена отвечает.

Наш геном — это большая книга, летопись. Известно, что 1,5–2% в нём — кодирующие области, остальное — некодирующие. Но попытки расширить горизонты познания гена продолжают. Где и как это происходит в Москве? Рассказываем.

## До Луны и обратно

Первая компания, куда мы идём с экскурсией, — биомедицинский холдинг «Атлас». Холдинг занимается расшифровкой генов на заказ.

Один из продуктов «Атласа» — ДНК-тест, услуга так и называется, «Генетический тест». Тест позволяет исследовать у человека около полумиллиона отличительных точек ДНК и получить информацию о здоровье, особенностях организма,

интересных фактах внешности и так далее. Тест «Атласа» может также дать ответ, насколько на генетическом уровне их пользователи близки к представителям той или иной популяции.

«Атлас» готов также выполнить максимальные исследование вашей ДНК — то самое NGS-секвенирование и полное прочтение вашего генома. Все 6 с лишним миллиардов букв ваших нуклеотидов будут расшифрованы и предоставлены вам. Можно дальше их анализировать и тотально погрузиться в ваш генетический «фолиант».

Как было сказано ранее, код ДНК состоит из четырёх букв. «Все исследования ДНК можно сравнить с работой с текстом, — рассказывает **Ирина Жегулина**, ведущий врач-генетик холдинга «Атлас». — Все мутации или отклонения можно графически отобразить на примере работы с текстом.

Это коробочные решения > холдинга «Атлас» — генетические тесты



## ТЕХНОЛОГИИ

Бывает, что несколько букв в ДНК заменились и вместо "думай" стало "делай" — и это сильно поменяло значение слова, а если будет написано "думой", понятно, что это уже скорее опечатка и это незначительно будет влиять потом на белок. Ген — это же инструкция по сборке белка. И если эта инструкция написана неверным текстом — ген изменён мутациями, то последствия могут быть катастрофическими — привести к заболеваниям».

Из офиса холдинга «Атлас» на Садовом кольце едем в лабораторию посмотреть своими глазами, как всё происходит.

Сама технология секвенирования вашего гена выглядит достаточно мудро, несмотря на то, что саму ДНК получить не так уж и сложно — это можно выполнить даже в домашних условиях.

В лабораторных же условиях это выполняется так: для начала нам нужен генетический материал, **диплоидный набор** клеток человека. Он есть везде, кроме половых клеток (там набор **гаплоидный** — то есть половинный). Диплоидный набор можно извлечь из кусочка вашей кожи — **буккального эпителия**, который устилает нашу щеку изнутри в ротовой полости, — или из слюны или крови. Если делается большой генетический анализ, то генетического материала лучше взять побольше — скажем, слюны нужно минимум 2 мл.

**Как выделяется ДНК?** Сперва используются реактивы-растворители:



◀ Сотрудник лаборатории измеряет концентрацию выделенной ДНК на спектрофотометре

Центрифугирование жидкости в планшетах >



они разрушают оболочку клетки и оболочку ядра клетки. Потом реактивы-вымыватели удаляют лишние остатки клеток. Центрифуга помогает убрать всё лишнее.

Кстати, геном из одной клетки ДНК человека, если его вытянуть в прямую линию, занимает примерно 2 метра. Если взять ДНК всех клеток одного человека, то их длина составит 768 тысяч километров — это как до Луны и обратно. Чистая ДНК похожа на склизкую белую ниточку.

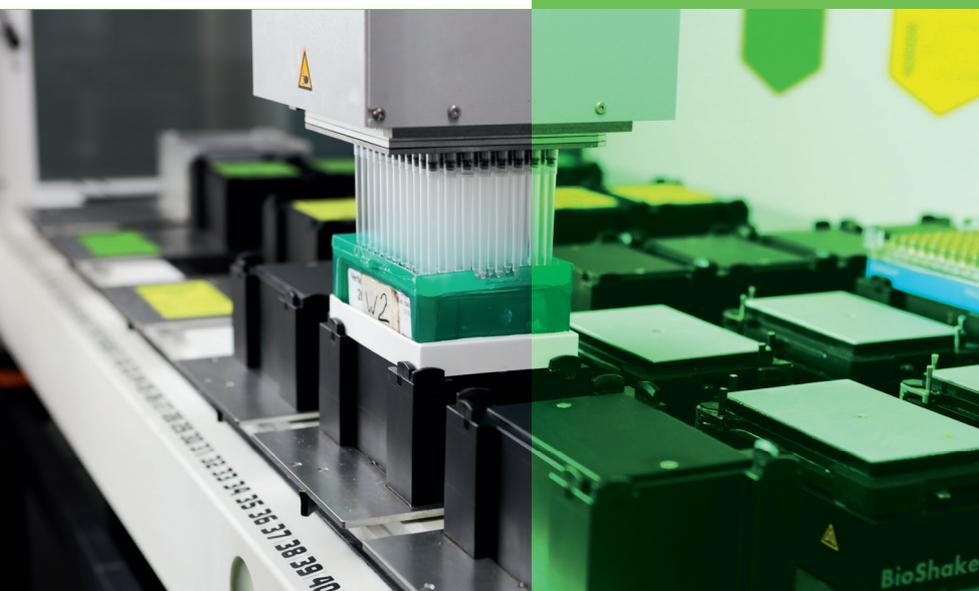
После получения чистой ДНК для большинства процессов секвенирования требуется этап контроля качества. Обычно используется ультрафиолетовая

спектрофотометрия для оценки чистоты и флуориметрические методы для количественного определения нуклеиновых кислот. В настоящее время нет платформ секвенирования, которые секвенируют целые образцы ДНК, поэтому эту двухметровую ДНК с помощью ферментов или ультразвука нарезают на короткие фрагменты. Длинную спагеттину ДНК превращают в вермишель. К каждой вермишелинке присоединяется так называемый адаптер — последовательность нуклеотидов, позволяющая эти короткие фрагменты эффективно цеплять к специальным «бусинам», которые, обрастая вермишелинами ДНК, становятся таким шариком с петельками. Таких кусочков очень много, и есть возможность получить сигналы со всех них и собрать информацию.

По сути, потом каждый отрезок пробуют много-много раз считать. Один такой короткий участок ДНК считывается в среднем по 30 раз.

Считывание происходит с помощью светового сигнала. В раствор с этим «бусинами» добавляются меченые основания-нуклеотиды с флуоресцентными красителями — потом по этому свечению

◀ Процесс раскапывания буферных растворов в реакционные планшеты на автоматизированной станции



можно восстановить, из чего состоят фрагменты ДНК. Добавили нуклеотид Т – высветились все, где есть Т. Добавили нуклеотид А – высветились те места, где есть А. Далее это всё оцифровывается в данные. В итоге получается информационный полупродукт – **фаст-кит**. Это файл «весом» примерно в 40–50 Гб.

С этим файлом начинают работать биоинформатики «Атласа». Это IT-шники в генетике. Запуская алгоритмы, эти ребята ищут зависимости в данных, находят мутации, предсказывают патогенность. По словам Ирины Жегулиной, есть более 30 критериев, по которым можно отслеживать патогенность.

«Атлас» даёт своим клиентам максимально полную информацию для оценки рисков онкологических, **многофакторных заболеваний** (таких, как ишемическая болезнь сердца, диабет 2-го типа и другие), целого ряда аутоиммунных заболеваний, а также многих **орфанных**, или редких, патологий. Эти данные нужны для заботы о здоровье и планирования семьи.

«Допустим, мы видим повышенный риск ишемической болезни сердца, – рассказывает Жегулина, – мы точно видим, что через 10 лет у человека будет очень высокий риск и ему нужно уже сейчас бросить курить, обратить внимание на лишний вес, мы даём рекомендации по питанию».

Генная терапия есть для десятка различных заболеваний. А для примерно 100 препаратов, вроде антидепрессантов или препаратов для лечения онкологии, можно сказать, насколько они эффективны или рискованны в применении для определённой группы людей с одинаковыми генетическими особенностями обмена и транспорта этих веществ в организме. Этим занимается наука **фармакогенетика**.

Холдинг «Атлас» работает в этом плане в кооперации с московской сетью клиник «Медси». С развитием генетических технологий стал возможен индивидуальный подход к диагностике и терапии многих наследственных тяжёлых и неизлечимых заболеваний.



Производство тест-систем для NGS-анализов ▲  
в онкологии

## Быстро и точно. Но ПЦР

В отличие от холдинга «Атлас», технологии тестирования московской компании «ДНК-Технология» работают более точно и не нацелены на тотальную расшифровку всего вашего ДНК. В основе их работы более быстрая, но не менее точная технология генетического анализа – ПЦР-тест. Это аббревиатура стала нам знакома после пандемии коронавируса.

Компания «ДНК-Технология» была создана в 1993 году и объединила опыт ведущих сотрудников Института физики высоких энергий и Института иммунологии. Здесь работает около 500 человек, и тут выпускается всё, что нужно для выполнения молекулярно-генетических исследований

(главным образом, ПЦР-исследований): начиная от собственных научно-технических разработок (у компании более 25 научно-технических патентов) и заканчивая выпуском оборудования, наборов реагентов, программного обеспечения и сопровождения клиентов – клинично-диагностических лабораторий. Всё под ключ!

Метод **полимеразной цепной реакции (ПЦР)** – один из самых быстрых и точных, он основан на выявлении фрагментов ДНК или РНК (нуклеиновых кислот). С его помощью можно добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты в биологическом материале.

▼ Так выглядит рабочее место в ПЦР-лаборатории





Прозрачные штативы нужны ▲  
для расстановки пробирок



Можно работать вручную, а можно использовать автома- ▲  
тизированную станцию, которая сама выделяет ДНК, дози-  
рует все нужные реактивы по пробиркам или планшетам



На заводе «ДНК-Технология» делают ▲  
дозировочные станции «ДТстрим»

С помощью ПЦР можно определить, есть ли в генетическом образце определённый вирус, бактерия, выявить особенности генетики человека, подобрать индивидуальную дозировку лекарства и многое другое. По неофициальной статистике, в любой медицинской лаборатории, выполняющей ПЦР, есть приборы производства «ДНК-Технологии». Компания «ДНК-Технология» поставляет своё оборудование в 56 стран мира!

В компании гордятся, что опережают развитие отечественной медицины лет на десять. На экскурсии по лаборатории в компании нам рассказали, в частности, про тесты для комплексного исследования микробиоты собственной разработки (**микробиотой** называют микроорганизмы, находящиеся в симбиозе с человеком).

Конкурирующие генетические компании, типа холдинга «Атлас», как было написано ранее, проводят исследование той же микробиоты методом секвенирования нового поколения. «Это с одной стороны хорошо, — объясняют в «ДНК-Технологии», — потому что так ничего не упустишь, но секвенирование — это пока ещё дорого и трудоёмко, и в практической медицине массово не применяется. Мы же задачу решаем с помощью другой технологии — ПЦР в реальном времени».

В основе разработок «ДНК-Технологии» — анализ современного опыта и результаты собственных научных исследований. Так создаётся прототип нового теста, который затем используется в работе с большими коллекциями биоматериала. Задача специалистов компании — попытаться понять, что есть норма с точки зрения видового разнообразия микроорганизмов, как выглядят различные отклонения от нормы, как состав микробиоты связан с различными заболеваниями. После проведения научных работ и клинических исследований утверждается финальная компоновка теста, алгоритм трактовки результатов, происходит регистрация новинки и начинается использование в практике. ПЦР-тесты выполняются на современном оборудовании, оснащённом специальными программами обработки результатов. В итоге — быстрый (2 часа), точный (около 100 %) и массовый анализ (в день может быть выполнено более тысячи исследований). При ПЦР не расшифровывают ДНК всех микроорганизмов, а прицельно выявляют клинически значимые маркеры.

Рассказывает Ирина Галкина (директор по маркетингу компании «ДНК-Технология»): «Был такой международный проект "Микробиом человека". В ходе этого проекта как раз расшифровывалась ДНК микроорганизмов, населяющих различные биотопы организма человека. Всё это выполнялось методом секвенирования. Удалось понять, какие микроорганизмы полезны, а какие вызывают различные заболевания».

К сожалению, в этот международный проект не вошёл анализ микробиоты уrogenитального тракта мужчины. Поэтому «ДНК-Технология» на свой страх и риск провела собственные масштабные исследования и создали прототип ПЦР-теста, который доработали, проанализировав тысячи различных образцов биологического материала.

Вирус COVID подстегнул огромный спрос на ПЦР-тесты. Разработчики стали конкурировать друг с другом. Но благодаря этой конкуренции произошёл скачок в технологиях ПЦР-тестирования. Получилось сделать очень быстрые ПЦР-тесты, не требующие выделения ДНК. Все процессы выполнения ПЦР автоматизированы, это улучшает качество исследований и снижает ошибки.

Чтобы провести реакцию ПЦР на оборудовании компании «ДНК-Технология», просто ставим пробирки с биологическим материалом в приборы, которые выделяют ДНК, разносят реакционную смесь и амплифицируют (умножают) выделенную ДНК до такого количества, которое мы сможем измерить. И для этого используются приборы собственного изготовления: «ДТстрим» – выделение ДНК на особых магнитных частицах (наночастицы – особая гордость компании, они их сами производят) – и «ДТпрайм», амплификатор в режиме реального времени.

**Название известного голливудского фильма «Гаттака» (GATTACA) тоже составлено из нуклеотидов, входящих в ДНК: аденин (А), гуанин (G), цитозин (С), тимин (Т).**

## ПРО НАНОЧАСТИЦЫ И БУДУЩЕЕ

Специальные наночастицы собственного производства «ДНК-Технологии» используются как магнитный сорбент для выделения ДНК и РНК из биоматериала. Выделение ДНК вручную – очень длительный процесс, но когда появились наночастицы, его стало возможным автоматизировать и значительно ускорить.

Что такое наночастицы? Это магнитные частицы на основе кобальта, железа или никеля. Производятся они следующим образом: раствор солей металлов определённым методом обрабатывается с помощью нагревания и ультразвука, и из раствора получают чёрные частицы. Под микроскопом они выглядят как сферические шарики размером в несколько нанометров. Визуально же это суспензия чёрного цвета.

«Раньше эти очень дорогие частицы покупали за рубежом, – рассказывает **Ольга Ефанова**, начальница участка наночастиц. – Литр такой жидкости может стоить больше одного миллиона рублей. В разгар коронавирусной пандемии компания «ДНК-Технология» производила магнитные частицы десятками литров».

По словам руководителя Департамента инвестиционной и промышленной политики города Москвы Владислава Овчинского, в столице работает порядка 70 предприятий, занятых производством медицинских инструментов и оборудования. Они выпускают не только умные системы анализа ДНК, но и необходимые для работы медучреждений расходные материалы, мебель для хирургии и стоматологии и многое другое. «В городе также функционируют 84 фармпредприятия, которые выпускают противовирусные, противоопухолевые и противодиабетические препараты. Таким образом, Москва во многом сама обеспечивает горожан необходимой продукцией для профилактики и лечения различных заболеваний», – сообщает Владислав Овчинский.

ДНК или РНК сорбируются или «прилипают» к этим наночастицам, а все остальные компоненты биоматериала остаются в растворе. После этого наночастицы с сорбированными ДНК или РНК можно легко выделить из раствора с помощью магнита, а всё лишнее легко отмыть. После промывки ДНК и РНК десорбируют с наночастиц и исследуют методом ПЦР.

Технология выделения ДНК и РНК из образцов биоматериалов на магнитных частицах позволила автоматизировать процесс пробоподготовки. В результате лаборатории могут исследовать гораздо больше образцов с высокой точностью.

Сейчас развитие направления наночастиц в ДНК-анализе и медицине набирает большие обороты. Такие наночастицы могут использоваться для доставки лекарств в организме человека, в биоинженерии, в диагностике заболеваний, для высокоскоростного прочтения геномов.

Из примерно 500 человек коллектива «ДНК-Технологии» около сотни – разработчики и учёные. По сути, научно-технологическая компания вынуждена быть на острие знаний. Это будет гарантировать конкурентоспособность в генетической индустрии, развивающейся во всём мире семимильными шагами.

В «ДНК-Технологии» признаются, что сейчас у них в приоритете не только производство тестов и приборов, но и создание собственных программных продуктов и сервисов, которые помогают делать этот самый анализ ещё быстрее и эффективнее, а его трактовку – понятнее и проще.

В скором времени, мечтают в «ДНК-Технологии», врач-генетик может стать таким же привычным специалистом в поликлинике, как обычный терапевт.

Не исключено, что в будущем новым направлением в компании может стать персонифицированная медицина, в том числе фармакогенетика – подбор лекарств под конкретного человека. Одним словом, родился – сдал анализы, расшифровал ДНК и сразу получил «инструкцию по жизни». Если нашли поломку в каком-то месте, врач-генетик будет знать, что и как скорректировать. В режиме реального времени наборы на генетику будут выявлять те или иные предпочтения. Многие из таких наборов уже есть в портфеле компании (по кардиологии, онкологии, неонатологии – планированию беременности).

Хотите стать биоинформатиком? Вот вам на заметку, для дальнейшего трудоустройства, две компании. Выглядят чрезвычайно перспективными! 

