

**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего профессионального образования
«РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАРОДНОГО ХОЗЯЙСТВА
И ГОСУДАРСТВЕННОЙ СЛУЖБЫ ПРИ ПРЕЗИДЕНТЕ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ»**

Яшина Е.Р., Малахо С.Г.

**Предпосылки, обуславливающие неэффективность
использования технологий полногеномного
секвенирования в России**

Москва 2016

Аннотация. Проведено исследование рынка перспективных генетических технологий в России, были рассмотрены основные сегменты рынка, тренды и определены стратегии развития рынка. Его объем в России составляет около 10 млрд. рублей и продолжает увеличиваться в среднем на 15% в год. Перспективы использования полногеномного секвенирования весьма многообещающи, однако отечественный рынок выглядит не столь радужно, как мировой. Несмотря на огромные затраченные средства в высокую степень оснащенности практически на 90% парк оборудования пристаивает. Попытки выйти за рамки бюджетного финансирования и перейти в коммерческое русло можно пока назвать безуспешными. Более эффективное применение полногеномного секвенирования возможно при создании специализированных центров. Благодаря высокой концентрации кадрового и технологического потенциала на нескольких площадках возможно максимально полное использование преимуществ новых технологий, удешевление конечной цены анализа и улучшение качества.

Яшина Е.Р., ведущий научный сотрудник Центра информационных технологий в управлении ИПЭИ Российской академии народного хозяйства и государственной службы при Президенте РФ

Малахо С.Г., старший научный сотрудник Центра информационных технологий в управлении ИПЭИ Российской академии народного хозяйства и государственной службы при Президенте РФ

Данная работа подготовлена на основе материалов научно-исследовательской работы, выполненной в соответствии с Государственным заданием РАНХиГС при Президенте Российской Федерации на 2015 год.

СОДЕРЖАНИЕ

1 ПРЕДПОСЫЛКИ, ОБУСЛОВЛИВАЮЩИЕ НЕЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИЙ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ В РОССИИ.....	4
1.1 Обзор технологий полногеномного секвенирования и их применения	4
1.2 Текущее состояние уровня оснащения.....	5
2 РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ПРОБЛЕМ УСПЕШНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ	7
2.1 Основные выводы и предложения.....	8
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	10
Список использованных источников	11

1 ПРЕДПОСЫЛКИ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИЕ НЕЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИЙ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ В РОССИИ

1.1 Обзор технологий полногеномного секвенирования и их применения

Секвенирование нового поколения — техника определения нуклеотидной последовательности ДНК и РНК для получения формального описания ее первичной структуры. Технология методов секвенирования нового поколения (NGS – Next Generation Sequencing) позволяет «прочитать» единовременно сразу несколько участков генома, что является главным отличием от более ранних методов секвенирования. NGS осуществляется с помощью повторяющихся циклов удлинения цепи, индуцированного полимеразой, или многократного легирования олигонуклеотидов. В ходе NGS могут генерироваться до сотен мегабаз и гигабаз нуклеотидных последовательностей за один рабочий цикл [1].

Секвенирование следующего поколения (NGS) является революционной технологией, наиболее привлекательным и быстрорастущим сегментом с потенциальным объемом \$7.1 млрд. (рынок производителей). Мировой объем рынка составил ~\$1,2млрд. в 2012 году, и скорость роста удваивается.

Технология NGS совершила революцию не только в медицинских исследованиях, в академических лабораториях и биофармацевтических компаниях, но также изменила структуру здравоохранения и прикладных рынков (например, тестирования продуктов питания). В настоящее время основные технологии на рынке представлены двумя компаниями-лидерами: Thermo Fisher (Proton, Ion S5) – полупроводниковое секвенирование, Illumina (MiSeq, NextSeq, HiSeq) – секвенирование синтезом цепи.

Также на рынке присутствует некоторое количество компаний с инновационными, дорогими разработками. Некоторое время назад еще использовались приборы компании Roche (454 FLX, Junior), однако компания прекратила выпуск этого оборудования.

Обе основные технологии рассчитаны на массовое параллельное секвенирование, имеющее достаточно сложную подготовку проб и последующий анализ данных на основе биоинформационных методов и алгоритмов. В линейке оборудования

представлены приборы разной производительности, но все большую нишу занимают приборы со средним уровнем производительности с максимальной длиной прочтений.

На рынок также начинают выходить одномолекулярные технологии, однако в настоящее время они еще находятся в стадии научной разработки.

Технология полупроводникового секвенирования является самой быстрой, однако она достаточно сложна в подготовке проб. Секвенирование при этом несколько дешевле. Технология компании Shumina проще и надежнее, но дороже в применении. Около 70% работ по секвенированию в мире выполняется именно на этой платформе.

1.2 Текущее состояние уровня оснащения

В США секвенирование является реальным сектором экономики, поскольку в прямой или косвенной форме в нём уже сейчас задействовано около 300 тысяч человек[2]. Большим потенциалом в этой области располагает и Великобритания, в которой геномная медицина около года назад была возведена в ранг государственной политики.

В конце 2012 года премьер-министр Д. Камерон представил программу “Strategy for UK Life Sciences – One Year One”, в которой была сформулирована амбициозная задача - сделать Великобританию мировым лидером в геномике и биоинформатике [3]. В ней подробно описаны основные ожидаемые результаты и меры, которые будут предприниматься правительством для достижения этой цели. Одной из таких мер стало выделение 100 млн. фунтов стерлингов на секвенирование 100 тысяч геномов онкологических больных и других пациентов, которым это может спасти жизнь [4]. Комитет парламента рекомендовал Совету технологической стратегии Великобритании (Technology Strategy Board - UK's national innovation agency) сделать геномику ключевой технологической платформой для продвижения коммерческого развития и клинических приложений на следующие 5 лет, чтобы поддержать лидерство Великобритании в геномной медицине [5,6,7].

В КНР, в Пекине, организован один из самых мощных центров полногеномного секвенирования, производительность которого увеличивается с каждым годом. В США и Великобритании существующие ключевые центры по секвенированию были модернизированы и оснащены аппаратурой для полногеномного секвенирования.

В 2013 году Саудовская Аравия также приступила к созданию национальной сети центров секвенирования, которая позволит провести геномное секвенирование ста тысяч жителей страны. В США «стотысячные» геномные проекты стартовали в 2014 году

(Human Longevity Inc., Regeneron/Geisinger), а в январе 2015 года президент США предложил выделить из бюджета 2016 года 215 миллионов долларов на проект “Precision Medicine Initiative”, предусматривающий секвенирование миллиона геномов граждан США [8].

В России первые приборы для полногеномного секвенирования стали появляться в 2008 году. Авторами была проанализирована история закупок высокотехнологичного оборудования для полногеномных методов анализа по базе данных SPARK. Удалось найти информацию по закупке более 60 единиц оборудования для полногеномных исследований. При этом общий объем затрат на оснащение составил более 900 млн. руб. Однако на сегодняшний день известно о более чем 120 единицах оборудования, инсталлированного в России. Расхождение связано, скорее всего, с тем, что не все контракты попадают в базу данных, в частности, отсутствуют данные за 2010 и 2008 годы, а информация по остальным годам неполная. Часть закупок проводится через более мелкие компании, отследить которые весьма трудно. Данных о частных компаниях в ней не представлено. Основная часть оборудования (около 98%) находится в бюджетных учреждениях (научных, медицинских, образовательных). Организации, закупающие оборудование, примерно поровну делятся по принадлежности к Российской академии наук и Министерству здравоохранения. По географическому принципу распределение следующее. Основная масса оборудования приходится на Центральный Федеральный округ, Москву и Санкт-Петербург, в меньшей степени оснащены дальние регионы. Средняя стоимость одного контракта составляет приблизительно 14 млн. руб. В отличие от мирового распределения в пользу технологии Illumina, в России наблюдается примерно равное соотношение по количеству оборудования между марками производителей. Основная масса оборудования приобреталась с 2011 года. Средние темпы оснащения составили около 20 приборов в год. Пиковыми годами были 2011 и 2012, когда большое количество оборудования закупалось по программам модернизации Министерства здравоохранения. Лабораторий, имеющих более чем один прибор, всего несколько.

2 РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА ПРОБЛЕМ УСПЕШНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

В настоящее время мировые центры по секвенированию задействованы в основном в крупномасштабных проектах по секвенированию больших групп людей, онкологических больных, отдельных видов животных и растений. Дополнительно центры выполняют частные заказы и являются соисполнителями в небольших научно-исследовательских проектах. Постепенно входит в широкую практику применение настольных приборов для рутинной генодиагностики и генотипирования.

Использование технологий сдерживается в основном фактором трудоемкости и длительности анализа с применением биоинформационных алгоритмов. В настоящее время именно анализ данных является узким бутылочным горлышком технологии. Вторым сдерживающим фактором является отсутствие протоколов и тест-систем для применения в клинической диагностике.

В России применение технологий, помимо указанных ограничений, усложняется слишком высокой ценой анализа. Стоимость расходных материалов выше, чем в зарубежных странах, примерно в 1,5-2 раза. Связано это, в первую очередь, с отсутствием отечественных аналогов, сложностью логистики, эксклюзивностью поставок. При этом средняя сумма субсидий для науки не позволяет выполнять такие исследования в количестве, достаточном для мирового уровня исследований.

При модернизации отечественных лабораторий также не происходит расчета стоимости «владения» прибором. Связано это с однократностью поступления бюджетных средств на модернизацию, длительностью субсидии или ее размером. Так, в большинстве случаев, вместе с прибором предусмотрена поставка комплекта расходных материалов, которых хватает примерно на один год работы. Дальнейшая эксплуатация ложится на плечи либо лаборатории, либо организации, где это оборудование инсталлировано. В связи с высокой себестоимостью проведение такого анализа становится непосильной задачей для владельца оборудования. Усугубляется ситуация сложностью анализа и подготовки проб, которые могут выполнять только высококлассные специалисты. Исторически отечественные бюджетные учреждения практически не участвовали в привлечении внебюджетного финансирования, а только на

бюджетные средства содержание полногеномного секвенатора в современных реалиях невозможно.

Таким образом, в бюджетных организациях нет возможности поддерживать в рабочем состоянии такого высокопроизводительного оборудования без изменения самой концепции использования технологий полногеномного секвенирования.

2.1 Основные выводы и предложения

Сейчас в мире имеется около 6 тысяч геномных секвенаторов, но многие модели морально устарели и их дальнейшая эксплуатация нецелесообразна. К относительно новым моделям можно отнести флуоресцентные секвенаторы HiSeq (~500 шт.) и MiSeq (~1000 шт.) компании Illumina, а также полупроводниковые Ion Proton (300-400 шт.) корпорации Life Technologies. В основном они сконцентрированы в США и в странах Европы, но один из крупнейших центров геномного секвенирования имеется также в Китае (BGI, 128 HiSeq). Менее крупные центры есть в Южной Корее (Macrogen, 10 HiSeq + 2 Ion Proton), Австралии, Сингапуре и в других странах [9].

С учетом того, что в среднем линейка оборудования для полногеномного анализа обновляется раз в 2-3 года, более половины оборудования в России в настоящий момент является устаревшим. Его использование либо невозможно по причине прекращения поддержки со стороны производителя, либо по причине отсутствия экономической целесообразности.

Обновление линейки приборов в первую очередь связано с удешевлением технологий. Стоимость секвенирования одного и того же количества материала на приборе второго и третьего поколения отличается в разы. Возможно, отчасти с этим связано то, что данные по закупкам расходных материалов найдены только по 15 организациям. С учетом того, что в базу SPARK вошли не все данные, скорее всего можно говорить примерно о 20 работающих приборах по всей стране.

Простой оставшейся четверти оборудования объясняется отсутствием объективных условий для работы – нет научных задач, персонала, финансирования. Распространена практика закупки оборудования при отсутствии постоянной коммерчески просчитанной необходимости. То есть, простыми словами, оборудование покупается для однократного исследования, что крайне нецелесообразно. Особенностью технологии и оборудования для полногеномного секвенирования является невозможность использования в качестве привычного второстепенного оборудования – эта технология предполагает фактически полное перепрофилирование лаборатории в секвенирующую.

Таким образом, следует вывод, что использование полногеномного секвенирования целесообразно в рамках создания специализированных центров, или модернизация существующих центров коллективного пользования. Мировой опыт также показывает, что эффективность эксплуатации геномных секвенаторов наиболее высока в крупных геномных центрах.

Сегодня сложно выделить сильные отечественные центры по полногеномному секвенированию. Условно успешно на этом рынке существуют несколько частных компаний и лабораторий в Москве, Санкт-Петербурге, Новосибирске. В России единственный довольно крупный геномный центр, созданный пять лет назад в Курчатовском институте, располагает всего пятью устаревшими приборами (2 SOLID + 3 GA IIx). Сравнительно новых секвенаторов в России сейчас более двух десятков (~20 PGM + 3 HiSeq + 2 MiSeq), но они распределены очень неравномерно и, как правило, простояивают из-за отсутствия квалифицированных кадров и/или дороговизны расходных реагентов.

Обладающие достаточно высокой квалификацией кадры очень востребованы на Западе, и в России встречаются крайне редко. Особенно большая нехватка наблюдается в медицинских учреждениях.

Что касается приборов и реагентов, то в России они стоят в 2-3 раза дороже, чем за рубежом. Отсутствие подобных наценок в Китае и мощная поддержка госструктур сделали их геномный центр (BGI) мировым лидером в данной области [10].

Все перечисленные факторы в ближайшем будущем могут стимулировать контрабандные поставки секвенаторов и необходимых для их работы реагентов в Россию, нелегальный вывоз биоматериалов для секвенирования за границу, а также развитие генетического туризма – поездок россиян, желающих секвенировать собственные геномы, в США и Китай. К решению проблем биобезопасности всё это отношения не имеет. Отсюда следует необходимость организации современного крупного центра геномного секвенирования в России [11].

Проведенный в ходе исследования анализ правовой базы также показал, что развитие молекулярной диагностики, в том числе с использованием полногеномного секвенирования, в России невозможно без решения проблем нормативно-правового регулирования. Существующие нерешенные вопросы в этой области:

(1) Проблемы в разработке и стандартизации нормативно-правовой базы в сфере регулирования обращения медицинских изделий для диагностики *in vitro*, в том числе

изделий, предназначенных для проведения молекулярно-биологических исследований в условиях *in vitro*;

(2) Проблемы, связанные с разработкой и внедрением новых алгоритмов использования молекулярно-биологических методов анализа в национальные стандарты оказания медицинской помощи населению;

(3) Проблемы, связанные со стандартизацией молекулярно-биологических методов в клинико-диагностических лабораториях и совершенствованием нормативно-правовой базы для использования молекулярно-биологической диагностики как медицинской услуги [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Постольку все новые генетические технологии в настоящее время появляются за рубежом, для отечественного рынка видятся два основных направления развития:

(1) Поддержание текущей стратегии, направленной на удержание максимального количества сегментов на общемировом уровне;

(2) Концентрация усилий в лишь некоторых, наиболее перспективных областях, что должно способствовать прорывному развитию в них, что может оказаться более целесообразным в связи со сложной макроэкономической обстановкой.

В связи со вторым направлением следует, прежде всего, отметить необходимость создания отечественных расходных материалов, в том числе совместимых с зарубежным оборудованием.

Необходимо также срочно компенсировать недостаток отечественных диагностических тестов на основе полногеномного секвенирования. Уже сейчас должны вестись собственные разработки новых тест-систем и аппаратуры.

Но самым серьезным сдерживающим фактором является недостаточное внимание на государственном уровне развитию биоинформационных алгоритмов и методов интегративной медицины для адекватной и достоверной интерпретации данных, хотя отечественная школа биоинформатики традиционно одна наиболее сильных в мире, и инвестиции в эту область способны существенно увеличить потенциал Российского рынка генетических технологий.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Интернет-источник:

https://ru.wikipedia.org/wiki/Методы_секвенирования_нового_поколения

2 Доклад Президентской комиссии по изучению биоэтических вопросов “Privacy and progress in Whole Genome Sequencing”. 154 P. October 2012.

3 Программа “Strategy for UK Life Sciences – One Year One”. December 2012.

4 Press release “DNA tests to revolutionise fight against cancer and help 100,000 NHS patients”. December 2012.

5 House of Lords, Science and Technology Committee, 2nd Report of Session 2008-09.

6 Genomic Medicine. Volume II: Evidence. London. 646 P. July 2009.

7 В.В. Зубов. Секвенирование по Ротбергу (потенциал полупроводникового секвенирования). *Биомика*. Т.5, №1. стр. 48-61. 2013.

8 В.В. Зубов. Особенности национального секвенирования. Пущино. 2014.

9 Интернет-источник: В.В. Зубов. Секвенирование-2015.

10 Проект « Протон» (пояснительная записка) г. Пущино 16.10.2012

11 Проект « Протон» (пояснительная записка) г. Пущино 16.10.2012

12 Проект « Протон» (пояснительная записка) г. Пущино 16.10.2012