

СЕКВЕНИРОВАНИЕ В КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ

В.П. Мудров^{1,2}

¹ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России г. Москва, Россия

²ГБУЗ «МКНИЦ Больница 52 ДЗМ» г. Москва, Россия

Резюме

Секвенирование — общее название методов, позволяющих установить линейный порядок следования компонентов макромолекулы, в частности нуклеотидной последовательности, то есть расшифровка первичной структуры линейных молекул ДНК или РНК. Секвенирование применяется в диагностике редких наследственных болезней, онкогенетике, персонализированной медицине и фармакогенетике, исследованиях инфекционных патогенов и микробиома. Об абсолютном преимуществе молекулярного подхода говорит тот факт, что в отличие от других методов диагностики, ограниченных выявлением исключительно фенотипических аспектов, анализ ДНК, направленный непосредственно на изучение генотипа, является единственным методом, изучающим первичные нарушения (мутации), то есть именно первопричину возникновения болезней. Наибольший интерес представляет не сама последовательность генома, а понимание того, как он функционирует: какие гены обеспечивают жизнедеятельность клетки, как происходит регуляция (включение или выключение генов) или какие генные пути начинают работать в ответ на стрессовые факторы. Эта проблема нашла решение с появлением высокопроизводительного массово-параллельного секвенирования нового поколения (Next Generation Sequencing, NGS), основанного на одновременном прочтении миллионов коротких (до 600 нуклеотидов) фрагментов ДНК. NGS может использоваться в широком спектре клиничко-лабораторной диагностики. У технологий и методов NGS есть как неоспоримые преимущества, так и недостатки. NGS позволяет исследовать весь геном, обеспечивая более полную и подробную генетическую картину, чем традиционные методы секвенирования. NGS может секвенировать миллионы фрагментов ДНК одновременно, что значительно сокращает время, необходимое для генетического анализа. Одной из основных проблем NGS является управление огромным объемом генерируемых данных. Интеграция NGS в повседневную клиническую практику создает проблемы, включая нормативные препятствия, необходимость в стандартизированных протоколах и обеспечение необходимой подготовки врачей для эффективной интерпретации результатов. Понимание и интерпретация результатов NGS является сложной задачей, требующей специальных знаний в области генетики и биоинформатики. Главным итогом развития геномных и постгеномных технологий стало существенное расширение возможностей изучения генетической природы целого спектра заболеваний человека. В связи с этим, изучение механизмов генетической предрасположенности к многофакторным заболеваниям и выявление специфических генетических маркеров сегодня имеет особенную актуальность.

Ключевые слова: секвенирование, NGS, биоинформатика.

DOI: 10.58953/15621790_2025_16_1-2_13

SEQUENCING IN CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

V.P. Mudrov^{1,2}

¹FGBOU DPO RMANPO of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

²GBUZ "MCSRC Hospital 52 DHM" Moscow, Russia

Summary

Sequencing is a common name for methods that allow the establishment of the linear order of components in a macromolecule. Specifically, it refers to nucleotide sequencing, which decodes the primary structure of linear DNA and RNA molecules. This process is used for the diagnosis of rare hereditary diseases, oncogenetics, personalized medicine and pharmacogenomics. It is also used for studying infectious pathogens and microbiomes. The absolute advantage of molecular approaches is demonstrated by the fact that DNA analysis directly studies genotypes and is the only way to study primary disorders (mutations), which are the root causes of disease, better than other diagnostic methods, which are limited to phenotypic aspects. This includes the genome sequence, which is not the cause of disease, but rather an understanding of how it functions. It includes which genes are responsible for vital cell activity, how gene regulation occurs, and which gene pathways are activated in response to stress. The problem was solved by the development of

high-throughput massively parallel sequencing technologies such as NGS (next-generation sequencing). NGS reads millions of short DNA fragments, up to 600 nucleotides long, simultaneously. NGS has wide-ranging applications in clinical and laboratory diagnostics and has both advantages and disadvantages. NGS allows us to examine the entire genome, providing a more comprehensive and detailed genetic picture compared to traditional sequencing methods. It can sequence millions of DNA fragments at once, significantly reducing time required for genetic analysis. However, one of the main challenges is managing the vast amount of data produced. Integrating NGS into everyday clinical practice presents challenges, including regulatory obstacles, the need for standardised protocols, and the provision of necessary training for doctors to interpret results accurately. Understanding and interpreting the results of NGS is a complex task requiring specialised knowledge in genetics and bioinformatics. The primary outcome of the development of genome-wide and post-genome technologies has been a substantial expansion in the possibilities for investigating the genetic basis of a wide variety of human illnesses. In this respect, research into the mechanisms of hereditary predisposition to multi-factorial diseases and identification of specific genetic indicators is particularly pertinent today.

Keywords: sequencing, NGS, bioinformatics.

Введение

Секвенирование — общее название методов, позволяющих установить линейный порядок следования компонентов макромолекулы (аминокислоты в белке, нуклеотиды в ДНК и РНК, моносахариды в полисахаридах и др.) [1]. Секвенирование нуклеиновых кислот (НК) или определение их нуклеотидной последовательности — расшифровка первичной структуры линейных молекул ДНК или РНК, состоящих из последовательности нуклеозид-трифосфатов: дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ, УТФ [2,3].

В результате секвенирования получают формальное описание первичной структуры линейной макромолекулы в виде последовательности мономеров в текстовом виде. Размеры секвенируемых участков ДНК обычно не превышают 100–1000 пар нуклеотидов. В результате секвенирования перекрывающихся участков ДНК получают последовательности участков генов, целых генов, тотальной мРНК или её части, полного генома организма.

Несмотря на то, что одни и те же гены есть у каждого человека, тем не менее они имеют варианты одного и того же гена (полиморфизм гена). Отличие между мутациями и полиморфизмом довольно условно: когда один из вариантов нуклеотидных последовательностей участка ДНК выявляется более чем у 1% людей в популяции и не приводит к развитию заболевания, это называется полиморфизмом, если же менее 1% или с высокой вероятностью приводит к болезни — мутацией. Полиморфизмы в генах могут изменить структуру белков и повлиять на функциональные показатели. Отдельные однонуклеотидные полиморфизмы, вариации копийности генов, инсерции или делеции (индел) и структурные перестройки в ДНК могут быть причиной возникновения различных наследственных, онкологических, аутоиммунных и других заболеваний [1,4,16].

Стремительно развивающиеся новые технологии молекулярно-генетических исследований позволяют

быстро и эффективно определять особенности организмов на уровне их геномов. Эта проблема нашла решение с появлением высокопроизводительного секвенирования (секвенирование нового поколения, Next Generation Sequencing, NGS). Секвенирование применяется в диагностике редких наследственных болезней, онкогенетике, персонализированной медицине и фармакогенетике, исследованиях инфекционных патогенов и микробиома [5–8]. Метагеномное NGS может идентифицировать любые инфекционные патогены: бактерии, грибки, вирусы, паразиты [9].

Технологии секвенирования

Наибольший интерес представляет не сама последовательность генома, а понимание того, как он функционирует: какие гены обеспечивают жизнедеятельность клетки, как происходит регуляция (включение или выключение генов) или какие генные пути начинают работать в ответ на стрессовые факторы. Высокопроизводительное секвенирование (секвенирование нового поколения, массовое параллельное секвенирование, Next Generation Sequencing, NGS) — общее название для ряда различных методов, позволяющих проводить одновременное (в одной реакции) определение последовательностей нуклеиновых кислот [2]. Принцип NGS основан на одновременном секвенировании миллионов коротких (до 600 нуклеотидов) фрагментов ДНК, что дало ему название «массово-параллельное» секвенирование (Рис. 1).

В настоящее время существует несколько технологий NGS, все они позволяют «прочитать» одновременно сразу несколько участков генома, что и является их главным отличием от более ранних методов секвенирования, включая секвенирование по Сэнгеру. Методы рекомбинантной ДНК создали предпосылку для разработки новых, более точных и информативных, методов молекулярной диагностики с большей разрешающей способностью (Рис. 2).

Рабочие процессы различных технологий секвенирования включают три этапа [3,10,11]:

- 1) подготовка матрицы, включая экстракцию нуклеиновых кислот;
- 2) подготовка библиотеки¹, включая клональную амплификацию;
- 3) секвенирование и выравнивание коротких фрагментов.

Секвенирование по Сэнгеру основано на синтезе новой комплементарной ДНК-цепи на ДНК-матрице с помощью фермента ДНК-полимеразы. Синтез проводится в 4-х разных пробирках с реакционной смесью из праймера, стандартных дезоксирибонуклеотидов, а также малого количества одного из четырёх меченых дидезоксирибонуклеотидов. У дидезоксирибонуклеотидов отсутствует 3'-гидроксильная группа, поэтому после их включения в цепь дальнейший синтез обрывается. Таким образом, в каждой пробирке образуется набор фрагментов ДНК разной длины, которые заканчиваются одним и тем же нуклеотидом. После завершения реакции проводится разделение ДНК методом электрофореза в полиакриламидном геле в денатурирующих условиях и проводят автордиографию гелей. На сегодняшний день секвенирование ДНК по Сэнгеру полностью автоматизировано. Результаты анализируют с помощью компьютерных программ и представляют в виде последовательности разноцветных пиков, соответствующих четырём нуклеотидам. Секвенаторы такого типа могут «прочитать» за один раз последовательности длиной 500–1000 нуклеотидов.

В циклическом лигазном секвенировании на первом этапе целевая ДНК разрезается на небольшие фрагменты, а затем к фрагментам пришиваются короткие нуклеотидные последовательности адаптеры A1 и A2. В итоге в библиотеке оказываются одноцепочечные нуклеотидные последовательности A1-(фрагмент ДНК)-A2. После этого проводят ПЦР ДНК-фрагментов

Цели высокопроизводительного массово-параллельного секвенирования нового поколения (NGS)

Высокопроизводительное секвенирование (NGS)



Рисунок 1.

Эволюция методов секвенирования (адаптировано по [3])



Рисунок 2.

библиотеки в небольших каплях (цифровая ПЦР). Каждая капля содержит праймеры P1 и P2, которые являются комплементарными по отношению к фрагментам A1 и A2. В результате в капле оказывается по одной цепочке ДНК комплементарной исходному образцу. Секвенирование проходит с помощью лигирования восьминуклеотидных зондов, меченных на 5'-конце одним из четырех различных флуорофоров. На выходе мы получаем результаты в формате флуоресценции. Пространство цветов и пространство нуклеотидов содержат по 4 элемента. Каждый цвет кодирует собой 4 из 16 возможных динуклеотидов. Например, «синий»

¹Библиотека в секвенировании – специально подготовленный набор фрагментов ДНК, готовый к анализу с помощью секвенаторов. Каждый фрагмент помечен специальными метками – адаптерами

цвет флуоресцентной метки соответствует паре одинаковых нуклеотидов (то есть АА, GG, ТТ или СС). Дизайн матрицы преобразований цвета способствует коррекции ошибок.

Метод пиросеквенирования основан на синтезе новой ДНК-цепи на иммобилизированной анализируемой матрице с участием полимеразы. В качестве затравки выступает праймер. Затем происходит поочерёдное добавление каждого типа дезоксинуклеотидтрифосфатов (А, G, C, T). При встраивании нуклеотида стехиометрически высвобождается побочный продукт — пирофосфат. Он, в свою очередь, с участием фермента АТФ-сульфуриказы в присутствии аденозин-5'-фосфосульфата превращается в АТФ — источник энергии для фермента люциферазы, превращающей люциферин в оксильюциферин с выделением света. Компьютерная программа осуществляет детекцию и анализ света. Невовлечённые в синтез нуклеотиды и АТФ под воздействием фермента апиразы распадаются, после чего запускается следующий цикл реакции, с новым нуклеотидом.

Ионное полупроводниковое секвенирование (Ion semiconductor sequencing или Ion torrent sequencing) основано на обнаружении ионов водорода, выделяемых во время полимеризации ДНК. Микролунки, содержащие предназначенную для секвенирования молекулу матричной ДНК, наполняют дезоксирибонуклеотидтрифосфатом (dNTP) одного вида. Если введенный dNTP является комплементарным к ведущему нуклеотиду матрицы, он включается в растущую комплементарную цепь. Это вызывает высвобождение ионов водорода, вызывающего срабатывание ионного датчика, который указывает, что реакция произошла. Если в последовательности матричной цепи присутствует повтор одного нуклеотида, несколько молекул dNTP будут присоединены в одном цикле. Это приводит к увеличению количества образовавшихся ионов водорода и пропорционально более высокому электрическому сигналу. Технология отличается от других технологий секвенирования тем, что не использует модифицированные нуклеотиды и оптические датчики. Технология ионного полупроводникового секвенирования позволяет исследовать большие объёмы данных: транскриптомы отдельных клеток и тканей, метагеномы микробных сообществ, малые РНК.

Одномолекулярное секвенирование определяет последовательность ДНК при наблюдении за работой единичной молекулы ДНК-полимеразы в реальном времени, используя нуклеотиды, меченные различными флуорофорами. Метод секвенирования позволяет получать длинные прочтения порядка десятков тысяч нуклеотидов без предварительной амплификации

образца посредством ПЦР с минимальным количеством исходной ДНК.

Бисульфитный метод — группа методов, основанных на определении паттерна метилирования ДНК посредством бисульфитной обработки. Под воздействием бисульфита остатки цитозина превращаются в остатки урацила, но при этом не затрагиваются метилированные остатки 5-метилцитозина. Далее изменённая последовательность сравнивается с исходной, цитозины и тимины разделяются в изученных последовательностях, и можно определить метилированные динуклеотиды.

Алгоритм работы NGS-секвенаторов

Общий алгоритм работы большинства современных NGS-секвенаторов включает фрагментирование ДНК, привязку к субстрату, амплификацию фрагментов с помощью ПЦР (в методе одномолекулярного секвенирования удалось отказаться от ПЦР) и последующее считывание последовательности НК. В отличие от метода секвенирования по Сэнгеру, современные платформы обеспечивают параллельное проведение миллиардов реакций в малых объемах, что позволяет в результате получить намного больший объем информации.

Генетические анализаторы-секвенаторы различаются по ряду характеристик:

- Длина прочтений: короткие, средние, длинные (Рис. 1).
- Применяемая технология: по методу Сэнгера, пиросеквенирование, ионное полупроводниковое секвенирование, циклическое лигазное секвенирование, секвенирование на молекулярных кластерах с использованием флуоресцентно меченых нуклеотидов, одномолекулярное секвенирование.
- Число прочтений за запуск.
- Количество анализируемых одновременно маркеров.
- Время исследования.
- Стоимость прибора, одного запуска прибора, анализа одной пробы.

Применение секвенирования в лабораторной диагностике

Об абсолютном преимуществе молекулярного подхода говорит тот факт, что в отличие от других методов диагностики, ограниченных выявлением исключительно фенотипических аспектов, анализ ДНК, направленный непосредственно на изучение генотипа, является единственным методом, изучающим первичные нарушения (мутации), то есть именно первопричину возникновения болезней [1].

Наследственную природу имеет около 10% онкопатологий. Генетический тест помогает определить объем дополнительных исследований и составить персональную программу управления онкологическими рисками.

NGS привела к появлению нового процесса, известного как обратное фенотипирование, при котором данные о генетических маркерах используются для определения новых фенотипов. Сочетание NGS и анализа сегрегации может выявить патогенный вариант в гене, который ранее не считался причиной заболевания или был связан с другим фенотипом. В таких случаях ретроспективная клиническая интерпретация данных пациента и членов его семьи может выявить дополнительные характеристики, которые ранее не были распознаны.

В связи с этим были определены задачи секвенирования в лабораторной диагностике:

- обнаружение неизвестных ранее последовательностей НК, например, геномов нового типа;
- распознавание уникальных особенностей конкретного образца среди обобщенной последовательности (ресеквенирование);
- исследование генетического разнообразия, в том числе однонуклеотидных замен (SNP-типирование);
- определение эпигенетических модификаций, например, профиля метилирования;
- изучение профиля экспрессии отдельно взятых клеток секвенированием комплементарной ДНК, полученной из тотальной мРНК клетки.

Эти задачи решаются следующими подходами к исследованию генома:

полногеномное секвенирование позволяет обнаружить почти все изменения в ДНК пациента, расшифровывая последовательность всех кодирующих и некодирующих областей [1]. Результат исследования — информация о тысячах генов, участвующих в нормальном росте и развитии организма;

мономолекулярное секвенирование отличается от других платформ исключительно большой длиной прочтений, до 100 тысяч оснований;

методы секвенирования нового поколения (NGS) позволяют «прочитать» одновременно сразу несколько участков генома, что отличается от более ранних методов секвенирования. Производительность некоторых секвенаторов позволяет сканировать индивидуальный геном человека всего за несколько дней [11];

хромосомный микроматричный анализ основан на использовании микроматриц — специальных чипов с фиксированными на них маленькими участками ДНК, соответствующими различным областям генетического кода человека. Для анализа используют два вида генетического материала — самого пациента и стандарт-

ный шаблон, соответствующий здоровому человеку;

профилирование транскриптома позволяет оценивать, какие гены активны и участвуют в синтезе белка в данный момент. По тому, что это за белки и какова их функция, можно сделать вывод, какие функции выполняет клетка в целом.

Разнообразные методы исследования генома дали возможности клинической лабораторной диагностики различных клинических направлений: в педиатрии, онкологии, сердечно-сосудистых, инфекционных и аутоиммунных заболеваний.

При планировании беременности можно выявить риски течения беременности. Исследование скрытого носительства генов наследственных (рецессивных) заболеваний выявляет какие именно дефектные гены есть в геноме родителей [5]. В этом случае можно рассчитать риски заболеваний у детей или применить такие репродуктивные технологии, которые помогут рождению здорового ребенка. При подозрении на хромосомную патологию или конкретное наследственное (генетическое) заболевание с целью неонатального скрининга (выявление заболевания до появления симптомов, своевременного начала лечения во избежание инвалидизации ребенка) в России проводится скрининг новорожденных для выявления наследственных заболеваний: фенилкетонурия, врожденный гипотиреоз, муковисцидоз и др.

Выявление предрасположенности к развитию рака молочной железы и яичников можно оценить по мутациям в генах BRCA, NRAS, KRAS, BRAF. Анализ ДНК опухолевых клеток позволяет выявить степень злокачественности опухоли и подобрать необходимую персонализированную терапию [6].

Важнейшее значение генетическим исследованиям принадлежит в диагностике первичных иммунодефицитов. В иммунологических исследованиях NGS широко применяется для глубокого анализа индивидуального разнообразия репертуаров антител и Т-клеточных рецепторов (клональность лимфоцитов), высокопроизводительного HLA-типирования и полногеномного анализа для изучения аутоиммунных и наследственных заболеваний.

Оценка генетического риска сердечно-сосудистых заболеваний позволяет пациенту вместе с лечащим врачом создать для себя карту профилактики заболевания с рекомендациями по изменению образа жизни и контролируемые показатели здоровья с учетом рисков и назначенного врачом лечения [12].

Генетическое исследование предрасположенности к заболеваниям выдается с указанием варианта гена, выявленного у пациента и пояснениям по проявлениям и профилактике тех состояний, которые могут быть

обусловлены имеющимися вариантами генов. Сложные результаты секвенирования генома или экзона выдаются с заключениями биоинформатика, предоставляемыми врачу-генетику для взвешенной оценки выявленных особенностей генома [1,10].

У технологий и методов NGS есть как неоспоримые преимущества, так и недостатки [13].

Преимущества тестирования NGS:

- комплексный анализ: NGS позволяет исследовать весь геном, обеспечивая более полную и подробную генетическую картину, чем традиционные методы секвенирования;
- скорость и эффективность: NGS может секвенировать миллионы фрагментов ДНК одновременно, что значительно сокращает время, необходимое для генетического анализа;
- точность и чувствительность. Благодаря высокому разрешению NGS может обнаруживать даже небольшие генетические вариации, что делает его невероятно точным инструментом для генетических исследований и диагностики;
- экономическая эффективность: по мере развития технологий стоимость NGS снизилась, что сделало комплексный генетический анализ более доступным;
- универсальность: NGS может использоваться для широкого спектра применений, от клинической диагностики до сельскохозяйственных исследований, демонстрируя свою универсальность.

Проблемы тестирования NGS:

- перегрузка данных. Одной из основных проблем NGS является управление огромным объемом генерируемых данных. Для этого необходимы надежные инструменты биоинформатики и опыт анализа данных;
- сложность интерпретации данных. Понимание и интерпретация результатов NGS может быть сложной задачей, требующей специальных знаний в области генетики и биоинформатики;
- контроль качества. Обеспечение качества и точности результатов NGS имеет решающее значение, а это означает, что на протяжении всего процесса тестирования необходимы строгие меры контроля качества;
- проблемы этики и конфиденциальности. Как и любое генетическое тестирование, NGS поднимает вопросы о конфиденциальности, безопасности данных и этичном использовании генетической информации;
- интеграция в клиническую практику. Интеграция NGS в повседневную клиническую практику создает проблемы, включая нормативные препятствия, необходимость в стандартизированных протоколах и обеспечение необходимой подготовки врачей для эффективной интерпретации результатов.

Расшифровка результатов генетического анализа

Важным аспектом исследования генома становится расшифровка результатов генетического анализа. Расшифровка и аннотация (маркировка генов и других объектов в нуклеотидной последовательности) генома человека поставили вопрос об использовании генетической информации как для диагностики заболеваний и их долговременного прогнозирования у человека, так и для исследования популяционной структуры сообществ, этногенеза и эволюционных процессов.

Для обработки и интерпретации больших объемов информации о геномах, белковых структурах, экспрессии генов и метаболических путях применяется биоинформатический анализ. Крупномасштабные биологические проблемы, связанные с анализом больших объемов данных, позволяет решить биоинформатика, включающая в себя изучение и разработку компьютерных методов, направленных на получение, анализ, хранение, организацию и визуализацию биологических данных. Биоинформатика — междисциплинарная область, объединяющая общую биологию, молекулярную биологию, кибернетику, генетику, химию, компьютерные науки, математику и статистику для анализа биологических данных.

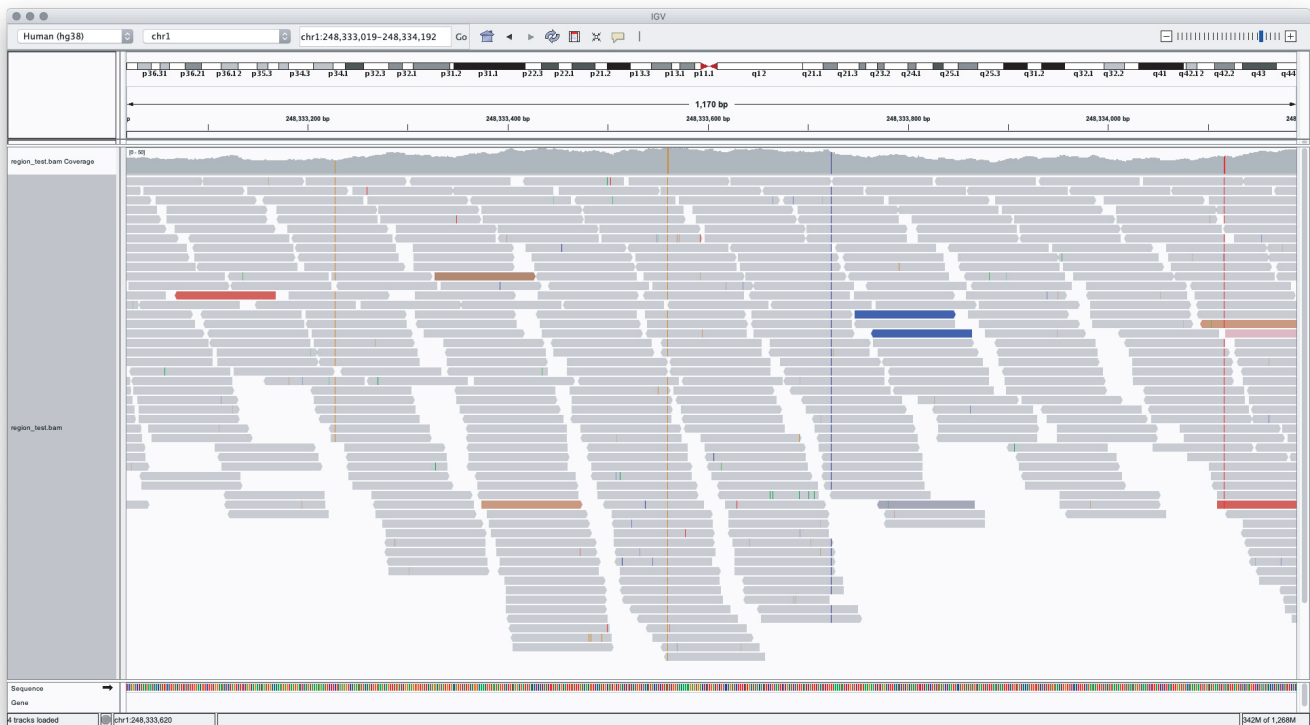
На данный момент существует уже несколько поколений методов секвенирования ДНК. Однако новые технологии бессмысленны без алгоритмов, способных обработать их результаты. Постоянно возникающие новые методы секвенирования ставят всё новые алгоритмические задачи. Одной из важнейших таких задач является сборка генома.

Полученные в результате секвенирования последовательности каждого фрагмента ДНК называются прочтениями (риды, *англ. reads*). Данные секвенирования и показатели качества их прочтения хранятся в текстовом формате на таких ресурсах: FASTQ — maq.sourceforge.net; SAM — samtools.github.io; VCF — samtools.github.io [14]. С использованием специального программного обеспечения (например, *Burrows-Wheeler aligner*) происходит поиск места на референсном геноме, которому соответствует риды. Процесс называется картированием или выравниванием генома. Референсный геном — это искусственно собранная последовательность ДНК биологического вида. Большинство последовательностей, из которых собран референсный геном человека, были взяты у одного человека Африкано-Европейского происхождения. Референсный геном регулярно обновляется.

Прочтение вместе с информацией о положении в геноме записывается в файл формата SAM или BAM, визуализация картированных на геном ридов

Рисунок 3.

Визуализация BAM файла в программе IGV. Картированные прочтения (риды) обозначены горизонтальными блоками, позиция указана в треке сверху [15]



в SAM (BAM) файле проводится с помощью геномного браузера IGV (Рис. 3). Любую позицию в референсном геноме покрывает несколько выровненных ридов (прочтенных участков), что характеризует глубину прочтения (depth of coverage). Значение усредняется по всему геному и используется как показатель качества исследования. Увеличение глубины прочтения значительно увеличивает стоимость секвенирования, точность определения генетических вариаций и используется в онкологических исследованиях.

Биоинформатический анализ проводится по следующему алгоритму:

- сопоставление показателей секвенирования с эталонным (референсным) геномом человека;
- варианты, присутствующие у человека в показателях к секвенированию;
- аннотирование этих вариантов с соответствующей информацией;
- фильтрация и определение приоритетных вариантов, которые могут вызвать патологическое состояние.

Заключение

Секвенирование и его модификации открыли новые возможности для молекулярной диагностики. Многие клинические лаборатории уже используют технологию NGS для выявления этиологически значимых генети-

ческих вариантов наследственных заболеваний, для геномного профилирования прецизионной онкологии, обнаружения патогенов при инфекционных заболеваниях и др. Метод NGS особенно полезен для выявления труднодиагностируемых, редких и новых патогенов.

Главным итогом развития геномных и постгеномных технологий стало существенное расширение возможностей изучения генетической природы целого спектра заболеваний человека. Масштабные ассоциативные исследования на больших клинических выборках позволяют получать данные о генетических характеристиках, присущих конкретным группам людей (семьям, популяциям), развивая методы персонализированной медицины. В связи с этим изучение механизмов генетической предрасположенности к многофакторным заболеваниям и выявление специфических генетических маркеров сегодня имеет особенную актуальность.

Список литературы

1. *Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство / под ред. Долгова В.В., Годкова М.А., Вавиловой Т.В.. – 2-е изд., доп. и перераб. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2025. – 672 с.*
2. *Сперанская А.С.. Секвенирование Next Gen // Молекулярная диагностика инфекционных болезней. Под ред. Покровского В.И., Твороговой М.Г., Шипулина Г.А.. – М.: Рипол Классик, 2018. – С. 145–171.*

3. Steward K., Gkazi S.A. Next-Generation Sequencing (NGS): Definition and Overview // Technology networks. Genomics Research <https://www.technologynetworks.com/genomics/articles/next-generation-sequencing-ngs-definition-and-overview-346532> (Дата обращения 28.06.2025).
4. Медицинская генетика: национальное руководство / под ред. Гинтера Е.К., Пузырева В.П., Куцева С.И.. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2022. – 896 с.
5. Jezkova J., Shaw S., Taverner N., Williams H. Rapid genome sequencing for pediatrics // Hum Mutat. – 2022. – Vol. 43. – P. 1507–1518. DOI: 10.1002/humu.24466
6. Ghoreyshi N., Heidari R., Farhadi A. et al. Next-generation sequencing in cancer diagnosis and treatment: clinical applications and future directions // Discov Oncol. 2025 Apr 20;16(1):578. DOI: 10.1007/s12672-025-01816-9.
7. Moyer A., Black J. Pharmacogenomic testing in the clinical laboratory: historical progress and future opportunities // Ann Lab Med. – 2025. – Vol.45. – P. 247–258. DOI: 10.3343/alm.2024.0652
8. Liao Y., Gong J., Wang X. et al. Applying nanopore sequencing in the etiological diagnosis of bloodstream infection //Front Microbiol 2025 Feb 13;16:1554965. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1554965. eCollection 2025
9. Ying L., Yongjun M. Clinical applications of metagenomics next-generation sequencing in infectious diseases // J Zhejiang Univ Sci B. – 2024. – Vol.25. – P. 471–484. DOI: 10.1631/jzus.B2300029
10. Временное руководство по внедрению NGS-тестирования в практику клинко-диагностических лабораторий ДЗМ: методические рекомендации / составители: Латыпова М.Ф., Цибин А.Н., Комаров А.Г. и др. – М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», 2023. – 107 с.
11. Mandlik J., Patil A., Singh S. Next-Generation Sequencing (NGS): platforms and applications // J Pharm Bioallied Sci. – 2024. – Vol.16 (Suppl 1). – P. 41–45. DOI: 10.4103/jpbs.jpbs_838_23
12. Lin M., Guo J., Gu Z. et al. Machine learning and multi-omics integration: advancing cardiovascular translational research and clinical practice // J Transl Med. 2025 Apr 2;23(1):388. DOI: 10.1186/s12967-025-06425-2.
13. Zhong Y., Xu F., Wu J. et al. Application of next generation sequencing in laboratory medicine // Ann Lab Med. – 2021. – Vol.41. – P. 25–43. DOI: 10.3343/alm.2021.41.1.25
14. Crawford D., Cooke Bailey J. Briggs F. Mind the Gap: Resources required to receive, process, and interpret research-returned whole genome data // Hum Genet. – 2019. – Vol.138. – P. 691–701. DOI: 10.1007/s00439-019-02033-5
15. Что такое Полный геном и зачем он нужен? // <https://habr.com/ru/companies/atlasbiomed/articles/479602/> (дата обращения: 25.06.2025.)
16. Скворцов С.В., Казаков С.П. Полимеразная цепная реакция в клинко-диагностической практике многопрофильных лечебных учреждений / Под общей редакцией заместителя главного специалиста по лабораторному делу МО РФ полковника медицинской службы Суслова Л.С.. – Москва: Главный военный клинический госпиталь им. Бурденко Н.Н., 2000. – 50 с. – EDN: UXBTNN.