

DOI 10.25789/YMJ.2021.73.28

УДК 616-056.7(075)

М.Т. Саввина, Н.Р. Максимова

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МИКРОЧИПЫ В ПРАКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ КАК ИНСТРУМЕНТА ДЛЯ СКРИНИНГОВЫХ ПРОГРАММ

В данном обзоре литературы представлены современные данные о методах диагностики с использованием биологических микрочипов в различных областях практической медицины. Предложено и аргументировано использование метода, основанного на технологии ДНК-микрочипов, для проведения массового молекулярно-генетического скрининга гетерозиготного носительства наследственных заболеваний.

Ключевые слова: наследственные заболевания, молекулярно-генетический скрининг, биологические микрочипы, практическая медицина.

This literature review presents modern data on diagnostic methods using biological microchips in various fields of practical medicine. The use of the method based on DNA microarray technology for carrying out mass molecular genetic screening of heterozygous carriage of hereditary diseases has been considered.

Keywords: hereditary diseases, molecular genetic screening, biological microchips, practical medicine.

Введение. Череда выдающихся открытий - ДНК и генетического кода - послужила толчком к лавинообразному развитию генетики и молекулярно-биологических методов исследований. В 1977 г. Фредериком Сэнгером был разработан первый в современном понимании метод секвенирования ДНК, получивший в те времена название «метод обрыва цепи». Вскоре в 2001 г. были завершены проекты по расшифровке полного генома человека. Параллельно секвенированию, после открытия в 1983 г. полимеразной цепной реакции, стремительно стал набирать популярность и развиваться еще один метод, в котором комбинируются разработки нескольких отраслей от биологии до электроники - технология микрочипов. Биологические микрочипы — это микроматрицы с нанесенными на твердую подложку различного рода биополимерами в качестве зондов и исследуемым биологическим материалом в роли мишеней.

Существуют два типа микрочипов - высокой и низкой плотности, которые нашли широкое применение в фундаментальных исследованиях и в различных областях практической медицины. Изготовление микрочипов высокой плотности отличается синтезом зондов прямо на подложке. Например, разработанная компанией Affimetrix технология фотолитографии с микро-

чипами GeneChip предназначена для анализа крупных фрагментов ДНК и всего генома организма. Такие виды микрочипов требуют дорогостоящего оборудования и специально обученных специалистов-биоинформатиков для интерпретации огромного объема информации [21].

Несколько иной подход применяется при изготовлении микрочипов низкой плотности, в котором зонды наносятся на заранее подготовленную поверхность подложки. В клинической медицине все больше набирают популярность микрочипы низкой плотности ввиду их низкой себестоимости и специфичности исследуемых фрагментов ДНК.

Применение биологических микрочипов в практической медицине. Значительная часть проводимых генетических медицинских исследований в настоящий момент направлена на диагностику моногенных и мультифакториальных заболеваний, вызванных точечными мутациями в геноме - однонуклеотидными полиморфизмами. ДНК-микрочипы используются для идентификации мутаций и генетических полиморфизмов для выявления наследственных болезней, наследственной предрасположенности к различным широко распространенным заболеваниям, например, к диабету, сердечно-сосудистым заболеваниям, онкологии, офтальмологии, а также для диагностики инфекционных заболеваний. В таблице представлен список диагностических микрочипов, разработанных для использования в клинической медицине.

Профилирование экспрессии генов с помощью ДНК-микрочипов дает информацию об относительных различиях в экспрессии генов между двумя разными клеточными популяциями, например, в сравнительном анализе тех или иных препаратов, испытываемых на культурных клетках, или сравнение экспрессии генов в раковых клетках с нормальными клетками [28]. Геном человека состоит из 3,2 млрд нуклеотидов. По некоторым оценкам, в нем насчитывается около 10 млн нуклеотидных замен - так называемых однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП). ОНП распространены по всему геному и могут быть использованы в качестве геномных маркеров для поиска связи между генами и заболеваниями. ОНП по сути представляют собой замену одного азотистого основания в ДНК на другое. Например, гуанин замещается на цитозин, в то время как все другие основания, расположенные рядом, остаются неизменными. Так как ОНП может находиться внутри одного гена, так и в нескольких сразу, проба для микрочипа должна быть сконструирована таким образом, чтобы был охвачен весь геном. Это может быть серьезным препятствием для полногеномного анализа [34]. На рисунке приведены основные области применения диагностических микрочипов в клинической медицине.

Диагностические микрочипы в клинической медицине. Микрочипы для поиска биомаркеров мультифакториальных заболеваний. Открытие новых специфических биомаркеров, связанных с конкретным заболеванием,

Диагностические микрочипы в клинической медицине

Классификация/название	Заболевание/возбудитель	Литература
<i>Микрочипы для поиска биомаркеров мультифакториальных заболеваний</i>	Болезнь Крона	[11]
	Сахарный диабет I типа	[26]
	Онкологические заболевания, полиморфизмы в генах системы биотрансформации, полиморфизмы в генах ренин-ангиотензиновой системы	[3]
	Спорадическая форма болезни Альцгеймера	[4]
	Рак молочных желез	[12]
	Резистентность к химиотерапии при раке матки	[36]
<i>Микрочипы для диагностики инфекционных заболеваний</i>	Туберкулез и его лекарственно-устойчивые формы; возбудители ВИЧ, гепатитов В и С, оспы, 2 типов простого герпеса, сибирской язвы, вируса гриппа А	[12]
	Онкогенные варианты штамма вируса папилломы человека 18 типа (HPV-18)	[33]
	Аденовирусы, бокавирус, хламидиоз, коронавирусы типов 229E, OC43, NL63, HKU1, метапневмовирус человека (hMPV) типов А и В, грипп А, вирусы гриппа В, грипп С – <i>Mycoplasmae</i> . 4, респираторно-синцитиальный вирус (RSV) типов А и В, и риновирусы	[13]
	Нейтропения	[18]
	Резистентность к противотуберкулезному препарату Этамбутол	[25]
	Патогены при бактериальных и грибковых инфекциях головного мозга	[9]
	AIV, NDV, IBV and IBDV в целях применения в рутинном массовом эпидемиологическом мониторинге	[31]
<i>Микрочипы для диагностики генетических заболеваний</i>	Хромосомные нарушения, связанные с задержкой развития и врожденных пороков (синдром Дауна, синдром Патау, синдром Эдварда, синдром Тернера, синдром Клайнфельтера, задержка альфа-талассемии-16, нейропатия Шарко-Мари-Тута 1А, синдром Кри-дю-чат, наследственная невропатия со склонностью к параличу от сдавления (HNPP), синдром Прадера-Вилли, синдром Рубинштейна-Тайби, синдром Вильямса и синдром Вольфа-Хиршхорна)	[16]
	Гемоглобинопатия	[30]
	Первичный иммунодефицит	[32]
	Муковисцидоз	[3, 4]
	Болезни Тея-Сакса, синдром Блума, болезни Канавана, Ниманна-Пика А, семейной дизавтономии, торсионной дистонии, муколипидоз IV типа, анемии Фанкони, болезни Гоше, болезни накопления гликогена IA типа, болезнь мочи кленового сиропа, несиндромальная сенсоневральная тугоухость, семейная средиземноморская лихорадка и болезнь накопления гликогена III типа	[15]
	Синдром Вильсона	[22]



Применение диагностических микрочипов в клинической медицине

ем, очень важно для постановки точного диагноза, разработки лекарств. Поиски биомаркера с использованием ДНК-микрочипа осуществляются путем анализа большого объема данных об уровнях экспрессии при различных генотипических, фенотипических и экологических условиях, что позволяет идентифицировать большее количество кандидатов. Он позволяет одновременно идентифицировать биомаркеры-кандидаты путем анализа дифференциально экспрессируемых генов в сравнении с нормой и патологией. Тщательно применяя клинические образцы на различных стадиях или условиях к микрочипу ДНК, можно

выявить те гены, которые специфически связаны с различными стадиями заболевания. Подходы на основе ДНК-микрочипов для поиска биомаркеров применялись для изучения нескольких хронических заболеваний, включая диабет, артрит, сердечно-сосудистые и онкологические заболевания. Например, биомаркеры для диагностики системной красной волчанки (СКВ) и ревматоидного артрита (РА), которые являются хроническими аутоиммунными и воспалительными заболеваниями, могут быть проверены путем профилирования экспрессии в лейкоцитах, поскольку дифференциальная экспрессия генов в лейкоцитах явно имеет отношение к СКВ и РА. Остеоартрит, дегенеративное заболевание суставов, которое можно спутать с РА, также можно диагностировать с помощью профилирования экспрессии лейкоцитов. Основываясь на этих фактах, Wohlgemuth с соавт. разработали метод диагностики и мониторинга аутоиммунного или хронического воспалительного заболевания, в особенности СКВ, на основе дифференциально экспрессируемых генов. Отобранные гены были дополнительно изучены путем сравнения их с клиническими данными. Нуклеотидные последовательности выбранных генов были определены и использованы для диагностики этих заболеваний [5]. Болезнь Крона, язвенный колит и воспалительное заболевание кишечника (ВЗК) также можно диагностировать с помощью генов-биомаркеров, выбранных из профилей экспрессии генов с использованием ДНК-микрочипов. В частности, для оценки прогноза и лечения важен диагноз ВЗК с высокой частотой и заболеваемостью. Mannick и его коллеги изготовили диагностический чип для заболеваний, основанный на последовательностях избыточно и недостаточно экспрессируемых генов, отобранных при помощи чипов высокой плотности Affymetrix GeneChip. В результате у пациентов с ВЗК 25 последовательностей были идентифицированы как гены, относящиеся к ВЗК, что дало чувствительность 84% и специфичность 100%. При болезни Крона у пациентов с язвенным колитом 36 генов были идентифицированы как гены, относящиеся к болезни Крона с язвенным колитом, что дало чувствительность и специфичность 80% [11].

Ученые Natarajan и Муао разработали ДНК-микрочип для картирования модификаций гистонов в кодирующих областях генов, участвующих в регуляции и экспрессии генов. Они срав-

нили паттерны модификаций гистонов в кодирующих областях генов, специфичных для заболевания, с помощью анализа локализации всего генома с использованием иммунопреципитации хроматина, связанной с микрочипами кДНК. Были отобраны те гены, которые проявляли повышенную (более чем в 2 раза) и пониженную (менее 0,5-кратную) экспрессию при определенных условиях. В этом патенте предложен метод определения риска развития заболевания путем изучения наличия или отсутствия модификации гистонов (диметилирование H3-K9), связанных с диабетом I типа, который является аутоиммунным заболеванием и может сопровождаться такими осложнениями, как ретинопатия, невро- и нефропатия [26].

В России, в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарта РАН, разработаны микрочипы для анализа однонуклеотидных полиморфизмов у человека при различных заболеваниях: биочип для диагностики лимфо-пролиферативных заболеваний, микрочипы для выявления и диагностики генетической предрасположенности к развитию онкологических заболеваний различной этиологии и для определения индивидуальной чувствительности к некоторым лекарственным препаратам и другие, предназначенные для анализа полиморфизма в генах системы биотрансформации, определения полиморфизма в генах ренин-ангиотензиновой системы и генах гемостаза и используемые для анализа генетической предрасположенности к развитию осложнений при беременности [3]. Разработан биологический микрочип, предназначенный для изучения наследственной предрасположенности к спорадической форме болезни Альцгеймера. Биочип способен определять 10 полиморфных маркеров в генах *APOE*, *TOMM40*, *APOJ*, *EXOC3L2*, *GAB2*, *A2M*, *CR1*, *BIN1* и *PICALM*. Процедура генотипирования включает амплификацию нуклеотидных последовательностей выбранных генов и последующую гибридизацию флуоресцентно меченных участков с аллель-специфичными ДНК-зондами, амплифицированными на биочипе [4]. Был разработан микрочип низкой плотности, который содержит в себе маркеры 132 генов, дифференциально экспрессируемых при раке груди, а также ассоциированных с признаками злокачественной опухоли (нарушения клеточного цикла, гормональная чувствительность, протеолиз), и разработанная система показала себя как аль-

тернативный способ диагностики рака груди на ранней стадии [12]. Учеными из Китая был предложен способ на основе микрочипа низкой плотности, который позволяет определить 83 дифференциально экспрессируемых генов, свидетельствующих о резистентности к химиотерапии при раке матки [36]. Мексиканской группой ученых был создан как инструмент для скрининга и раннего выявления злокачественного рака олигонуклеотидный биочип для выявления 19 точечных мутаций в 5-м, 7-м и 9-м экзонах гена *TP53*, который является известным онкогеном - мутации в нем приводят к малигнизации и наблюдаются у большинства больных различными видами рака [23]. Был разработан олигонуклеотидный биочип для выявления носительства 182 мутаций в генах *LDLR* и *APOB*, вызывающих гиперхолестеринемию, которая в свою очередь приводит к ранним заболеваниям сердечно-сосудистой системы [10].

Микрочипы для диагностики инфекционных заболеваний. ДНК-микрочипы широко используются и совершенствуются и в области диагностики различных инфекционных заболеваний. Так, разработанные в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгарта РАН гидрогелиевые микрочипы позволяют определять возбудителя туберкулеза и его лекарственно-устойчивые формы; возбудителей ВИЧ, гепатитов В и С (22 подтипа), оспы, 2 типов простого герпеса, сибирской язвы, инфекций новорожденных, 30 подтипов вируса гриппа А, включая птичий грипп H5N1. [24]. Учеными из мексиканского университета был разработан олигонуклеотидный микрочип низкой плотности для быстрого скрининга онкогенных вариантов штамма вируса папилломы человека 18 типа (HPV-18). Используемая в разработке технология может использоваться для дифференциации трех возможных филогенетических ветвей HPV-18 [33]. Учеными университета Дублина описана разработка тест-системы на основе олигонуклеотидных микрочипов для одновременного обнаружения, дифференциации и типирования 18 вирусных и бактериальных респираторных патогенов, включая 16 вирусов и две атипичные бактерии: аденовирусы, бокавирус, хламидиоз (*Chlamydia*), коронавирусы типов 229E, OC43, NL63, HKU1, метапневмовирус человека (hMPV) типов А и В, грипп А, вирусы гриппа В, грипп С – *Mycoplasmae*. 4, респираторно-синцитиальный вирус

(RSV) типов А и В и риновирусы [13]. Похожий подход был применен при разработке микрочипа для быстрой диагностики инфекций кровотока, вызванных бактериальными патогенами в педиатрии и общей терапии [27]. ПЦР-амплификация в сочетании с олигонуклеотидным микрочипом была использована для идентификации бактерии *Bacillus anthracis* на основе ITS-участка в рПНК. В нескольких исследованиях сообщалось об использовании микрочипов для идентификации патогенных дрожжей и плесени путем нацеливания на ITS-участок в генах рПНК грибов [14]. В другом исследовании был создан ДНК-микрочип для обнаружения и идентификации 14 часто встречающихся грибковых патогенов в клинических образцах, взятых у пациентов с нейтропенией [18]. В университете Барселоны был предложен способ на основе ДНК-микрочипа для одновременной диагностики мутаций в гене *embB*, что свидетельствует о резистентности к противотуберкулезному препарату Этамбутол [25].

ДНК-микрочип для детекции 14 штаммов бактерий (*Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Neisseria meningitidis*, *Enterobacter spp.*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus Stenocochyconia monstochyconia* и пневмококкоцитоз фаеоциум 4 штамма грибов (*Candida albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* и *Cryptococcus neoformans*) патогенов при бактериальных и грибковых инфекциях головного мозга [9].

Казахстанскими учеными был описан способ экспресс выявления вирусных заболеваний AIV, NDV, IBV and IBDV одновременно в целях применения в рутинном массовом эпидемиологическом мониторинге. [31].

Микрочипы для диагностики генетических заболеваний. Зарубежные компании Affymetrix и Illumina представляют биочипы для генотипирования 2800000 и 1000000 ОНП соответственно. Технологии этих компаний основаны на методах аллель-специфичной гибридизации и аллель-специфичного удлинения праймера, соответственно. В аллель-специфичной гибридизации зонды сосредоточены в центре участка мутации так, чтобы переменное основание оказывалось в середине зонда. Это позволяет максимально превратить образование неспецифически связанных гибридов, и чувствительность зонда к мишени существенно повышается. Для обна-

ружения конкретного ОНП используют два зонда: один зонд соответствует одному аллельному варианту, а другой зонд предназначен для второго аллельного варианта. Генотип определяется посредством анализа относительной величины сигнала этих двух зондов. Несмотря на это, Affymetrix использует около 20 зондов для каждого проанализированного ОНП, чтобы получить более точные результаты анализа [20]. Та же технология, применяемая для анализа ОНП, используется для генотипирования определенных мутаций, которые вызывают моногенные заболевания. Технология биочипов здесь эффективно заменяет трудоемкую и длительную технологию секвенирования. Если рассматривать методы, использующиеся в биочиповых технологиях и методы секвенирования, биочипы имеют ряд преимуществ: они дешевле, быстрее и менее трудоемки. Заболевания, вызванные хромосомными нарушениями, включают несколько типов, таких как синдром Дауна (связанный с хромосомой 21), синдром Эдвардса (хромосома 18), синдром Патау (хромосома 13), синдром Тернера (XO) и синдром Клайнфельтера (XXY), что приводит к необратимым физическим и психическим отклонениям и даже к смертности. Микрочипы широко применяются в цитогенетике для выявления различных хромосомных патологий. К примеру, хромосомный микроматричный анализ (ХМА) для выявления вариаций числа копий, гомозиготности и триплоидии, заменяющий кариотипирование в качестве диагностического инструмента для многих случаев, когда подозревается хромосомная ХМА, значительно более чувствителен (от 10 до 100 kb), чем традиционное кариотипирование (от 5 до 10 Mb). Кроме того, ХМА не требует культивирования клеток, что сокращает время обработки результатов и является отличным альтернативным инструментом, когда деление клеток недоступно для анализа. Этот метод может использоваться в различных целях, например, для определения причины невынашиваемости или выявления анеуплоидий, таких как синдром Дауна [7]. В ХМА используется технология сравнительной геномной гибридизации (СГГ) – молекулярная цитогенетическая технология, объединившая стандартную цитогенетическую методику кариотипирования и метод флуоресцентной гибридизации *in situ*. СГГ основана на сравнении тестируемой и контрольной ДНК, меченных разными флуорохромами, которые смешивают-

ся в соотношении 1:1 и гибридизуются на метафазных хромосомах кариотипически здорового человека. После проведения выделения хромосом программа автоматически рассчитывает значение флуоресцентного отношения для каждой точки хромосомы и, исходя из полученных данных, строит цветотокодированное изображение. CGH были разработаны для охвата всего генома, для целевого анализа известных микроделеции / микродупликации, а также для известных локусов наследуемых мутаций [6]. Чувствительность чипа зависит от размера и типа используемых зондов. Наиболее распространены олигонуклеотидные зонды (~60 пар оснований) или зонды с однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) (32-40 пар оснований). Олигонуклеотидные зонды можно использовать для покрытия всего генома со средним разрешением около 35 т.п.н. Современные ССГ-чипы обычно используют комбинацию зондов числа копий (олигонуклеотидов) для обнаружения увеличения и уменьшения количества копий и зонды однонуклеотидного полиморфизма (SNP) для обнаружения сходства однонуклеотидных последовательностей (гомозиготности). Комбинация зондов выявляет серии гомозиготности между материнской и отцовской копиями каждой хромосомы, что позволяет диагностировать триплоидию, однопородную дисомию и кровное родство, а также улучшает обнаружение низких уровней мозаицизма [8]. На сегодняшний день доступны несколько коммерческих тестов ХМА, включая GenomeDx ХМА от GeneDx. GenomeDx может подтверждать клинические диагнозы, различать случаи *de novo* и семейные случаи, а также помогать в пренатальной диагностике беременных с высоким риском. Срок выполнения этого теста составляет три недели, и в качестве исследуемого образца могут использоваться как кровь, так и буккальный соскоб. GenomeDx – это полногеномный ХМА, содержащий 118000 олигонуклеотидных зондов, которые обнаруживают вариации числа копий [17]. Компанией LabCorp был разработан микрочип Reveal®, выявляющий хромосомные нарушения, связанные с задержкой развития и врожденных пороков [29]. Ученые из Южной Кореи также разработали микрочип для диагностики хромосомных нарушений, вызывающих различные заболевания: синдром Дауна, синдром Патау, синдром Эдвардса, синдром Тернера, синдром Клайнфельтера, задержку альфа-талассемии-16, нейро-

патию Шарко-Мари-Тута 1А, синдром Кри-дю-чат, наследственная невропатия со склонностью к параличу от сдавления (HNPP), синдром Прадера-Вилли, синдром Рубинштейна-Тайби, синдром Вильямса и синдром Вольфа-Хиршхорна [16].

Был разработан ДНК-микрочип для неонатального скрининга гемоглобинопатии. Использовался следующий подход к изготовлению микрочипа - фрагмент гена бета-глобина человека амплифицировали и иммобилизовали на стеклянную подложку, на которую затем наносится раствор исследуемым образцом - меченными флуоресцентным красителем олигонуклеотидными зондами, соответствующими либо дикому типу, либо мутантным аллелям S, C и E гена бета-глобина [30].

Научной группой из Нидерландов, Соединенного королевства и Таиланда был разработан биочип для диагностики первичного иммунодефицита (ПИД), который представляет собой группу гетерогенных заболеваний, включающую более 400 различных моногенных наследственных заболеваний, которые влияют на развитие и функцию иммунной системы. Современные подходы к генетической диагностике ПИД основаны на секвенировании по Сэнгеру, секвенировании следующего поколения (NGS) и анализе вариантов числа копий (CNV). Однако эти методы требуют много времени, затрат и сложной интерпретации данных, что до сегодняшнего времени ограничивает число анализов. Для данной разработки была использована биочиповая платформа компании Illumina The Illumina Custom GSA, включающая в себя 9,415 мутаций в 277 генах, ассоциированных с ПИД. Тест-система позволяет проводить высокоточный скрининг на известные мутации за короткое время и меньшую себестоимость [32].

Также группой компаний «Алкор Био» (Санкт-Петербург) была разработана тест-система для выявления 25 наиболее распространенных на территории РФ и Европы мутаций в гене *CFTR* «Муковисцидоз -биочип» [1]. С каждым годом биологические микрочипы все больше внедряются в разных областях практической медицины. Разрабатывается множество различных видов микрочипов. Технология микрочипов продолжает улучшаться в аспектах производительности относительно чувствительности и точности и становится самым экономичным методом исследования.

Перспективы применения диагностических тест-систем на основе

ДНК-микрочипов в молекулярно-генетическом скрининге. Современные микрочипы могут содержать миллионы маркеров на тысячи заболеваний, что позволяет колоссально снизить стоимость проведения скрининговой диагностики населения. Однако, как уже отметили ранее, ввиду большой сложности и трудоемкости технологии печати микрочипов на данный момент, пока что они не получили широкого распространения в клинической практике. К тому же, массовый скрининг людей из различных популяций на тысячи генетических заболеваний (большая часть из которых не относятся к частым) не является в данное время актуальной задачей. Наиболее интенсивно идет внедрение микрочипов средней и малой плотности печати, содержащих десятки и сотни генетических маркеров. Подобные микрочипы имеют относительно низкую себестоимость и доступную технологию печати, а также позволяют проводить скрининг лишь на самые распространенные мутации. Вдобавок ко всему, метод микрочиповой ДНК-диагностики имеет высокую экспрессность проведения анализа и высокую достоверность получаемых результатов, что, по мнению ученых, обеспечивает для данного метода будущее лидерство в сегменте ДНК-диагностики.

В изолированных популяциях, например, в якутской этнической группе, наблюдается накопление отдельных форм генетических нозологий моногенной природы, вызванных этноспецифическими мутациями, частота гетерозиготного носительства которых существенно превышает показатели мировых данных [2]. В связи с этим развитие и внедрение новых эффективных методов ДНК-диагностики является неотъемлемой задачей медико-генетических служб. Отличным примером является исследование ученых из Стэнфордского университета, которыми была предложена разработка микрочипа для выявления этноспецифических мутаций, отвечающих за возникновение наследственных болезней, распространенных среди представителей популяции евреев-ашкенази — болезни Тея-Сакса, синдрома Блума, болезни Канавана, Ниманна-Пика А, семейной дизавтономии, торсионной дистонии, муколипидоза IV типа, анемии Фанкони, болезни Гоше, болезни накопления гликогена 1А типа, болезни мочи кленового сиропа, несиндромальной сенсоневральной тугоухости, семейной средиземноморской лихорадки и болезни накопления гликогена

III типа [15]. Также исследовательской группой ученых из Индии был разработан олигонуклеотидный биочип низкой плотности для выявления носительства 62 мутаций гена *ATP7B*, характерных для индийской популяции, которые являются причиной синдрома Вильсона. Частота гетерозиготного носительства данных мутаций в Индии составляет 1:90. В их разработке использовался метод аллель-специфичного удлинения праймера. Данная разработка уже внедрена в практику медицинских учреждений Индии для диагностики синдрома Вильсона в индийской популяции [22].

Программы в целях профилактики распространения наследственных заболеваний внедрены и практикуются уже в нескольких странах. Например, такие меры показали свою эффективность, снизив частоту встречаемости β -талассемии, серповидно-клеточной анемии на 70% у популяций Средиземноморья, на 90% заболеваемость TSD (болезнь Тея-Сакса) у еврейского населения в Соединенных Штатах Америки и Канаде [19, 35].

Используемые в настоящий момент классические методы диагностики, такие как ПЦР-ПДРФ, ПЦР в реальном времени, методы секвенирования, имеют ряд недостатков, ограничивающих число проводимых анализов ввиду трудоемкости и дороговизны расходуемых реактивов, которые сильно затрудняют проведение ДНК-диагностики в больших масштабах и следовательно внедрению таких профилактических мер. Также, как мы уже упомянули ранее, готовые микрочипы высокого разрешения от крупных компаний "Illumina", "Affimetrix", "PerkinElmer" и др. включают в себя одновременную детекцию на тысячи и миллионы ОНП, что делает их очень дорогими и не востребованными в клинической практике врача-генетика и врача другой специальности. Для обработки огромной информации, полученной из этих микрочипов, необходимо использование специальных программ и обученного персонала. Коммерчески доступные готовые микрочипы часто не соответствуют интересам исследований в конкретной области, например, в Республике Саха, ввиду специфичности мутаций, характерных для якутской этнической группы, которые имеют высокую частоту встречаемости в регионе, но совершенно редки для других популяций в мире. Таким образом, самостоятельное изготовление микрочипов на рабочем месте весьма актуально для регионов, отяго-

щенных наследственными заболеваниями для выявления гетерозиготных носителей и применения в молекулярно-генетическом скрининге.

Работа выполнена в рамках госзадания Минобрнауки РФ (проект FSRG-2020-0014: «Геномика Арктики: эпидемиология, наследственность и патология».

Литература

1. Технология гидрогелевых биочипов и ее применение в медицинской лабораторной диагностике/ Д.А. Грядун, Д.В. Зименков, В.М. Михайлович [и др.] // 2009. – Лаборатория. - Т.3 (11). – С. 10-14. А.
2. Hydrogel biochip technology and its application in medical laboratory diagnostics / D.A. Gryadunov, D.V. Zimenkov, V.M. Mikhailovich [et al.] 2009. - Laboratoriya. vol. 3 (11). - P. 10-14. (In Russ.)]
3. Технология гидрогелевых биочипов ИМБ РАН: 30 лет спустя / Д.А. Грядун, Б.Л. Шаскольский, Т.В. Наседкина [и др.] // 2018. – Actae Nature, том 10 No 4 (39).
4. Gryadunov D.A. Technology of hydrogel biochips from the Institute of Biology and Biology, Russian Academy of Sciences: 30 years later / D.A. Gryadunov, B.L. Shaskolsky, T.V. Nasedkina, A.Yu. Rubina, A.S. Zasedatelev // Actae Nature, Volume 10 No 4 (39). - 2018.
5. Павлов А.Е. Молекулярно-генетическая диагностика муковисцидоза в формате микрочипа/ А.Е. Павлов, С.В. Апалько, Е.В. Воробьев // Лаборатория. 2012. – (4): 16-19
6. Pavlov A.E. Molecular genetic diagnostics of cystic fibrosis in microchip format / A.E. Pavlov, S.V. Apalko, E.V. Vorobyev // Laboratory. – 2012. – (4) : 16-19
7. Пузырев В.П. Наследственные болезни якутов / В.П. Пузырев, Н.Р. Максимова // Генетика. 2008. – (44): 1308–1314.
8. Puzyrev V.P. Hereditary diseases in the Yakuts / Puzyrev V.P., Maksimova N.R. // Genetics. – 2008. – (44): 1308-1314.
9. Adriana Lagraset, Current Clinical and Pharmaceutical Applications of Microarrays: From Disease Biomarkers Discovery to Automated Diagnostics / Adriana Lagraset // 2010. – 413JALA: Journal of the Association for Laboratory Automation Vol 15, issue 5, page(s): 405-, 405-413
10. Bejjani B.A., Array-based comparative genomic hybridization in clinical diagnosis/ Bejjani B.A., Theisen A.P., Ballif B.C., Shaffer L.G. //Expert Rev Mol Diagn 2005. – 5(3):421–9.
11. Brynn Lev. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis/ Brynn Lev and Ronald Wapner, //Fertility and Sterility. 2018. – Vol. 109, No. 2, 0015-0282
12. Brynn Levy. Prenatal diagnosis by chromosomal microarray analysis / Brynn Levy and Ronald Wapner, //Fertility and Sterility. 2018. – Vol. 109, No. 2
13. Cao J. The preparation and clinical application of diagnostic DNA microarray for the detection of pathogens in intracranial bacterial and fungal infections/ Cao J, Gao S, Chen J, Zhu B, Min R, Wang P. //Exp Ther Med. 2018. – 16(2):1304-1310
14. Diego Tejedor. Reliable Low-Density DNA Array Based on Allele-Specific Probes for Detection of 118 Mutations Causing Familial Hypercholesterolemia/ Diego Tejedor, Sergio Castillo, Pilar Mozas, Elisa Jiménez, Mónica López, M Teresa Tejedor, Marta Artieda, Rodrigo Alonso, Pedro Mata, Laureano Simón, Antonio Martínez, Miguel Pocovi //Clinical Chemistry, 2005. – Volume 51, Issue 7, Pages 1137–1144
15. Mannick E., Zhiun Liu. Diagnostic microarray for inflammatory bowel disease, crohn's disease and ulcerative colitis / E. Mannick, Zhiun Liu // - 2004. – US20040077020A1
16. Françoise De Longueville, Molecular characterization of breast cancer cell lines by a low-density microarray/ Françoise De Longueville, Marc Lacroix, Anna-Maria Barbuto, Vincent Bertholet, Dominique Gallo, Denis Larsimont, Laurence Marq, Nathalie Zammatté, Sophie Boffe, Guy Leclercq // 2005. – International journal of oncology. Vol. 27 Issue 4, 881-892.
17. Gemma A. Cannon. A low density oligonucleotide microarray for the detection of viral and atypical bacterial respiratory pathogens/ Gemma A. Cannon, Michael J. Carr, Zoe Yandle, Kirsten Schaffer, Rachel Kidney, Ger Hosny, Allen Doyle, John Ryan, Rory Gunson, Terry Collins, William F. Carman, Jeff Connell, William W. // Journal of Virological Methods. 2010. – 163. - P. 17–24
18. He Z. GeoChip: a comprehensive microarray for investigating biogeochemical, ecological and environmental processes / He Z., Gentry T., Schadt C. //2007. – ISME J 1. - P. 67–77
19. Iris Schrijver. Comprehensive arrayed primer extension array for the detection of 59 sequence variants in 15 conditions prevalent among the (Ashkenazi) Jewish population/ Iris Schrijver, Maigi Kulm, Phyllis I. Gardner, Eugene P. Pergament, Morris B. Fiddler //Journal of Molecular Diagnostics. - 2007. – (9): 229-236
20. J.-J. Kang. Detection method for chromosome abnormality and microarray chip/ J.-J. Kang. - 2007. – US20070048742A1
21. Kalsner L. Genetic testing including targeted gene panel in a diverse clinical population of children with autism spectrum disorder: Findings and implications / Kalsner L, Twachtman-Bassett J, Tokarski K, et al. // Mol Genet Genomic Med. - 2018. – 6(2):171-185.
22. Kevin S. McLoughlin, Microarrays for Pathogen Detection and Analysis, Briefings in Functional Genomics/ Kevin S. McLoughlin, //2011. – Volume 10, Issue 6, Pages 342–353
23. Langlois S. Genetics Committee et al. Carrier screening for genetic disorders in individuals of Ashkenazi Jewish descent/ Langlois S., Wilson RD //J Obstet Gynaecol Can. 2006. – (4): p.324-332.
24. Lei Jiang, Comparison of the Performance of Two Commercial Genome-Wide Association Study Genotyping Platforms in Han Chinese Samples./ Lei Jiang, Dana Willner, Patrick Danoy, Huji Xu, Matthew A Brown //G3 Genes Genomes Genetics. - 2013. – Volume 3, Issue 1. P. 23–29
25. Lockhart D.J. Genomics, gene expression and DNA arrays / Lockhart DJ, Winzeler E.A. // Nature. - 2000. – 405(6788):827–36.
26. Manjula Mathur. Development of low-density oligonucleotide microarrays for detecting mutations causing Wilson's disease/ Manjula Mathur, Ekta Singh. // J Med Res. 2015; 141(2): 175–186.
27. Meza-Menchaca, T.A Low-Density Microarray Method for the Identification of Human Papillomavirus Type 18 Variants / Meza-Menchaca, T.; Williams, J.; Rodríguez-Estrada, R.B.; García-Bravo, A.; Ramos-Ligonio, Á.; López-Montes, A.; Zepeda, R.C. // Sensors. - 2013. – 13, 12975-12993.
28. Mikhailovich V.M., DNA microarrays in the clinic: infectious diseases/ Mikhailovich V.M., Gryadunov D.A., Kolchinsky A.M., Makarov A.A. //2008. – Bioessays, v. 30. P. 673-682.
29. Raquel Moure, Characterization of the embB gene in Mycobacterium tuberculosis isolates from Barcelona and rapid detection of main mutations related to ethambutol resistance using a low-density DNA array/ Raquel Moure, Montserrat Español, Griselda Tudó, Eva Vicente, Pere Coll, Julian Gonzalez-Martin, Virginie Mick, Margarita Salvadó, Fernando Alcaide, //Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2014. – Volume 69, Issue 8. - P. 2299–2300
30. R. Natarajan. Mapping histone modifications by DNA microarray/ R. Natarajan // 2007. – US20070292857A
31. Shang, S. Rapid Diagnosis of Bacterial Sepsis with PCR Amplification and Microarray Hybridization in 16S rRNA/ Shang, S., Chen, G., Wu, Y. // Gene. Pediatr Res. - 2005. – 58. – P. 143–148.
32. Shen Y, Wu BL. Microarray-based genomic DNA profiling technologies in clinical molecular diagnostics/ Shen Y, Wu BL. //Clin Chem. - 2009. – 55(4):659–69.
33. SNP microarray-prenatal (Reveal) Labcorp URL: <https://www.labcorp.com/tests/510100/snp-microarray-prenatal-reveal> (дата обращения: 23.01.2021)
34. Steven F. Dobrowski, Newborn screening for hemoglobinopathy by DNA microarray analysis/ Steven F. Dobrowski // 2003. – US20030124581A1
35. Sultankulova, K. New oligonucleotide microarray for rapid diagnosis of avian viral diseases/ Sultankulova, K., Kozhabergenov, N.S., Stochkov, V.M. et al. // Virol J. 2017. – 14, 69.
36. Suratannon N. Rapid Low-Cost Microarray-Based Genotyping for Genetic Screening in Primary Immunodeficiency/ Suratannon N, van Wijck RTA, Broer L, Xue L, van Meurs JBJ, Barendregt BH, van der Burg M, Dik WA, Chatchatee P, Langerak AW, Swagemakers SMA, Goos JAC, Mathijssen IMJ, Dalm VASH, Sindhupetiporn K, Heezen KC, Drabwell J, Uitterlinden AG, van der Spek PJ, van Hagen PM. //Front. Immunol. 2020. – 11:614.
37. Thuluz Meza-Menchaca. A Low-Density Microarray Method for the Identification of Human Papillomavirus Type 18 Variants/ Thuluz Meza-Menchaca, John Williams, Rocio B. Rodríguez-Estrada, Aracely García-Bravo, Ángel Ramos-Ligonio, Aracely López-Montes and Rosana C. Zepeda. //Sensors 2013. – 13, 12975-12993. (29)
38. Varela MA. Heterogeneous distribution of SNPs in the human genome: microsatellites as predictors of nucleotide diversity and divergence / Varela MA, Amos W. //Genomics. - 2010. – 95 (3): 151–9.
39. Wilson R. Opinion for Reproductive Genetic Carrier Screening: An Update for All Canadian Providers of Maternity and Reproductive Healthcare in the Era of Direct-to-Consumer Testing/ Wilson R., De Bie I., Armour C. M. et al. Joint SOGC-CCMG/J Obstet Gynaecol Can. - 2016. –38(8):742-762.e3.
40. Zhu HL. Prediction of chemotherapeutic resistance in serous ovarian cancer with low-density custom microarray/ Zhu HL, Zeng HX, Liang XD, Chang XH, Wang JL, Cui H, Wei LH. //Chin Med J 2020. – 133:871–873.