

## Перспективы разработки стандартных образцов ДНК для лабораторной диагностики онкологических заболеваний

Вонский М. С., Рунов А. Л., Горячая Т. С., Курчакова Е. В.

ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии имени Д.И. Менделеева»,  
г. Санкт-Петербург, Россия, ORCID 0000-0003-4061-7411, e-mail: m.s.vonsky@vniim.ru

**Аннотация:** Онкологические заболевания являются основной причиной смертности в мире. Возникновение онкопатологий связано с изменениями генетического аппарата злокачественных клеток. Исследования ДНК позволяют выявить генетические предпосылки к развитию рака, диагностировать рак на ранней стадии, определять стратегию и осуществлять мониторинг лечения. Рассмотрены подходы к разработке стандартных образцов ДНК для метрологического обеспечения лабораторной диагностики онкологических заболеваний.

**Ключевые слова:** стандартные образцы, онкодиагностика, лабораторная медицина, ДНК, последовательность нуклеотидов, число копий последовательности

Онкологические заболевания являются ведущей причиной смертности в мире, отвечая за 16 % от всех смертей [1, 2]. По определению Национального института рака США, рак – это группа заболеваний, характеризующихся неконтролируемым ростом и распространением аномальных клеток [3]. Возникновение раков всегда связано с генетическими изменениями, комплексом мутаций, реализуемых на разных уровнях организации генетического аппарата злокачественно трансформированных клеток [4]. Изучение этих изменений, их роли в этиологии и патогенезе опухолей обеспечило применение результатов онкогенетических исследований в целях диагностики, профилактики и лечения злокачественных новообразований [5]. При этом использование методов количественной полимеразной цепной реакции (кПЦР) позволяет с высокой чувствительностью оценивать наличие мутаций, определяющих генетическую предрасположенность к онкологическим заболеваниям, а также выявлять рак на ранней, потенциально излечимой стадии и определять стратегию лечения, повышая выживаемость и качество жизни [6].

Обеспечение точности измерений в онкологии являются приоритетной задачей для Рабочей группы по анализу нуклеиновых кислот Консультативного комитета по количеству вещества [7]. В пилотных сличениях были исследованы измерительные возможности, обеспечивающие идентификацию мутаций и измерения доли числа копий соответствующих последовательностей. Результаты сличений подтвердили, что применение метода цифровой ПЦР (цПЦР) обеспечивает получение достоверных, прослеживаемых к СИ результатов измерений содержания генетических биомаркеров онкопатологий.

В рамках подготовки к ключевым сличениям CCQM-K176 совместно с Научно-методическим центром по молекулярной медицине Минздрава РФ (НМЦ МЗ РФ) и Институтом цитологии Российской академии наук были проведены измерения отношения числа копий последовательности гена *HER2* и последовательностей генов *RPPH1* и *CEP17* в культурах клеток человека и в клиническом материале биопсий опухолей. Выполненные с использованием цПЦР измерения клинических образцов позволили уточнить результаты, полученные в НМЦ МЗ РФ с использованием метода мультиплексной амплификации лигированных зондов (MLPA) [8]. Пять клеточных линий из Российской коллекции клеточных культур охарактеризованы по отношению числа копий последовательностей соответствующих генов, выявлена клеточная линия с выраженной амплификацией гена *HER2*. Полученные результаты позволят использовать культуры клеток человека для создания стандартных образцов для метрологического обеспечения измерений отношения числа копий последовательностей генов в онкогенетических исследованиях.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries / H. Sung [et al.] // *CA Cancer J Clin.* 2021. no 71. P. 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. World Health Organisation. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
3. National Cancer Institute. URL: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
4. Loeb K. R., Loeb L.A. Significance of multiple mutations in cancer // *Carcinogenesis.* 2000. Vol. 21. no 3. P. 379–385. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.379>
5. Berger M.F., Mardis E.R. The emerging clinical relevance of genomics in cancer medicine // *Nat Rev Clin Oncol.* Vol. 15, no 6. P. 353-365. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0002-6>
6. Bernard P.S., Wittwer C.T. Real-Time PCR Technology for Cancer Diagnostics // *Clin. Chem.* Vol. 48, no 8. P. 1178–1185. <https://doi.org/10.1093/clinchem/48.8.1178>
7. Metrological framework to support accurate, reliable, and reproducible nucleic acid measurements / M. Milavec [et al.] // *Anal Bioanal Chem.* Vol. 414. no 2. P. 791–806 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03712-x>
8. Use of the MLPA Assay in the Molecular Diagnosis of Gene Copy Number Alterations in Human Genetic Diseases / L. Stuppia [et al.] // *Int J Mol Sci.* 2012.vol.13. no 3. P.3245-3276. <https://doi.org/10.3390/ijms1303324>