

## Szanowni Państwo!

Technologie wysokoprzepustowe stają się obiektem zainteresowania klinicystów i diagnostów na całym świecie. Po uzyskaniu [rekomendacji FDA](#) i dopuszczenia do stosowania w praktyce klinicznej pierwszego sekwenatora następnej generacji na rynku pojawia się coraz więcej paneli genowych dedykowanych do identyfikacji zmian genetycznych przypisywanych kreślonym schorzeniom. Z tego względu w marcowym wydaniu newslettera chcieliśmy zwrócić Państwa uwagę na coraz powszechniejsze wykorzystanie technologii sekwencjonowania następnej generacji w praktyce klinicznej. W pierwszym dziale naszego periodyku przedstawiamy listę interesujących prac przeglądowych, które ukazały się w ciągu ostatnich kilkunastu miesięcy i są poświęcone tej tematyce.

W kolejnych działach newslettera informujemy o najnowszych produktach i rozwiązaniach proponowanych przez partnerów OpenExome oraz przypominamy o zbliżających się konferencjach naukowych i seminariach.

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

Zespół OpenExome

## Lista artykułów przeglądowych ...

### ... poświęconych wykorzystaniu technologii NGS w diagnostyce nowotworów

Prezentujemy listę prac przeglądowych traktujących o stosowaniu technologii NGS w identyfikacji zmian genetycznych związanych z określonymi schorzeniami onkologicznymi. Przygotowaliśmy poniższe zestawienie dla zebrania aktualnej wiedzy na temat tej wysokoprzepustowej technologii oraz z zamiarem zachęty do zastanowienia się nad konsekwencjami ich stosowania. Autorzy cytowanych poniżej artykułów wskazują poparte wynikami fakty, porównują dostępne na rynku platformy do sekwencjonowania i oceniają ich skuteczność. Dyskutują również kwestie opracowania bioinformatycznego danych uzyskanych z analiz NGS, a także wskazują na dylematy etyczne wynikające z możliwości uzyskania ogromnej puli informacji płynących z sekwencji genomu pacjenta.

Next generation sequencing and its application in deciphering head and neck cancer. Jessri M i Farah CS. *Oral Oncol.* (2014); 50: 247-253

PMID: 24440145

An emerging place for lung cancer genomics in 2013. Daniels MG i wsp. *J Thorac Dis.* (2013); 5: S491-S497.

PMID: 24163742

Molecular testing in oncology: Problems, pitfalls and progress. O'Brien CP i wsp. *Lung Cancer* (2014); 83: 309-315.

PMID: 24472389

Animal Models to Study the Mutational Landscape for Oral Cavity and Oropharyngeal Cancers. Spiotto MT i wsp. *J Oral Maxillofac Res.* (2013); 1: 4e1

PMID: 24422024

Design of targeted, capture-based, next generation sequencing tests for precision cancer therapy. Hagemann IS i wsp. *Cancer Genet.* (2013); 206: 420-431.

PMID: 24388712

Clinical application of amplicon-based next-generation sequencing in cancer. Chang F i Li MM. *Cancer Genet.* (2013); 206: 413-419.

PMID: 24332266

## Produkty - ważne informacje

[NeoPrep Library Prep System](#)

[Odczynniki v4 do sekwenatora HiSeq](#)

[Online Sample Prep Troubleshooter](#)

[Skuteczna deplecja rRNA: Ribo-Zero i RNAMatchMaker](#)

[SNPtrace Panel - nowe rozwiązania dla banków tkanek i komórek](#)

Technical and implementation issues in using next-generation sequencing of cancers in clinical practice. Ulahannan D I *wsp.* Br J Cancer. (2013); 109: 827-35.

PMID: 23887607

Translating next generation sequencing to practice: opportunities and necessary steps. Kamalakaran S I *wsp.* Mol Oncol. (2013); 7: 743-55.

PMID: 23769412

Translational utility of next-generation sequencing. Ong FS *i wsp.* Genomics (2013); 102: 137-9.

PMID: 23631825

Are results of targeted gene sequencing ready to be used for clinical decision making for patients with acute myelogenous leukemia? Rao AV *i* Smith BD. Curr Hematol Malig Rep. (2013); 8(2): 149-55.

PMID: 23595294

A genomic view of mosaicism and human disease. Biesecker LG *i* Spinner NB. Nat Rev Genet. (2013); 14(5): 307-20.

PMID: 23594909

Ethical, legal, and counseling challenges surrounding the return of genetic results in oncology. Lolkema MP *i wsp.* J Clin Oncol. (2013); 31: 1842-8.

PMID: 23589552

Next-generation sequencing: a powerful tool for the discovery of molecular markers in breast ductal carcinoma in situ. Kaur H1 *i wsp.* Expert Rev Mol Diagn. (2013); 13: 151-65.

PMID: 23477556

Beyond microRNA--novel RNAs derived from small non-coding RNA and their implication in cancer. Martens-Uzunova ES *i wsp.* Cancer Lett. (2013); 340: 201-11.

PMID: 23376637

Whole genome profiling and other high throughput technologies in lymphoid neoplasms-current contributions and future hopes. Campo E. Mod Pathol. (2013); 26 Suppl 1: S97-S110.

PMID: 23281439

Analyzing the cancer methylome through targeted bisulfite sequencing. Lee EJ *i wsp.* Cancer Lett. (2013); 340: 171-8.

PMID: 23200671

Identifying molecular drivers of gastric cancer through next-generation sequencing. Liang H *i* Kim YH. Cancer Lett. (2013); 340: 241-6.

PMID: 23178814

Next-generation sequencing in the clinic: promises and challenges. Xuan J *I wsp.* Cancer Lett. (2013); 340(2): 284-95.

PMID: 23174106

From targets to targeted therapies and molecular profiling in non-small cell lung carcinoma Thomas A *i wsp.* Ann Oncol. (2013); 24: 577-85.

PMID: 23131389

Research and clinical applications of cancer genome sequencing. Ku CS *i wsp.* Curr Opin Obstet Gynecol. (2013); 25: 3-10.

PMID: 23108289

Next generation sequencing reveals genetic landscape of hepatocellular carcinomas. Li S *i* Mao M. Cancer Lett. (2013); 340: 247-53.

PMID: 23063663



### Illumina

#### NeoPrep - system do automatycznego przygotowywania bibliotek NGS

Na lato 2014 Illumina zapowiada premierę urządzenia NeoPrep Library Prep System dedykowanego do automatycznego przygotowywania bibliotek NGS. Aparat pozwoli na jednoczesną pracę z 16 próbkami zapewniając wysoce powtarzalny protokół przygotowania bibliotek oraz wymagając niewielkiego nakładu pracy manualnej.

Aby zapewnić użytkownikom wygodę pracy doświadczalnej NeoPrep Library Prep System jest zintegrowany z oprogramowaniem BaseSpace, a zestawy odczynników NeoPrep są w pełni kompatybilne ze wszystkim typami sekwenatorów Illumina. Wychodząc od 1 µg RNA/DNA można będzie przygotowywać próby wg protokołów zestawów do przygotowania bibliotek w tym tych najbardziej popularnych z serii TruSeq i Nextera.

Kolejne bardziej szczegółowe informacje na temat systemu NeoPrep będą sukcesywnie umieszczane na stronie [producenta](#).



#### HiSeq SBS Kit v4 and HiSeq Cluster Kit v4 niebawem w sprzedaży

Kolejna zapowiedź Illumina dotyczy najnowszej wersji odczynników do prowadzenia procesów klastrowania i właściwego sekwencjonowania w systemie HiSeq. Producent niebawem rozpocznie sprzedaż zestawów odczynników HiSeq SBS Kit v4 oraz HiSeq Cluster Kit v4. Pozwolą one użytkownikom na zwiększenie przepustowości urządzenia, tak aby podczas jednej reakcji (1 run) można było zsekwencjonować:

- 10 genomów
- 150 bibliotek Nextera Rapid Capture
- 80 transkryptomów

Odczynniki wersji v4 pozwolą na uzyskanie do 1 terabajta danych w ciągu 6-dni (do 500 Gb w jednej flow cel). W porównaniu do TruSeq SBS v3 zestawy v4 zapewnią wzrost ilości klastrów o 33%. Więcej informacji na stronie [producenta](#).

#### Online Sample Prep Troubleshooter

Użytkowników zestawów do przygotowywania bibliotek NGS zachęcamy do korzystania z poradnika on-line. Po zalogowaniu się na stronie producenta znajdziecie Państwo opis najczęściej pojawiających się problemów oraz podpowiedzi jak je zdiagnozować, a następnie rozwiązać. Polecamy następujące poradniki:

[Nextera DNA troubleshooting guide](#)  
[TruSeq DNA PCR-Free LT troubleshooting guide](#)  
[TruSeq DNA PCR-Free HT troubleshooting guide](#)

### Epicentre

#### Ribo-Zero specyficzne gatunkowo zestawy do deplecji rRNA

Linia produktów Ribo-Zero to złoty standard do wzbogacania bibliotek w kodujące i niekodujące RNA na skutek usunięcia (deplecji) rybosomalnego RNA z próby. W zestawach Ribo-Zero producent stosuje opracowane i zoptymalizowane sondy specyficzne do sekwencji rRNA danego gatunku. rRNA hybryduje ze specyficzną dla siebie biotynylowaną sondą, a następnie produkty takiej hybrydyzacji są wyłapywane przez opłaszczoną strapatydyną kulki magnetyczne. Dzięki wykorzystaniu statywów magnetycznych rRNA pozostaje unieruchomione w „pelecie” kulek magnetycznych, natomiast w próbce pozostają pożądane frakcje RNA. Wyjściowym materiałem do wzbogacania prób w sekwencje kodujące i nie kodujące jest preparat całkowitego RNA w ilości 1-5 µg.

Zestawy Ribo-Zero zapewniają usunięcie rybosomalnego RNA ze skutecznością co najmniej 99% z prób izolowanych z komórek lub tkanek gatunków docelowych dla danego zestawu, przy czym mogą być także efektywnie używane do deplecji rRNA innych gatunków. Dla ułatwienia wyboru odpowiedniego zestawu do danego projektu transkryptomycznego producent przygotował przewodnik dostępny [tutaj](#).

### **RNAMatch Maker - wyszukiwarka pomocna w doborze odczynników do RNA-Seq organizmów innych niż modelowe**



Czy zestaw Ribo-Zero Gold (Human/Mouse/Rat) pozwoli na wydajną deplecję rRNA z próby izolowanej z tkanek delfina, pajęczaków lub aligatora? Zamiast ryzykować i kupować produkt niedopasowany do organizmu, którego dotyczy Państwa projekt badawczy, zachęcamy do korzystania z wyszukiwarki RNAMatchMaker przygotowanej przez firmę Epicentre. RNAMatchMaker na podstawie sekwencji rRNA danego organizmu pozwoli dobrać taki rodzaj zestawu Ribo-Zero, który zapewni najsilniejsze powinowactwo sond do sekwencji rybosomalnych, a tym samym zagwarantuje skuteczność usuwania cząsteczek rRNA z próby.

Wystarczy wejść na stronę <http://www.epibio.com/rnamatchmaker> wpisać w okienku wyszukiwarki sekwencję rRNA (w formacie FASTA) lub podpiąć plik zawierający tę sekwencję i w ciągu kilkunastu-kilkudziesięciu sekund zostanie zweryfikowana kompatybilność dostępnych zestawów Ribo-Zero z rRNA określonego organizmu. RNAMatchMaker to oszczędność czasu (odpowieź generowana jest niemal natychmiast bez konieczności konsultowania z działem technicznym producenta) i wydatków (nie ma obawy przed kupnem nieodpowiedniego zestawu do deplecji rRNA) oraz pewność poprawności działania jeszcze przed rozpoczęciem właściwego doświadczenia.

### **Fluidigm**

#### **SNPtrace™ Panel for Sample ID and QC**

Przedstawiamy SNPtrace Panel narzędzie pomocne w prowadzeniu banków komórek i tkanek, pozwalające na oznaczenie zestawu 96 polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) dla każdej z prób. Dobór SNP do panelu został wykonany przez dr Andrew Brooksa z Rutgers University Cell and DNA Repository i uwzględnia rejony sekwencji znane z wysoce polimorficznych mutacji pozwalające na ocenę zanieczyszczenia próbki obcym DNA, identyfikację próbki czy określenie płci.

Zaleca się aby genotypowanie z wykorzystaniem panelu SNPtrace było prowadzone w systemie BioMark HD lub EP1 przy wykorzystaniu chipów Dynamic Array 96.96 IFC. Czas analizy dla 96 prób nie przekracza 4 godzin i wymaga jedynie 15 minut pracy ręcznej. Zatem SNPtrace Panel wydaje się być doskonałym narzędziem dla banków tkanek i repozytoriów materiału genetycznego. Pozwala on w niedługim czasie i w sposób kosztowo efektywny przeanalizować tysiące prób. Zainteresowanym polecamy stronę z opisem zestawów do [genotypowania SNP](#).

## **Przypominamy o terminach zbliżających się ...**

### **... praktycznych dwudniowych szkoleń prowadzonych w Cambridge**

Istnieje możliwość uczestniczenia w odpłatnych szkoleniach praktycznych prowadzonych przez trenerów z firmy Illumina. W najbliższym czasie planowana jest kolejna edycja kursu **"MiSeq: Making Sense of My Data"** w terminie 14-15 maja 2014.

Obok wprowadzenia teoretycznego obejmującego postawy technologii sekwencjonowania przez syntezę (SBS), zasadę działania sekwenatora, reguły planowania doświadczeń pod konkretne aplikacje oraz pierwotną analizę uzyskanych wyników, uczestnicy szkolenia wykonują praktyczne ćwiczenia z wykorzystaniem systemu MiSeq. Zachęcamy do wzięcia udziału w szkoleniu.

### **... seminariów on-line (tzw. webinars) prowadzonych przez specjalistów aplikacyjnych firmy Illumina**

Illumina prowadzi szkolenia on-line dotyczące prowadzenia badań z wykorzystaniem technologii sekwencjonowania następnej generacji oraz mikromacierzy. W drugiej połowie marca zespół Illumina Technical Support przewiduje następujące tematy:

- ocena jakości danych z mikromacierzy Infinium oraz custom iSelect BeadChips z wykorzystaniem programu GenomeStudio
- ocena przebiegu i jakości reakcji sekwencjonowania z wykorzystaniem Sequence analysis Viewer (SAV)
- demultipleksowanie sekwencji po reakcji sekwencjonowania
- wprowadzenie do sekwencjonowania RNA

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

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

### ... konferencji i sympozjów w Polsce:

**Szkoła Wiosenna Studium Medycyny Molekularnej**  
**Kurs teoretyczny: FROM GENE TO PHENOTYPE - Advances in Molecular Medicine**  
17-19.03.2014. Warszawa  
[link](#)

**IX Multidyscyplinarna Konferencja Nauki o Leku**  
12-14.05.2014. Korytnica k/Szydłowa, Hotel Cztery Wiatry  
[link](#)

**X Międzynarodowe Sympozjum "Genetyka Ilościowa Roślin Uprawnych"**  
03-06.06.2014. Jugowice  
[link](#)

**VII Zjazd Polskiego Towarzystwa Genetyki Człowieka**  
08-11.09.2014. Bydgoszcz, Opera Nova  
[link](#)

**Kongres BIO 201 - współorganizowany przez Polskie Towarzystwa Naukowe: Biochemiczne, Biologii Komórki, Biofizyczne i Bioinformatyczne**  
09-12.09.2014. Warszawa, kampus UW przy ul. Krakowskie Przedmieście 26/28  
[link](#)

### ... konferencji zagranicznych:

**Mobile Genetic Elements and Genome Evolution**  
09-14.03.2014. Santa Fe, New Mexico, USA  
[link](#)

**Big Data in Biology**  
23-25.03.2014. San Francisco, California, USA  
[link](#)

**NGS 2014**  
31.03-03.04.2014. Oxford, UK  
[link](#)

**Epigenetic Programming and Inheritance**  
06-10.04.2014. Taos, Boston, Massachusetts, USA  
[link](#)

**Human Genome Meeting 2014. Human genome variation and human health**  
27-30.04.2014. Geneva, Switzerland  
[link](#)

**Bio-IT World 2014**  
29.04-01.05.2014. Boston, Massachusetts, USA  
[link](#)

**The 2nd Plant Genomics Congress**  
12-13.05.2014. London, UK  
[link](#)

**Single Cell Analysis 2014**  
12-13.05.2014. Cambridge, Massachusetts, USA  
[link](#)

## OpenExome i Illumina na targach laboratoryjnych EuroLab / CrimeLab

W dniach 12-14 marca firmy Analytik oraz OpenExome były wystawcami podczas XXI Międzynarodowych Targów Analitik i Technik Pomiarowych oraz III Targów Techniki Kryminalistycznej. Dużym zainteresowaniem cieszył się wykład naszego gościa specjalnego, pani Nicoli Oldroyd (Illumina). Prezentacja była poświęcona wykorzystaniu technologii NGS w genetyce sądowej, a poprzedzało ją wprowadzenie do metodyki SBS omówione przez pana Radosława Wójtowicza (OpenExome). Pani Nicola Oldroyd przedstawiała możliwości, które oferuje sekwencjonowanie następnej generacji zespołom chcącym analizować mitochondrialny i genomowy DNA człowieka. Wskazała również przewagę jakościową i ekonomiczną NGS nad obecnie wykorzystywanymi w genetyce sądowej technikami. Pragniemy też podziękować Państwu za miłe spotkania i interesujące rozmowy przy naszym stoisku.



## Komentarze i opinie czytelników newslettera

Drodzy Czytelnicy! Będziemy wdzięczni jeśli zechcecie podzielić się z nami swoimi opiniami dotyczącymi newslettera OpenExome. Jeśli nasuwają się Państwu komentarze na temat treści kolejnych wydań newslettera lub sugestie tematów, które warto poruszyć w tym periodyku, prosimy o przesłanie ich na adres: [community@openexome.pl](mailto:community@openexome.pl).

