АнеуСкрин илм

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

DNA-TECHNOLOGY

НАЗНАЧЕНИЕ ТЕСТА АНЕУСКРИН ИЛМ

- Неинвазивный скрининг беременных женщин на хромосомные аномалии плода
- Исследуется внеклеточная ДНК плода (плаценты)
- **Биоматериал – кровь беременной женщины**
- Метод - полногеномное секвенирование с низким покрытием (NGS)



НАЗНАЧЕНИЕ ТЕСТА АНЕУСКРИН ИЛМ

- **Тест детектирует:**
- **анеуплоидии по аутосомам 13, 18, 21,**
- **половым хромосомам X и Y,**
- **частичные дупликации и делеции (>10 Mb) по этих хромосомам**
- **Синдром Шерешевского-Тернера (45,X),**
- **Синдром Клайнфельтера (47,XXY),**
- **Трисомия X (47,XXX),**
- **Синдром Якобса (XYY),**
- **Мозаицизм (например, 45,X/46,XX),**
- В режиме RUO – также анеуплоидии по нецелевым хромосомам.

- Тест видит мозаицизм, позволяет отличать хромосомные аномалии материнского происхождения от плодового.

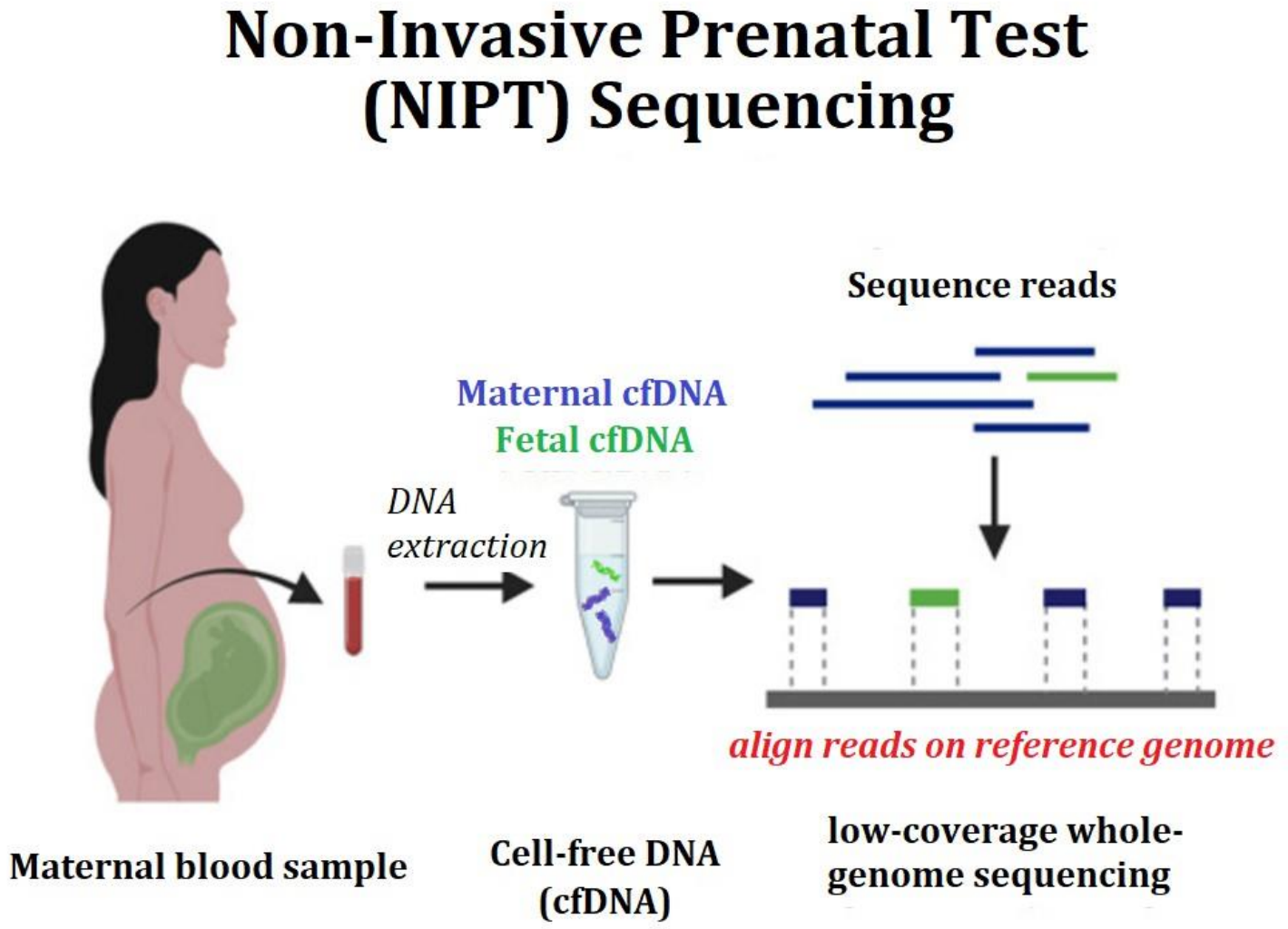


ПРИНЦИП МЕТОДА

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

- **Задача:**

определить наличие анеуплоидий путем анализа покрытия каждой хромосомы в полногеномном секвенировании внеклеточной ДНК плода (плаценты).



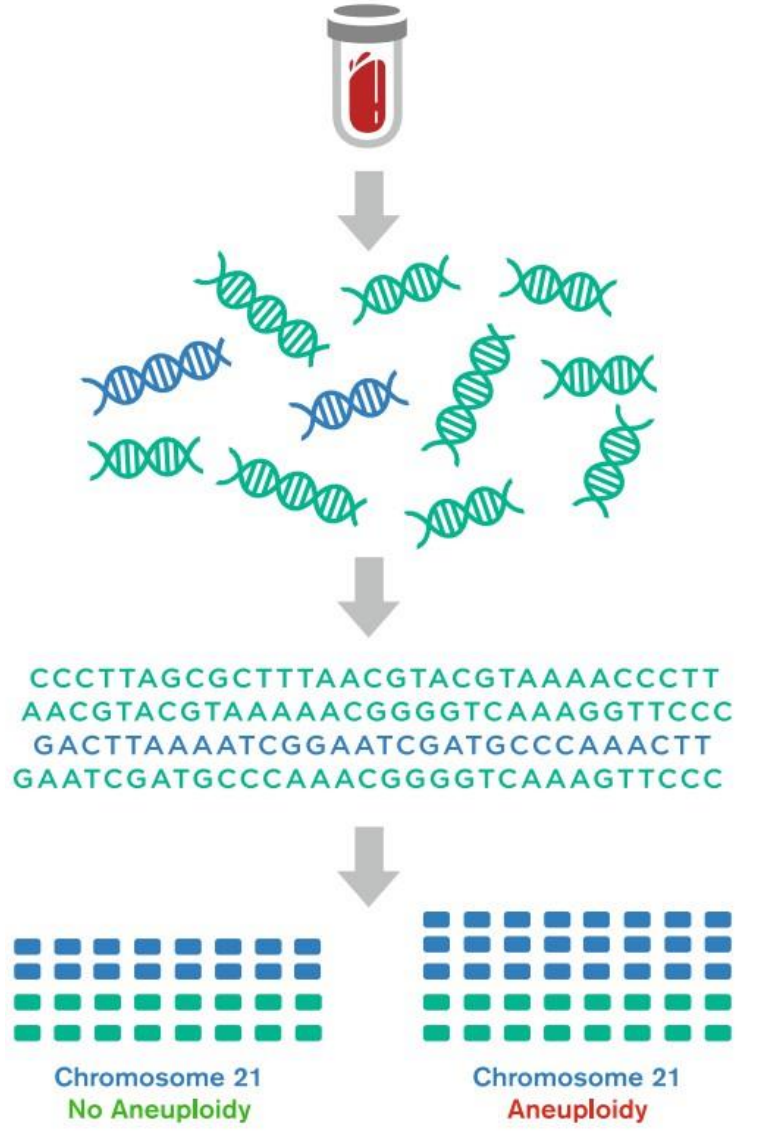
ПРИНЦИП МЕТОДА

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

- Риск наличия анеуплоидий у плода определяется путем анализа покрытия каждой хромосомы
- Покрытие нормируется на набор референсных образцов

Пайплайн:

- **Выделение внеклеточной ДНК из плазмы**
- **Подготовка библиотек**
- **Полногеномное секвенирование**
- **Картирование ридов на геном + коррекция эффектов ПЦР**
- **Определение покрытия генома плода для каждой хромосомы**
- **Если покрытие статистически значимо отклоняется нормы для какой-то хромосомы → анеуплоидия**



ПРИНЦИП МЕТОДА

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

- **ПО СекВарио выдает автоматическое заключение по рискам анеуплоидий.**
- QC частично автоматизирован, в разработке полная автоматизация.

- Возможны анализ и корректировка заключения в ручном режиме.
- Информация о наличии или отсутствии риска анеуплоидий по 13, 18, 21, X и Y хромосомам выдается ПО автоматически.
- По «редким» трисомиям – также автоматически (есть возможность включить/отключить выдачу по ним в ПО).
- Для получения информации о наличии частичных дупликаций и делеций требуется участие биоинформатика.



АВТОМАТИЗАЦИЯ АНАЛИЗА РЕЗУЛЬТАТОВ

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

ПО СекВарио выдает автоматическое заключение:

Результат | Контроль качества | Информация

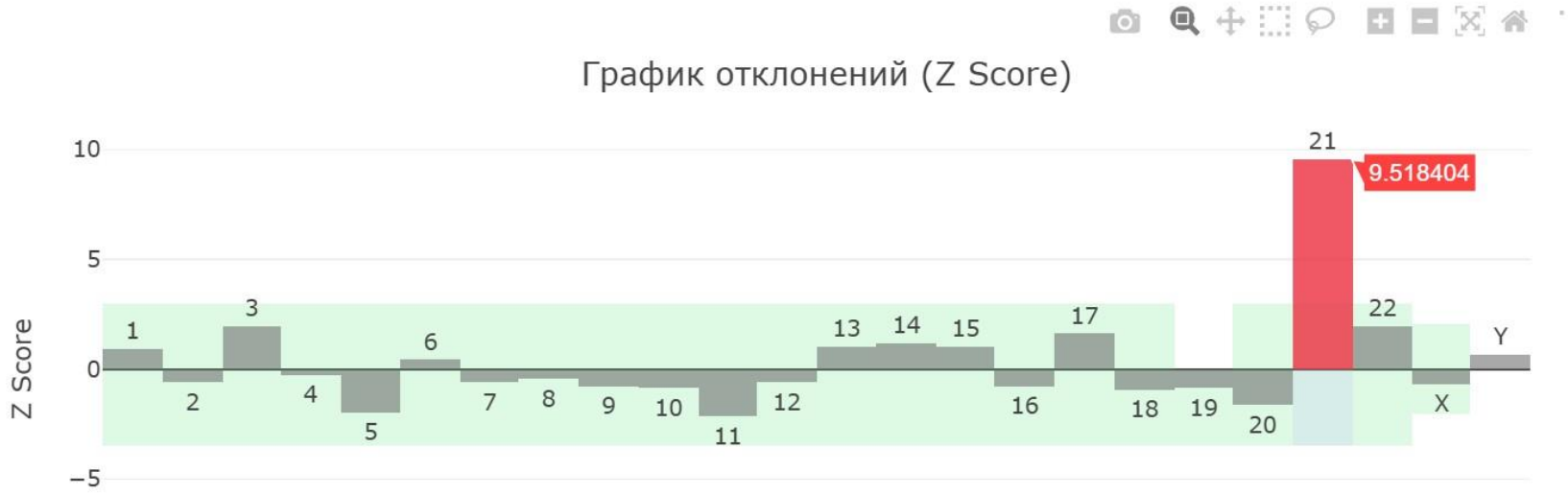
Данные плодовой ДНК: 4.9

Стандартное отклонение Z-Score по аутосомам (<1.4): 1.1706

Число прочтений: 12911439

Лабораторное заключение

Доля плодовой ДНК 4.90.
Пол плода женский.
Установлен высокий (выше 95%) риск трисомии по хромосоме 21.
Установлен низкий (<1%) риск анеуплоидий по половым хромосомам.



- Контроли качества:
- **Минимальная доля ДНК плода > 3.5%** для одноплодной беременности
- >8% для двуплодной
- Кол-во прочтений на образец > 5 млн
- Стат. оценка зашумленности данных (SD)

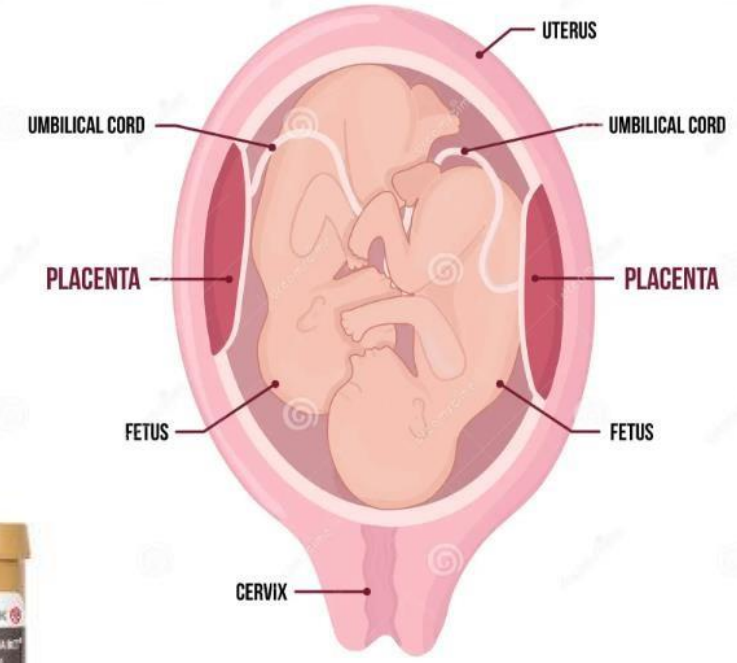
DNA-TECHNOLOGY

ТРЕБОВАНИЯ К ОБРАЗЦАМ

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

- Исследование проводится с **10 акушерской недели** беременности
- Двуплодная беременность: в режиме IVD, но риски по половым хромосомам не выдаются.
- 3 и более плода - только в режиме RUO!
- Использование донорской яйцеклетки и суррогатное материнство **не являются противопоказанием**

- **Факторы, влияющие на результаты:**
  - материнский и плацентарный мозаицизм;
  - недавнее переливание крови у матери;
  - операция по трансплантации у матери;
  - недавние хирургические вмешательства у матери;
  - иммунотерапия и терапия стволовыми клетками у матери;
  - злокачественные новообразования у матери;
  - исчезающий близнец,
  - тяжелые аутоиммунные процессы
  - индекс массы тела беременной женщины более 30 кг/м2





ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ЦЕПОЧКА

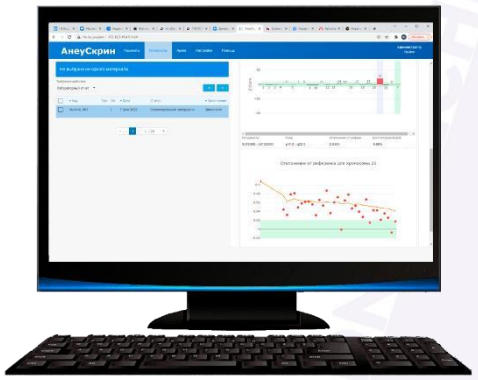
ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

- **Взятие крови + анкетирование пациентки, информированное согласие**
- **Хранение и транспортировка**

- **Получение плазмы** (хранение плазмы на -18…-22 °С не более 12 месяцев)
- **Выделение вкДНК из плазмы + QC**
- **Подготовка библиотек**
- **QC+ Подготовка к секвенированию**
- **Запуск секвенатора**



- **--> перенос FASTQ файлов в ПО СекВарио**
- **обработка данных**
- **анализ результатов (автоматическое заключение + возможность корректировки вручную)**
- **выдача заключения**



ПРЕАНАЛИТИЧЕСКИЙ ЭТАП

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

- **Валидированные пробирки для крови:**
- с ЭДТА в конечной конц-и 2,0 мг/мл

(транспортировка и хранение до получения плазмы на 2-8 °С не более 3 ч)

либо пробирки со стабилизатором:

- Streck Cell-Free DNA BCT
- GRANDBIOMED GBM scf-DNA

(транспортировка крови согласно инструкции)





- **Хранение плазмы** на -18...-22 °С не более 12 месяцев

ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ СЕКВАРИО

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

Программный комплекс «СекВарио» используется для работы с данными АнеуСкрин ИЛМ, АнеуПГТ и КлинЭкзом.

Преимущества ПО «СекВарио»:

- Автоматическое заключение по генотипу образца
- Автоматическая генерация таблиц приготовления смесей реагентов и SampleSheet
- Постановка и анализ совместных запусков двух исследований (НИПТ и ПГТ-А)
- Возможность интеграции с ЛИС
- Автоматический сбор статистики по запускам для мониторинга качества постановок
- Внесен в Реестр российского ПО



СТРУКТУРА ПО СЕКВАРИО ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

- **Создание и трекинг образцов**
- Подготовка библиотек
- Формирование SampleSheet

Исследовательская платформа СЕКВАРИО®



Запуск анализа данных СЕКВАРИО® МЕНЕДЖЕР

Модули анализа

АНЕУПГТ

АНЕУСКРИН

- Анализ результатов и выдача заключения
- Результаты автоматически подгружаются в Платформу
- Данные секвенирования переносятся в обменную папку Менеджера (вручную или автоматически)

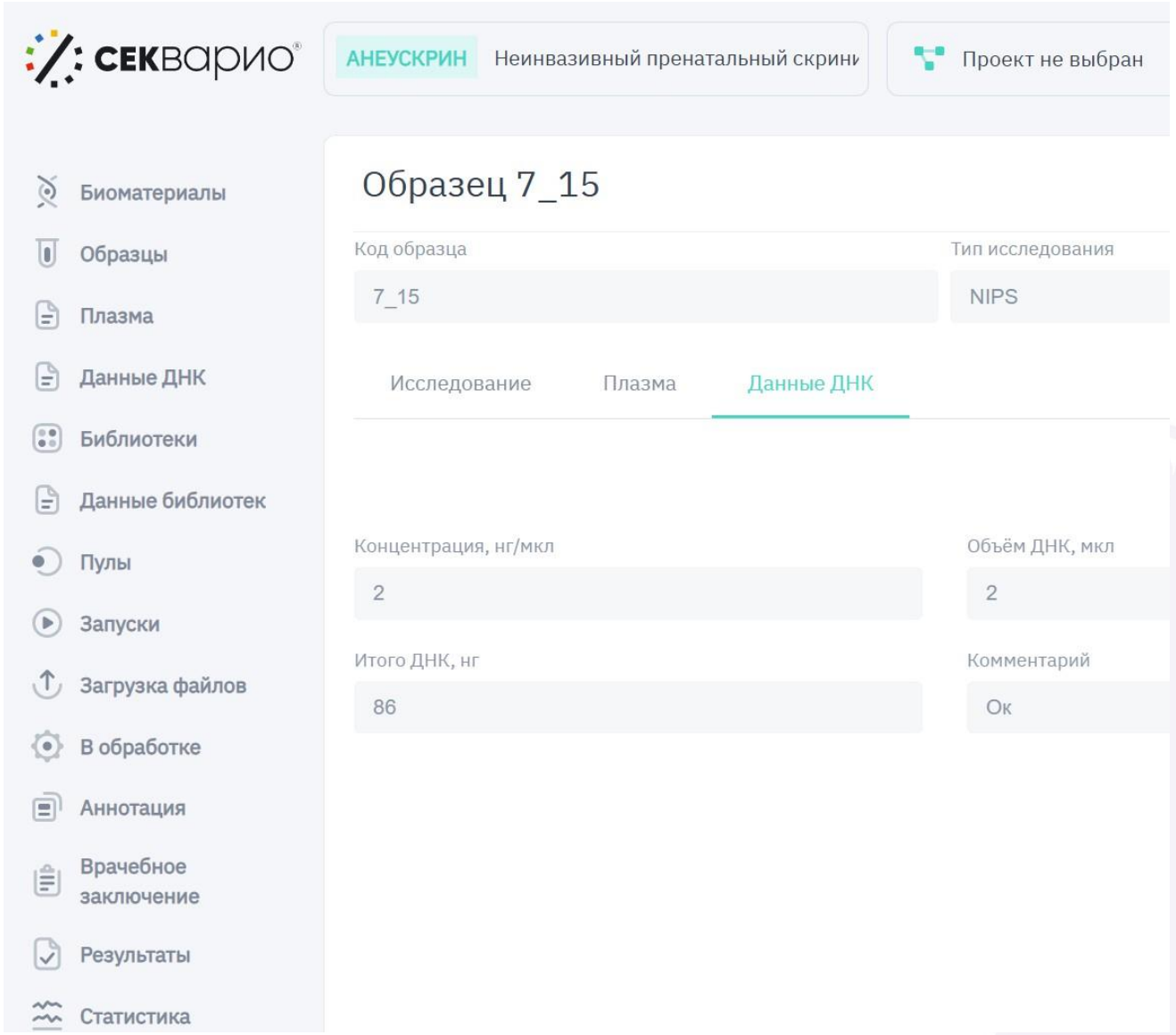
DNA-TECHNOLOGY

УЧАСТИЕ ПО СЕКВАРИО АНЕУПГТ В «МОКРОЙ» ЧАСТИ ПРОЦЕДУРЫ

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

- В СекВарио Платформа проводится трекинг образцов

- **ПО автоматически формирует:**
- Расчетные таблицы для смешивания реагентов
- Протокол подготовки финального пула
- Sample_sheet



ВЫЧИСЛИТЕЛЬНЫЙ КЛАСТЕР «ДТСИНЕРГИЯ»

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ

- **Комплектация «Лаборатория».** Обработка данных, полученных с секвенатора, с производительностью 32.5 - 39 Gb, в течение 1 рабочего дня (например, NextSeq 550)
- **Комплектация « Институт».** Обработка данных, полученных с секвенатора, производительностью 667 - 833 Gb, в течение 1 рабочего дня (например, NovaSeq 6000)
- **Комплектация «Геномный центр».** Обработка данных, полученных с 4 секвенаторов, производительностью 667 - 833 Gb, в течение 1 рабочего дня.

Ресурс	Лаборатория	Институт	Геномный центр
Количество серверов	1	2	4
Процессоры (из расчета на один сервер)	2 процессора серии AMD EPYC™, 64 ядра, 128 потоков	2 процессора серии AMD EPYC™, 64 ядра, 128 потоков	2 процессора серии AMD EPYC™, 64 ядра, 128 потоков
Оперативная память (1 сервер)	512 GB	512 GB	512 GB
Дисковое пространство	SSD – 1TB	SSD – 4TB	SSD – 8TB
Хранилище данных	120 TB	240 TB	1024 TB
ОС	Ubuntu Server 20.04 LTS		
Инфраструктура	ИБП, сетевое оборудование, серверный шкаф		



Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий (по крови матери)

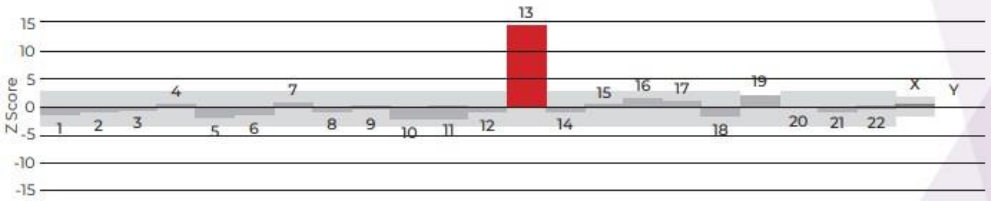
ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доля плодовой ДНК 6,20. Пол плода женский. Установлен высокий (выше 90%) риск трисомии по хромосоме 13. Установлен низкий (<1%) риск анеуплоидий по половым хромосомам.

Название файла	Sample
Доля плодовой ДНК	6,2
Число прочтений	7466945
T Score по 13 хромосоме	15,61
T Score по 18 хромосоме	-2,01
T Score по 21 хромосоме	-0,71
T Score по X хромосоме	1,56
T Score по Y хромосоме	1,23

Примечание: ДНК-скрининг не заменяет диагностические инвазивные тесты. Если данным методом нарушений у плода не выявлено, нельзя полностью исключить анеуплоидии как по исследованным, так и по другим хромосомам. Метод имеет ограничения, в частности, невозможность выявления микроаномалий хромосом, мозаицизма, полиплоидий, структурных аномалий хромосом, моногенных и других генетических заболеваний, не связанных с анеуплоидиями.

График отклонений (Z Score)



Хромосомная патология	Вызываемое заболевание	Установленный риск	Комментарий
Трисомия 21	Синдром Дауна	<1/100 (<1%)	Риск низкий
Трисомия 18	Синдром Эдвардса	<1/100 (<1%)	Риск низкий
Трисомия 13	**Синдром Патау**	**>90/100 (>90%)**	**Риск высокий**
Нарушение числа половых хромосом	Синдром Тернера/Трисомия X	<1/100 (<1%)	Риск низкий

ПРИМЕР ВРАЧЕБНОГО ЗАКЛЮЧЕНИЯ*

Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий (по крови матери)

Название направившего учреждения _____

Номер карты _____ Направивший врач _____

Ф.И.О. пациента _____

Дата рождения _____ Возраст _____ полных лет

Индекс массы тела (ИМТ) _____ кг/м²

Срок беременности (на момент забора крови) _____

Количество плодов _____

Беременность _____ (самостоятельная/ЭКО/донорская яйцеклетка)

Материал получен «___» _____ 20__г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Доля плодовой ДНК 8,14. Пол плода мужской. Установлен низкий (<1%) риск анеуплоидий по исследуемым хромосомам. Установлен низкий (<1%) риск анеуплоидий по половым хромосомам.

Хромосомная патология	Вызываемое заболевание	Установленный риск
Трисомия 21	Синдром Дауна	Риск низкий
Трисомия 18	Синдром Эдвардса	Риск низкий
Трисомия 13	Синдром Патау	Риск низкий
Нарушение числа копий половых хромосом	Синдром Клайенфельтера / Синдром Якобса	Риск низкий

Дата «___»_____ 20__ г. Врач:

Примечание: ДНК-скрининг не заменяет диагностические инвазивные тесты. Если данным методом нарушений у плода не выявлено, нельзя полностью исключить анеуплоидии как по исследованным, так и по другим хромосомам. Метод имеет ограничения, в частности, невозможность выявления микроаномалий хромосом, мозаицизма, полиплоидий, структурных аномалий хромосом, моногенных и других генетических заболеваний, не связанных с анеуплоидиями.