



Ежегодный конгресс  
Российского общества онкопатологов  
23–24 апреля 2021 года

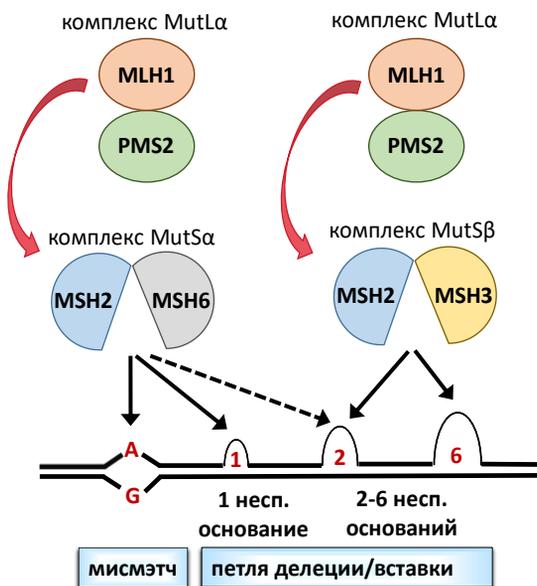
## Старые и новые подходы для выявления микросателлитной нестабильности. Опыт ИХБФМ СО РАН

Филипенко М.Л., зав. лаб. фармакогеномики,  
ИХБФМ СО РАН

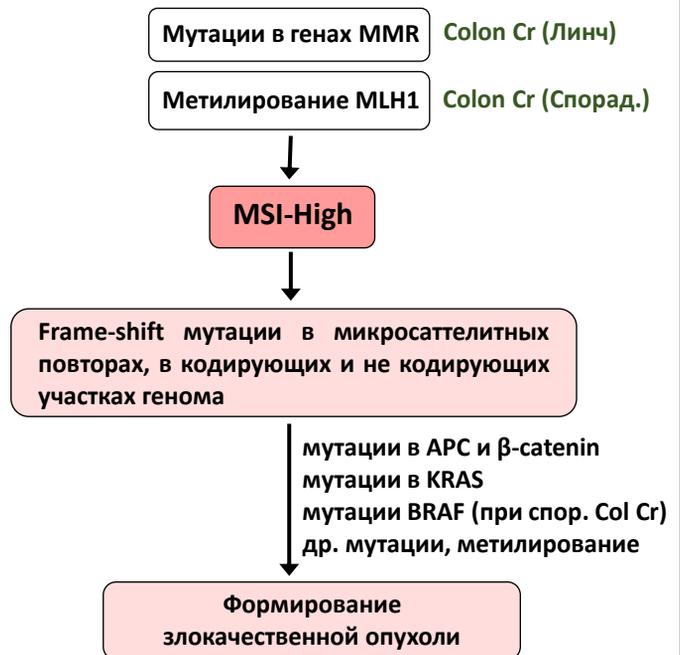
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ  
БИОЛОГИИ И  
ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ



### Репарация неспаренных оснований (MMR)



### Инактивация гена MMR



**Микросателлитные ДНК (microsatellites) – короткие тандемные повторяющиеся последовательности (1-6 н.п.), составляющие до 3% генома человека**

**С мононуклеотидной коровой последовательностью - A**

ATTCTAGCCGC**AAAAAAAAA**CCAGTACTCAGCTAGGTCC  
 9 повторов (allele 9)

**С динуклеотидной коровой последовательностью - GT**

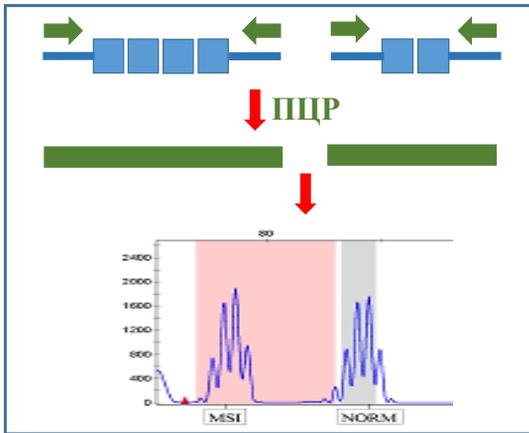
CGACTAGCCAC**GTGTGTGTGTGTGTGTGTGT**TACAGGACTTAGC  
 11 повторов (allele 11)

I L A A K K N Q Y S A R S  
 ATT CTA GCC GCA AAA AAA AAC CAG TAC TCA GCT AGG TCC

**Делеция одной буквы А, сдвиг рамки считывания** ↓

I L A A K K **T S T Q L G**      **Высокая вероятность синтеза иммуногенного пептида!**  
 ATT CTA GCC GCA AAA AAA ACC AGT ACT CAG CTA GGT CC

**Простейший способ анализа количества тандемных повторов – ПЦР и электрофоретический анализ полученных ампликонов (амплифицированных фрагментов ДНК)**



Компания Промега начала выпускать набор для определения MSI с помощью ПЦР и капиллярного электрофореза в 2004 (Suraweera, N. et al. (2002)).

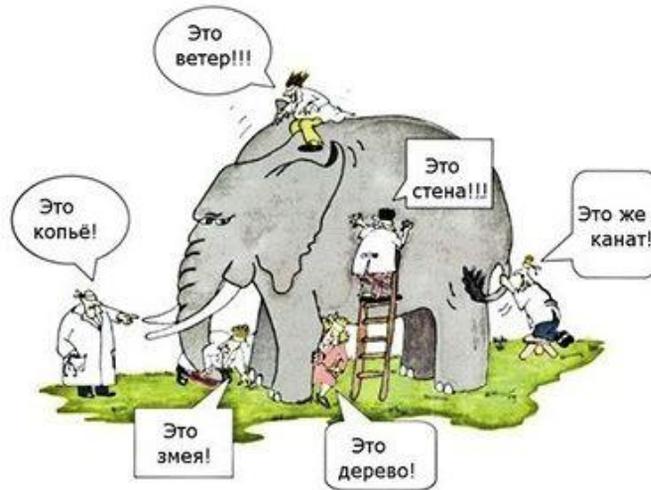
**MSI Analysis System, Version 1.2**  
 Instructions for Use of Product MD1641  
 For Research Use Only. Not for use in diagnostic procedures.  
<https://worldwide.promega.com/>

MSI-NCI – BAT25, BAT26, D5S346, D2S123, D17S250.  
 MSI-Promega – мононуклеотидные повторы BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 и MONO-27) и два пентануклеотидных локуса (Penta C и Penta D).

MSI Набор реагентов CorDis MSI для выявления состояния микросателлитной нестабильности ДНК человека 100 реакций 60 000 руб

<https://gordiz.ru/en/products/medicine/cordis-msi/>

ООО "Гордиз" 143026 г. Москва, территория инновационного центра Сколково, Большой Бульвар, д.42, стр. 1. www.gordiz.ru, gordiz@gordiz.ru, Тел. 8 (499) 670-40-41



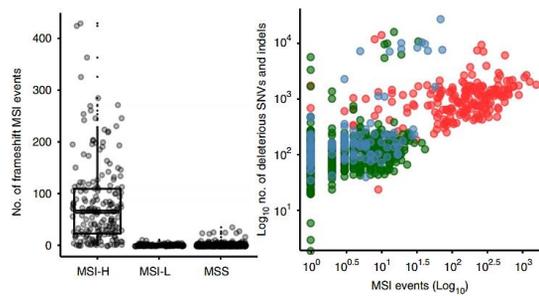
<https://mediamera.ru/post/24401>

Cortes-Ciriano et al., 2017

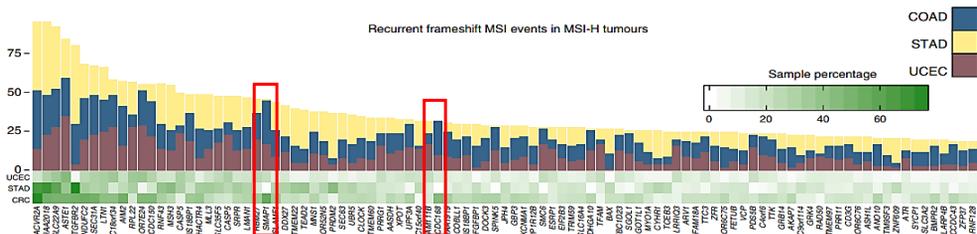
Uterine corpus endometrial carcinoma	UCEC	265	75 (28.3%)
Stomach adenocarcinoma	STAD	292	64 (21.9%)
Colon adenocarcinoma	COAD	271	45 (16.6%)
Rectal adenocarcinoma	READ	76	3; 4* (9.2%)
Adrenal cortical carcinoma	ACC	92	5* (5.4%)
Oesophageal carcinoma	ESCA	183	3; 3* (3.3%)
Ovarian cancer	OV	436	14* (3.2%)
Liver hepatocellular carcinoma	LIHC	375	11* (2.9%)
Cervical squamous cell carcinoma	CESC	305	7* (2.3%)
Breast cancer	BRCA	922	16* (1.7%)
Glioblastoma multiforme	GBM	316	4* (1.3%)
Head and neck squamous cell carcinoma	HNSC	505	6* (1.2%)
Lung squamous cell carcinoma	LUSC	407	5* (1.2%)
Kidney renal clear cell carcinoma	KIRC	377	4* (1.1%)
Pancreatic cancer	PAC	171	2* (1.1%)
Urothelial bladder cancer	BLCA	368	2* (0.8%)
Papillary kidney carcinoma	KIRP	286	2* (0.7%)
Low grade glioma	LGG	514	3* (0.6%)
Prostate adenocarcinoma	PRAD	497	3* (0.6%)
Lung adenocarcinoma	LUAD	482	1* (0.2%)
Cutaneous melanoma	SKCM	109	0* (0%)
Pheochromocytoma and paraganglioma	PHCA	176	0* (0%)
Thyroid cancer	THCA	493	0* (0%)
Total		7,919	281

386 396 микросателлитных локусов в экзоме

19 039 443 MS микросателлитных локусов в геноме



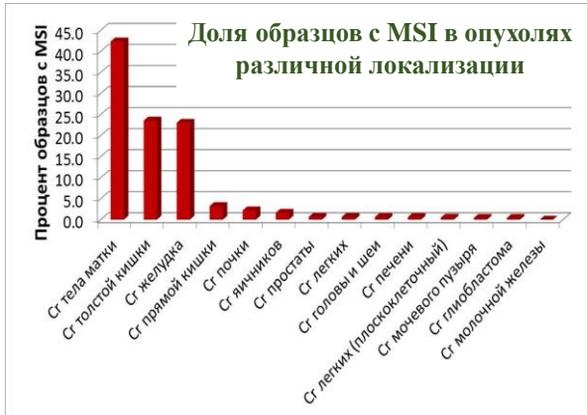
Recurrent frameshift MSI events in MSI-H tumours



## Разработка таргетной NGS панели для оценки статуса MSI

Hause et al. *Nature Medicine* (2016)

Авторы разработали и валидировали MSI-классификатор (MOSAIC): оценка увеличение числа аллелей микросателлитов в ткани опухоли по сравнению с нормальной тканью на основе данных полногеномного и(или) экзомного секвенирования более 5000 опухолей 18-ти различных локализаций (TCGA).

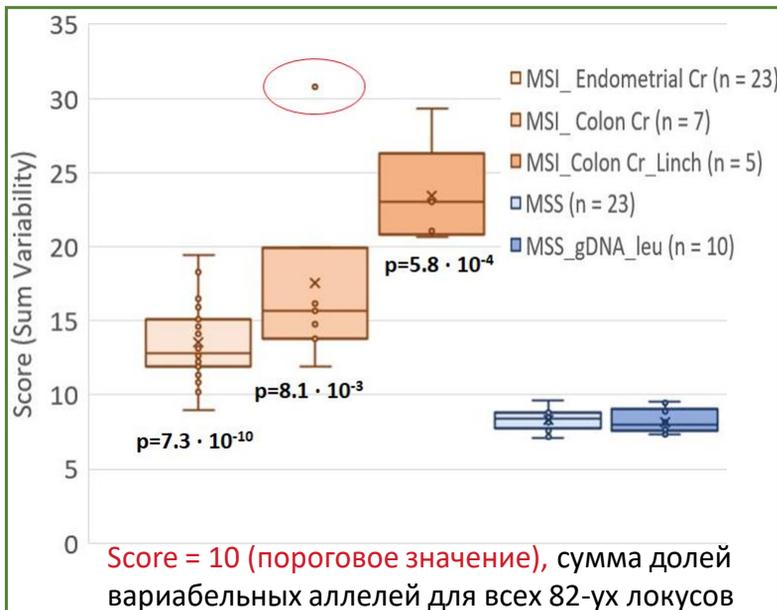


Выбраны 82 локуса, содержащие мононуклеотидные повторы с наибольшей вариабельностью в MSI-H опухолях

Рак толстой кишки MSI-high (22)  
 Рак толстой кишки MSI-high\_Линч+ (5)  
 Рак толстой кишки MSS (84)  
 Рак эндометрия MSI-high (26)  
 Рак эндометрия MSS (32)  
 Геномная ДНК лейкоцитов (10)

Образцы были предоставлены нашими коллегами:  
 Раскин Г.А., НИБС (Санкт-Петербург)  
 Цуканов А.С., ГНЦ Колопроктологии (Москва)  
 Федакин М.Ю., РОНЦ (Москва)

## Результаты тестирования MSI при помощи таргетного NGS



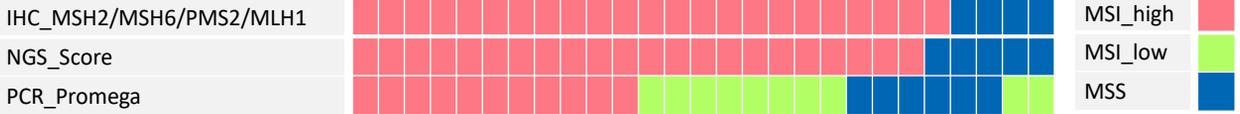
Рак эндометрия:  
 Самая высокая частота MSI по данным TCGA.

Самый низкий MOSAIC-Score (коэффициент на основании вариабельности длин повторов (Ronald J Hause, et al. Nature Medicine 2016)

Stelloo E. et al. Ann Oncol. 2017 - 696 случаев Endometrial Cr. Тестирование при помощи ИГХ и MSI-ПЦР (Promega); ( $\kappa = 0.854$ ,  $P < 0.001$ )

### Результаты тестирования MSI при помощи таргетного NGS

#### Endometrial Cr:

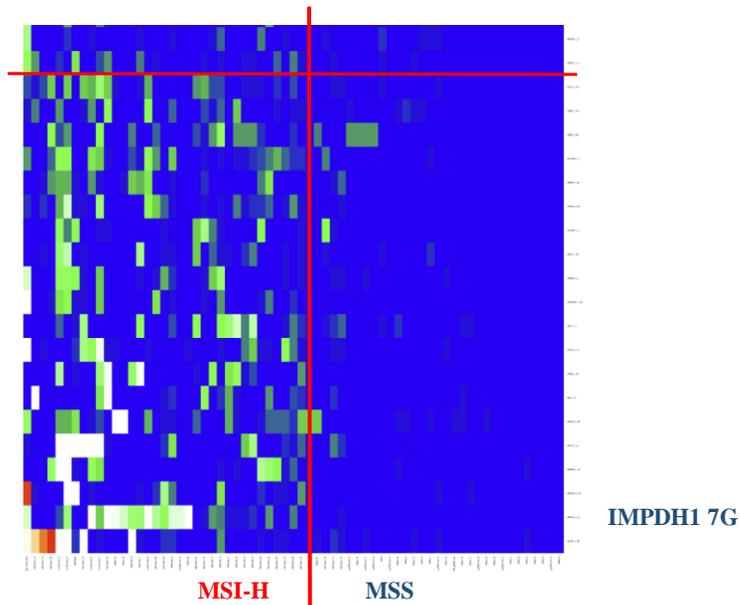


#### Colon Cr:

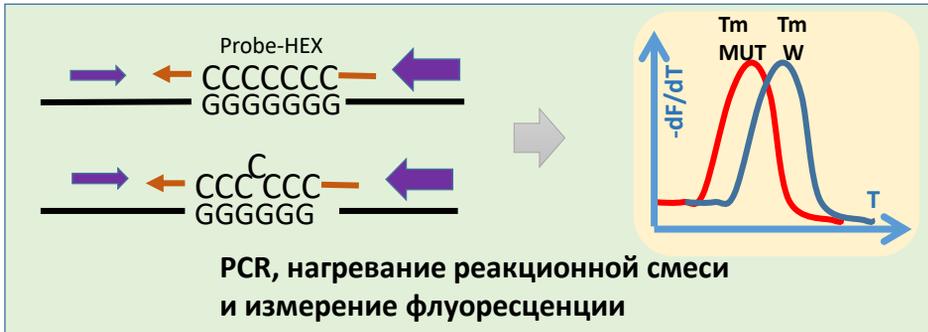


	NGS	ПЦП
Endometrial Cr	0.96	0.60
Colon Cr	100	0.96

### Вариабельность выявления TOP20 маркеров MSI в исследованном наборе образцов



### Анализ кривых плавления специфичных к области микросателлитов флуоресцентных зондов для исследования статуса MSI



<https://www.biocartis.com/meet-idylla/idylla-assays/idylla-msi-test>

CE IVD

Idylla™ MSI Test

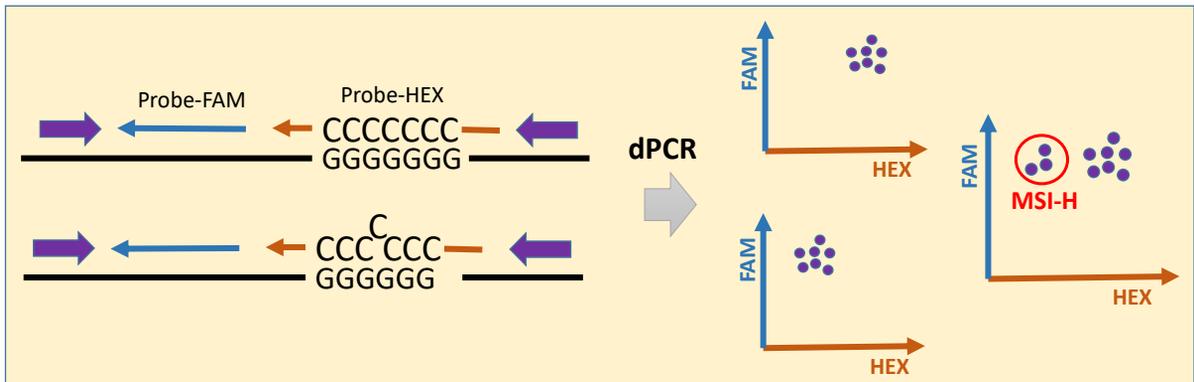
The fully automated Idylla™ MSI Test performs detection of mutations in 7 novel MSI loci

Colorectal Solid

Read more



### Цифровой ПЦР для исследования статуса MSI



5 квазимономорфных MS маркеров (BAT25, BAT26, Mono27, NR21 и NR24) Gilson et al. 2020

3 квазимономорфных MS маркера (BAT-26, ACVR2A, DEFB105A/B) Pécriaux et al., 2020

	NGS MSI-H	NGS MSS
ddPCR MSI-H	20	0
ddPCR MSS	1	16

Чувствительность 95% и 100% при использовании локусов BAT26, IMPDH1, ACVR2A

Классический ПЦР нескольких локусов с последующим капиллярным электрофорезом

**Высоко-производительное секвенирование**

ПЦР нескольких локусов с последующим анализом кривых плавления

**Цифровой ПЦР нескольких локусов**

Спасибо за внимание!

CARICATURA.RU

ВОТ ОНО КАК...

НУ НАДО ЖЕ!



Вскрытие — самая точная область медицины!

Podvitski  
Максим Леонидович  
PODVITSKI.RU

Филипенко Максим Леонидович  
+7 913 9217392, [mfilipenko@gmail.com](mailto:mfilipenko@gmail.com)