

Szanowni Państwo!

Przedstawiamy Państwu grudniowe wydanie newslettera OpenExome, w którym chcemy zaszykalizować, że technologia Sekwencjonowania Następnej Generacji (NGS) przychodzi z pomocą badaczom pracującym z kopalnym DNA i starającym się poznać historię wymarłych gatunków. Wyniki analiz materiału genetycznego, który pochodzi ze znalezisk paleontologicznych czy archeologicznych są jednymi z podstawowych dowodów pozwalających weryfikować hipotezy o pochodzeniu gatunków oraz tych dotyczących historii współczesnego świata ożywionego. Natomiast nieustannie optymalizowane przez badaczy metody pracy ze zdegradowanym DNA pozwalają już na analizę techniką NGS nawet śladowych ilości i niedoskonałej jakości materiału genetycznego, otwierając tym samym nowe możliwości np. paleomikrobiologom czy specjalistom z dziedziny kryminalistyki laboratoryjnej.

Godne uwagi wydarzenie z ostatnich dni, które znalazło odzwierciedlenie w mediach branżowych, to uznanie przez Amerykańską Agencję ds. Żywności i Leków (FDA) technologii sekwencjonowania następnej generacji oraz systemu MiSeq Dx jako pożądanego dla rozwoju nowoczesnej diagnostyki klinicznej oraz medycyny spersonalizowanej.

W drugim dziale newslettera informujemy Państwa o nowych rozwiązaniach oferowanych przez partnerów handlowych OpenExome, jak również informujemy o wycofywanych właśnie ze sprzedaży produktach. Natomiast na końcu newslettera tradycyjnie umieszczamy kalendarium konferencji i seminariów związanych tematycznie z biologią molekularną, genetyką medyczną i bioinformatyką.

Życzymy przyjemnej lektury, czekając jednocześnie na Państwa komentarze i sugestie na temat treści kolejnych wydań naszego periodyku.

Zespół OpenExome

Ciekawe doniesienia literaturowe

Genomy zwierząt żyjących w epoce plejstocenu opisywane dzięki NGS

Wyniki analiz DNA pozyskanego ze znalezisk archeologicznych stanowią nieocenione źródło informacji dla paleobiologów. Jednak analiza kopalnego DNA nastręcza wielu trudności, ponieważ właściwego wyizolowanego materiału jest niewiele oraz zazwyczaj jest on silnie zdegradowany.

Elastyczność zastosowań, jaką daje technologia NGS oraz determinacja badaczy w opracowaniu i optymalizowaniu protokołów pracy z kopalnym DNA na potrzeby przygotowania bibliotek do sekwencjonowania zaowocowały już szeregiem przełomowych wyników. Mamy tu na myśli kolejne prace opisujące genom mitochondrialny lub sekwencję DNA jądrowego gatunków ssaków, które żyły w epoce środkowego plejstocenu. Uzyskane wyniki pomogły szerzej i z dużym prawdopodobieństwem nakreślić drzewa filogenetyczne m.in. niedźwiedzi jaskiniowych oraz rodzaju *Equus* z rodziny koniowatych.

Zachęcamy Państwa do lektury publikacji autorstwa Ludovica Orlando i współpracowników, która ukazała się w czerwcu 2013 na łamach *Nature*. Grupa naukowców z Centrum GeoGenetics przy Muzeum Historii Naturalnej Uniwersytetu w Kopenhadze zdołała przeprowadzić sekwencjonowanie genomu konia, który wg szacunków żył przed 560-780 tysiącami lat, a jego kości zachowały się w wiecznej zmarzlinie. Na uwagę zasługuje fakt, że uzyskana sekwencja najstarszego jak dotąd genomu ssaka osiągnęła parametr pokrycia sekwencji wynoszący aż 1,12x.

Fakty i wydarzenia

[FDA rekomenduje sekwenator MiSeq Dx](#)

[Mapa instalacji Illumina w Polsce](#)

[Seminaria on-line](#)

[Konferencje w Polsce](#)

[Konferencje zagraniczne](#)

Produkty - ważne informacje

[Epicentre katalog produktów dla biologów molekularnych](#)

[Wycofane produkty z oferty Illumina](#)

[Nextera XT - nowy protokół do badań metagenomicznych](#)



Wykorzystując ten sam protokół postępowania z materiałem kopalnym badacze z centrum GeoGenetics opisali sekwencję innych "młodszych" genomów - przedstawicieli koniowatych: konia żyjącego w późnym plejstocenie, *Equus ferus caballus*, konia Przewalskiego oraz osła domowego. Szczegółowe porównania genomów pozwoliły wyciągnąć liczne wnioski na temat drogi ewolucyjnej koniowatych od okresu plejstocenu oraz historii udomowienia przedstawicieli tej rodziny. Osoby zainteresowane pracą z kopalnym DNA nie powinny również przeoczyć artykułu opublikowanego (dwa miesiące temu na łamach PNAS) przez zespół kierowany przez dr Matthiasa Meyera z Instytutu Antropologii Ewolucyjnej im. Maxa Plancka.

Naukowcy z Lipska zdołali opisać kompletny genom mitochondrialny niedźwiedzia jaskiniowego, którego datowane na 300 tysięcy lat szczątki odnaleziono w jaskini Sima de los Huesos w północnej Hiszpanii. Spektakularnym sukcesem dr Meyera i współpracowników jest opracowanie metody izolacji DNA, które uległo znacznej degradacji, a następnie wydajne przygotowanie i sekwencjonowanie biblioteki obejmującej nawet 30-50 nukleotydowe fragmenty badanego materiału. Opracowany przez niemieckich badaczy protokół pozwoli zapewne niebawem zrekonstruować sekwencję jądrowego DNA tego zwierzęcia.



Wspomniany protokół izolacji DNA oraz przygotowania biblioteki przyjdzie też z pomocą osobom pracującym z DNA pochodzącym z kopalin pozyskanych ze stanowisk archeologicznych, w których panują "niekorzystne dla integralności DNA" warunki środowiska.

Źródła:

- Pubmed - PMID: 23803765
- Pubmed - PMID: 22516743
- Pubmed - PMID: 24019490
- GenomeWeb, 09.09.2013

Paleobiologia: Genom prątka trądu - biomarkery zachowane od średniowiecza po współczesność

Pozostając w temacie posługiwania się nowoczesnymi technologiami biologii molekularnej podczas śledzenia ścieżki ewolucyjnej organizmów żyjących setki lat temu i obecnie, polecamy Państwu sięgnięcie do publikacji autorstwa Vareny Schuenemann i współpracowników z Instytutu Archeologii Uniwersytetu w Tybindze. Praca ukazała się w Science w czerwcu tego roku i opisano w niej wyniki projektu mającego na celu porównanie sekwencji DNA prątka trądu izolowanych ze szczątków osób cierpiących na trąd i zmarłych w średniowieczu (5 prób ze szczątków identyfikowanych w różnych rejonach Europy) oraz szczepów bakterii *Mycobacterium leprae* występujących współcześnie (11 szczepów pozyskanych od pacjentów z różnych rejonów świata). Autorzy pracy zwracają uwagę na fakt silnej konserwacji pewnej grupy biomarkerów tego patogenu na przestrzeni 1000 lat.

Źródło:

- Pubmed - PMID: 23765279

MiSeqDx jako pierwszy system NGS uzyskał akredytację amerykańskiej FDA

Zezwolenie amerykańskiej Agencji ds. Leków i Żywności (FDA) na stosowanie w diagnostyce klinicznej wysokoprzepustowej platformy sekwencjonowania następnej generacji (MiSeqDx Illumina) jest obecnie szeroko opisywane i komentowane. Wśród rozmaitych informacji prasowych na szczególną uwagę zasługuje artykuł autorstwa dyrektora amerykańskiego Narodowego Instytutu Zdrowia (NIH) Francisa S. Collinsa zamieszczony w październikowym wydaniu "The New England Journal of Medicine".

Dr Collins opisuje krótko rozwój technik i technologii, które na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat pozwoliły na szczegółowy wgląd w genom pacjentów i wskazuje na platformę NGS, która w ciągu niespełna 10 lat od pierwszych prób sekwencjonowania zdołała powszechnie wkroczyć do laboratoriów genetycznych rewolucjonizując diagnostykę medyczną. Autor pracy podaje argumenty, którymi FDA kierowała się przyznając akredytację sekwencjonatorowi MiSeqDx oraz wyraża nadzieję, że ta nowoczesna technologia spowoduje dynamiczny rozwój w obszarze farmakodynamiki. Amerykańscy eksperci ds. zdrowia publicznego zakładają, że dzięki upowszechnieniu diagnostyki genetycznej spersonalizowana terapia nie będzie już rzadkością w klinikach. Dr Collins podkreśla, że technologia NGS jest młoda i stosowanie jej w praktyce medycznej wymaga szczególnej ostrożności od wszystkich diagnostów, konsultantów i lekarzy zaangażowanych stawianie diagnozy oraz dobór celowanych terapii dla indywidualnych pacjentów.

W publikacji entuzjazm wobec nieograniczonych możliwości opracowywania kolejnych testów genetycznych studzony jest świadomością konieczności opracowania i opisanie zestawu ludzkich genomów referencyjnych oraz jasnych ścieżek postępowania w analizie wyników uzyskanych przy użyciu technologii NGS. Ponadto dr Collins pisze o konieczności dopracowania regulacji prawnych, które będą chroniły pacjentów. Wprawdzie w Stanach Zjednoczonych obowiązują dwa ustanawiane na przełomie XX i XXI wieku akty prawne (HIPPA, GINA), jednak nie przewidują one wszystkich konsekwencji jakie mogą wiązać się z poznawaniem, przechowywaniem i udostępnianiem informacji na temat sekwencji genomu indywidualnych osób.

Źródła:

- Pubmed - PMID: 24251383
- [Oświadczenie Dyrekcji NIH ws. dopuszczenia przez FDA sekwenatora następnej generacji do stosowania w praktyce klinicznej](#)

Informacje od partnerów OpenExome

illumina

Epicentre - doskonałej jakości odczynniki do biologii molekularnej

Mamy ogromną przyjemność poinformować Państwa, że z początkiem grudnia 2013 oferta naszej firmy poszerza się o grupę odczynników do biologii molekularnej produkowanych przez należącą do grupy Illumina, firmę Epicentre. Producent odczynników w swej ponad 25 letniej działalności wyspecjalizował się w narzędziach do zaawansowanych technik pracy z kwasami nukleinowymi i zdobył uznanie klientów na całym świecie. Szczególniej Państwa uwadze polecamy wysokiej klasy produkty do:

- Izolacji kwasów nukleinowych
- Klonowania
- PCR oraz RT-PCR
- Badań DNA/RNA roślin i zwierząt
- Przygotowania prób do sekwencjonowania NGS
- Analizy ekspresji genów



Kompletna lista produktów Epicentre oraz opisy odczynników dostępne są na stronie producenta. Zapraszamy do przejrzania [katalogów tematycznych](#).

Wycofanie produktów do qPCR z katalogu Illumina

Z przykrością informujemy, że firma Illumina zdecydowała o wycofaniu ze swojej oferty produktów do ilościowej PCR. Systemy Eco podobnie jak odczynniki z serii NuPCR dedykowane do analizy ekspresji genów techniką real-time PCR będą dostępne jedynie do końca 2013 roku. Jednocześnie Illumina zapewnia użytkownikom tych produktów o utrzymaniu wsparcia technicznego oraz serwisu przez kolejne 5 lat. Oficjalny komunikat dostępny jest [na stronie internetowej producenta](#).

Protokół do badań metagenomicznych - sekwencjonowanie 16S rRNA w systemie MiSeq

Illumina udostępniła właśnie uaktualnioną wersję protokołu dedykowanego do analiz metagenomicznych. Jest to dokument opisujący ścieżkę postępowania zalecaną podczas celowanego sekwencjonowania wysoce zmiennych regionów V3 i V4 16S rRNA. Protokół zakłada prowadzenie dwustopniowej reakcji PCR (pierwsza reakcja pozwala na przygotowanie będących obiektem zainteresowania amplikonów, druga - na wyznaczenie amplikonów z poszczególnych prób specyficznymi sekwencjami indeksującymi w celu prowadzenia analizy typu multipleks). Producent na etapie przygotowania biblioteki DNA do sekwencjonowania poleca pracę z zestawem odczynników Nextera XT. Protokół zoptymalizowano do pracy w systemie MiSeq z wykorzystaniem odczynników wersji 3 (MiSeq Reagent Kit v3). A dla uzyskania właściwych parametrów reakcji sekwencjonowania Illumina zaleca 5% dodatek PhiX Control v3 (dobrze scharakteryzowanej biblioteki kontrolnej) do bibliotek analizowanych prób. Protokół można pobrać [tutaj](#).

Polecamy Państwa uwadze także następujące dokumenty:

- [MSR Metagenomic Workflow Reference Guide](#)
- [Metagenomic Workflow Quick Reference Card](#)
- [Third-party Analysis Software and Utilities Tech Note](#)

Sage Science

W ostatnich miesiącach ukazały się kolejne publikacje naukowe, których autorzy docenili zalety zautomatyzowanych elektroforetycznych systemów selekcji DNA. Aparaty z serii Pippin oferowane przez Sage Science usprawniają proces przygotowania bibliotek DNA do sekwencjonowania użytkownikom systemów NGS. Lista publikacji dostępna jest [tutaj](#).

Polska mapa instalacji systemów Illumina

Szanowni Państwo, mapa instalacji systemów Illumina, której stworzenie zaplanowaliśmy wspólnie podczas Sympozjum Użytkowników Illuminy, jest już gotowa.

Potrzebujemy teraz Państwa pomocy, aby narzędzie stało się w pełni funkcjonalne. W związku z tym, w najbliższym czasie, zespół OpenExome zwróci się do Państwa z prośbą o wypełnienie krótkiego formularza i wyrażenie zgody na opublikowanie na naszej stronie internetowej informacji na temat posiadanego przez Państwa sprzętu, profilu laboratorium i podstawowych danych kontaktowych. Informujemy jednocześnie, że dla Państwa komfortu, dostęp do pełnych danych, na których publikację wyrażą Państwo zgodę, będzie wymagał rejestracji.

Mamy nadzieję, że wprowadzane narzędzie okaże się przydatne dla wszystkich obecnych i przyszłych użytkowników systemów Illuminy, ułatwiając Państwu wzajemny kontakt i wymianę doświadczeń aplikacyjnych.

Przypominamy o terminach zbliżających się ...

... seminariów on-line (tzw. webinarów) prowadzonych przez specjalistów aplikacyjnych firmy Illumina:

Illumina proponuje bezpłatne szkolenia on-line dotyczące prowadzenia badań z wykorzystaniem technologii sekwencjonowania następnej generacji oraz mikromacierzy. W grudniu zespół Illumina Technical Support przewiduje następujące tematy:

- Prowadzenie analiz z wykorzystaniem MiSeq – przygotowanie bibliotek i workflow
- Wprowadzenie do sekwencjonowania RNA
- Kontrola jakości bibliotek do sekwencjonowania i rozwiązywanie ewentualnych problemów
- Ocena przebiegu i jakości reakcji sekwencjonowania z wykorzystaniem Sequence analysis Viewer (SAV)

Uczestnictwo w seminariach (webinarach) Illumina wymaga dostępu do internetu oraz aktywnego połączenia telefonicznego (połączenie bezpłatne). Aby wziąć udział w danym seminarium należy dokonać wcześniej rejestracji drogą elektroniczną. Kompletną listę październikowych seminariów oraz linki rejestracyjne znajdziecie Państwo na stronach OpenExome oraz Illumina:

<http://www.openexome.pl/nawosci/wiadomosci/13-seminaria-internetowe-illumina.html>

<http://support.illumina.com/training/array.ilmn>

<http://support.illumina.com/training/sequencing.ilmn>

... konferencji i sympozjów w Polsce:

Szkoła Jesienna Studium Medycyny Molekularnej

"High Throughput Genomic and Transcriptomics Technologies in Biomedicine"

04-06.12.2013. Warszawa, Instytut Biologii Doświadczalnej PAN

[program spotkania](#)

[rejestracja uczestników](#)

Przeszłość i przyszłość diagnostyki laboratoryjnej:

diagnostyka molekularna i genetyczna

17.01.2014. Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej UM we Wrocławiu

[link](#)

CrimeLab - III Międzynarodowe Targi Techniki Kryminalistycznej

12-14.03.2014. Warszawa

[link](#)

... konferencji zagranicznych:

2nd RNA-Seq Europe 2013

03-05.12.2013. Bazylea, Switzerland

[link](#)

Clinical Genomics & Informatics Europe

04-06.12.2013. Lisbon, Portugal

[link](#)

Translational Bioinformatics Workshop

09-13.12.2013. London, UK

[link](#)

Fundamentals of Clinical Genomics

14-17.01.2014. Hixton, Cambridge, UK

[link](#)

Omics meets Cell Biology: Applications to human Health and Disease

18-23.02.2014. Taos, New Mexico, USA

[link](#)

Podziękowanie za udział w listopadowych Dniach Aplikacyjnych Illumina

12-13 listopada w Warszawie odbyły się współorganizowane przez firmy OpenExome i Analytik Pierwsze Dni Aplikacyjne Illumina. Warsztaty spotkały się z dużym zainteresowaniem zarówno początkujących jak i doświadczonych użytkowników systemów MiSeq, HiSeq oraz HiScanSQ. Założeniem spotkania było zgromadzenie społeczności pracującej z systemami NGS Illumina, a tym samym stworzenie okazji do wymiany doświadczeń na temat prowadzenia badań wykorzystujących tę technologię. Przerwy pomiędzy ciekawymi prezentacjami przedstawiciele polskiego środowiska naukowego oraz wystąpieniami specjalistów z firmy Illumina sprzyjały licznyom dyskusjom w kularach.



Wszystkim uczestnikom pierwszej edycji Dni Aplikacyjnych Illumina dziękujemy za przybycie i jednocześnie serdecznie zachęcamy Państwa do zgłaszania (na adres community@openexome.pl) tematów, które chcielibyście Państwo omówić podczas kolejnych edycji spotkań z tego cyklu.

