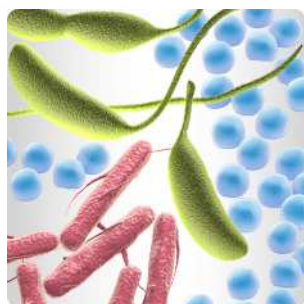


## Szanowni Państwo!



Sekwencjonowanie następnej generacji mocno zrewolucjonizowało podejście do charakteryzowania genomów mikroorganizmów. Wyniki pogłębionej analizy genetycznej służą przede wszystkim epidemiologom i klinicytom, ale również producentom żywności czy biologom środowiska.

Pierwsza część niniejszego wydania newslettera to właśnie przegląd prac z obszaru mikrobiologii. Kolejne działy biuletynu OpenExome, zawierają informacje o najnowszych produktach oferowanych przez naszych dostawców oraz kalendarium konferencji i sympozjów.

Życzymy przyjemnej lektury i czekamy na propozycje zagadnień, które Państwa zdaniem powinny znaleźć się w kolejnych wydaniach naszego periodyku.

Zespół OpenExome

## Ciekawe publikacje

### Zmienność genów odpowiedzialnych za wirulencję *Helicobacter pylori*, czyli o poszukiwaniu uniwersalnego celu terapeutycznego

W maju 2015 ukazała się publikacja autorstwa genetyków i pediatrów z Tokijskich ośrodków badawczych, opisująca mikroewolucję *Helicobacter pylori* zachodzącą w trakcie zasiedlania przewodu pokarmowego kolejnych gospodarzy ludzkich.

Infekcja często następuje w wieku dziecięcym. Bakteria bytuje w żołądku człowieka przez szereg lat, a konsekwencją tego zakażenia mogą być m.in. zapalenie błony śluzowej, wrzody czy zmiany nowotworowe w obrębie tkanek żołądka. Mikrobiolodzy zastanawiają się nad przyczynami szerzenia się zakażenia tym drobnoustrojem i pracują nad optymalnym celem terapeutycznym. Wiadomym jest, że *H. Pylori* ma ogromne zdolności adaptacyjne, dzięki „plastyczności” genomu i bardzo szybko przystosowuje się do warunków panujących w organizmie każdego kolejnego gospodarza.

W celu przyjrzenia się ewolucji adaptacyjnej *H. pylori*, która zachodzi podczas zasiedlania przez bakterię organizmu kolejnego gospodarza japońscy badacze posłużyli się techniką sekwencjonowania całych genomów bakteryjnych. Do analizy wybrano izolaty RNA uzyskane z blisko spokrewnionych szczepów *H. pylori* bytujących w żołądkach członków rodzin (rodziców i ich dzieci). Biorąc pod uwagę kolejność infekcji bakterią obserwowanych u poszczególnych członków rodziny, badacze analizowali pojawianie się mutacji niesynonimicznych w genomie bakterii.

Zidentyfikowano szereg mutacji w genach związanych z wirulencją (*cag*, *vacA*, *hcpDX*, *tnfa*, *ggt*, *htrA*, gen kolagenazy), genach kodujących białko zewnątrz błonowe OMP i białka związane z powierzchnią komórki oraz w genach regulujących procesy restrykcji-modyfikacji. Wydaje się, że mutacje zachodzące w tej ostatniej grupie genów mogą być przyczyną takich zmian w metylomie i transkryptomie bakterii, które ułatwiają jej adaptację do środowiska panującego w organizmie nowego gospodarza.

Źródło: Pubmed – PMID: 25978460

## Nowości

[Edvotek i pasjonujące lekcje pokazowe](#)

[NeoPrep – automatyzacja bibliotek NGS](#)

[TruSight Cardio Sequencing Kit](#)

[NextSeq Reagent Kits v2](#)

## Wydarzenia

[Dzień Aplikacyjny Illumina, 24.06.2015](#)

[Tematy webinarów on-line](#)

[Kalendarz konferencji](#)

## Charakterystyka szczepów prątków trądu, które powodowały epidemie w XVIII wieku w Europie



Polecamy także lekturę opublikowanego w kwietniu 2015 doniesienia w Nature Communications, opisującego wyniki sekwencjonowania i analizy materiału genetycznego

prątków trądu, pozyskanego ze szczątków 26 osób (mumie z kościoła w Vac, Węgry), które były ofiarami panującej w Europie na przełomie XVIII i XIX w. epidemii gruźlicy. Zespół badaczy w Wielkiej Brytanii, Węgier i Izraela posługując się nowoczesnymi technikami biologii molekularnej i wykorzystując odpowiednie algorytmy bioinformatyczne precyzyjnie charakteryzuje kopalne próbki prątka trądu wskazując na pochodzenie szczepów będących przyczyną choroby i zgonu osób zmarłych, których szczątki badano. Autorzy pracy zaznaczają, że pomimo pewnych zmian ewolucyjnych te same szczepy bakterii od stuleci powodują gruźlicę w Europie i na świecie i wbrew pozorom zagrożenie wybuchem kolejnej epidemii nie jest małe. Kay i współpracownicy twierdzą, że współczesne techniki analiz metagenomicznych będą pomocne w diagnozowaniu współczesnych zakażeń prątkiem trądu oraz pomogą lepiej kontrolować ich rozprzestrzenianie.

Źródło: Pubmed - PMID: 25848958

<https://budapeszter.wordpress.com/2015/04/08/mumie-z-vacu/>

## Precyzyjny opis transkryptomu oraz analiza aktywnego transkrypcyjnie mRNA drożdży *Schizosaccharomyces pombe*

Badacze z Zakładu Biochemii Uniwersytetu Cambridge przeanalizowali ekspresję genów oraz opisali pojawianie się określonych typów cząsteczek niekodującego RNA w komórkach *Schizosaccharomyces pombe*, które przechodzą podział mejotyczny. Doświadczenia uwzględniały etap hodowli w specyficznych warunkach mających na celu wywołanie mejozy i sporulacji drożdży, wzbogacenie próby RNA we frakcje aktywnego transkrypcyjnie mRNA (osadzonego w momencie izolacji na rybosomach) oraz sekwencjonowanie tak pozyskanych cząsteczek metodą sekwencjonowania następnej generacji z wykorzystaniem wysokoprzepustowej platformy NGS. Publikacja, która ukazała się w czerwcu 2014 na łamach Nature Structural and Molecular Biology pozwoliła na wskazanie szeregu czynników transkrypcyjnych oraz cząsteczek niekodującego RNA, które precyzyjnie regulują ścieżki przekazywania sygnałów w komórkach w procesie mejozy. Opisane wyniki analiz są nieocenionym źródłem wiedzy na temat funkcjonowania komórek tego konkretnego gatunku. Jednocześnie wspomniana publikacja wytycza nową ścieżkę postępowania na potrzeby pogłębionej analizy transkryptyomicznej komórek organizmów eukariotycznych.

Źródło: Pubmed - PMID: 24929437

## Informacje od partnerów OpenExome

### Edvotek

#### Przygotuj pasjonujące lekcje nauk przyrodniczych



Mamy przyjemność przedstawić Państwu Edvotek firmę, która w ubiegłym miesiącu dołączyła do grona dostawców OpenExome. Edvotek to pomysłodawca wyjaśniania dzieciom, młodzieży i wszystkim pasjonatom nauk biologicznych procesów i technik wykorzystywanych w biotechnologii. Założyciele firmy promują aktywny sposób nauki i zachęcają do urozmaicenia lekcji, wykładów praktycznym działaniem, czyli wspólnym przeprowadzaniem doświadczeń naukowych. Edvotek rozpoczął działalność w Stanach Zjednoczonych w 1987 roku i od tego czasu dostarcza coraz większą gamę produktów pozwalających na przeprowadzenie zaawansowanych doświadczeń naukowych w warunkach np. klasy szkolnej lub sali seminaryjnej oraz wyjaśniania procesów biologicznych i chemicznych w przystępny i ciekawy sposób.

Oferta Edvotek adresowana jest przede wszystkim do nauczycieli, wykładowców, animatorów kół zainteresowań oraz organizatorów dni popularyzacji nauki. Producent dostarcza gotowe do użycia kompletne zestawy do przeprowadzenia pokazowych doświadczeń na następujące tematy:

- Wprowadzenie do biotechnologii
- Biotechnologia dla zaawansowanych
- Odkrywanie elektroforezy i jej zastosowania
- Łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR)
- Wprowadzenie do RNA
- Medycyna Sądowa
- Inżynieria genetyczna i transformacja
- Immunologia
- Nauki biomedyczne
- Biologia roślin
- Ochrona i monitorowanie środowiska Białka, enzymy i chromatografia

### illumina

#### NeoPrep, czyli automatyzacja procesu przygotowania bibliotek NGS

Wszyscy, których nuży proces przygotowania bibliotek NGS od kilku tygodni mają powód do zadowolenia. Illumina wprowadziła bowiem na rynek urządzenie NeoPrep. Jest to zautomatyzowana wykorzystująca nanoprzepływowe chipy platforma służąca do równoległego przygotowania kilkunastu bibliotek do sekwencjonowania. Praca z NeoPrep w porównaniu do manualnego przygotowania próbki do sekwencjonowania pozwala na:

- zmniejszenie ilości wyjściowego materiału DNA lub RNA do zaledwie 25 -100 ng
- minimalizację etapów wymagających manualnego pipetowania przez użytkownika z kilkadziesiątu do zaledwie kilku
- skrócenie aktywnego nakładu pracy badacza z 4,5 godziny do 30 minut
- przeprowadzenie etapu normalizacji bibliotek w sposób zautomatyzowany

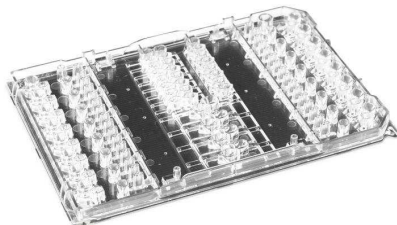
System do automatycznego przygotowania bibliotek NeoPrep może pracować jako niezależne urządzenie lub może być programowany i monitorowany z poziomu serwera BaseSpace współpracującego z danym sekwencjatorem.

Wraz z premierą NeoPrep producent udostępnił dwa nowe formaty zestawów odczynników do przygotowania bibliotek: [TruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit for NeoPrep](#) oraz [TruSeq Nano DNA Library Prep Kit for NeoPrep](#). Niebawem paleta tej serii zestawów zostanie rozbudowana.

Zachęcamy do obejrzenia krótkiego [filmu przedstawiającego NeoPrep](#) oraz do zapoznania się z [opisem technicznym aparatu](#) na stronie internetowej producenta.



\*Coming summer 2014



### TruSight Cardio Sequencing Kit – nowy panel genowy

Mysząc o kosztowo ekonomicznej i szerokiej diagnostyce genetycznej pod kątem zaburzeń kardiologicznych należy sięgnąć po najnowszy panel genowy TruSight Cardio. Zawarty w nim zestaw odczynników pozwoli na przygotowanie biblioteki do sekwencjonowania wzbogaconej w sekwencje 174 genów opisywanych jako ściśle związane z dziedzicznymi chorobami kardiologicznymi. Pełna lista genów uwzględnionych w omawianym panelu genowym dostępna jest tutaj. Poniżej przedstawiono zestawienie jednostek chorobowych, które mogą być diagnozowane przy wykorzystaniu TruSight Cardio Sequencing Kit.

Table 1: ICCs Covered by the TruSight Cardio Sequencing Kit

Cardiac Condition	No. of Genes Covered
Aortic Valve Disease	3
Marfan Syndrome	3
Loeys-Dietz Syndrome	4
Short QT Syndrome	4
Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia (CPVT)	6
Familial Hypercholesterolemia	7
Restrictive Cardiomyopathy	9
Non-Compaction Cardiomyopathy	10
Noonan Syndrome	11
Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy (ARVC)	11
Brugada Syndrome	13
Structural Heart Disease	15
Long QT Syndrome	15
Familial Aortic Aneurysm	16
Familial Atrial Fibrillation	21
Hypertrophic Cardiomyopathy	47
Dilated Cardiomyopathy	59

The TruSight Cardio Sequencing Kit uses NGS for genetic profiling of 174 genes with known associations to 17 ICCs. For a complete gene list, visit [www.illumina.com/cardio](http://www.illumina.com/cardio).

Do przeprowadzenia badania potrzebne jest zaledwie 50 ng genomowego DNA pacjenta. Zależnie od dostępnego typu sekwenatora, w jednym cyklu pracy urządzenia można przeprowadzić analizę dla kilkunastu (MiSeq) lub kilkudziesięciu (NextSeq500) próbek/pacjentów.

Więcej szczegółowych informacji o TruSight Cardio podano na [stronie producenta](#).

## NextSeq Reagent Kits v2

Użytkowników sekwenatorów NextSeq500 informujemy, że w sprzedaży dostępna jest już najnowsza wersja odczynników do zasadniczej reakcji sekwencjonowania. Grupa produktów o nazwie NextSeq 500 v2 Kits zapewnia jeszcze wyższą jakość uzyskiwanych danych, najwyższą wydajność bezbłędnych odczytów. Najnowsza seria odczynników do NextSeq zapewnia bardziej wydajny odczyt sygnałów fluorescencyjnych z powierzchni flow cell, dzięki obniżeniu wartości współczynnika sygnał/szum tła.

Poniżej przedstawiono typy kartridży, które sugerowane są do określonego rodzaju bibliotek NGS:

### 1. Whole Transcriptome, mRNA-Seq lub Exome

FC-404-2001 NextSeq 500 Mid Output v2 Kit (150 cycles)  
FC-404-2002 NextSeq 500 High Output v2 Kit (150 cycles)

### 2. Whole Genome, de novo sequencing oraz Exome

FC-404-2004 NextSeq500 High Output v2 Kit (300 cycles)

### 3. Targeted Panels lub Exome

FC-404-2003 NextSeq 500 Mid Output v2 Kit (300 cycles)

### 4. Gene Expression Profiling oraz NIPT

FC-404-2005 NextSeq500 High Output v2 Kit (75 cycles)

## Multiplicom

### QC Plex Kit - szybka i wiarygodna metoda oceny jakości preparatów DNA pozyskiwanych ze skrawków patologicznych

Jakość wyjściowego materiału pobranego do analiz klinicznych niejednokrotnie przesądza o powodzeniu całej serii testów genetycznych. Badacze i klinicyści, pracujący z próbkami DNA pozyskiwanymi z „trudnych” źródeł takich jak fragmenty tkanek utrwalanych z wykorzystaniem formaliny i parafiny czy prób śliny potrzebują ocenić jakość otrzymanych ekstraktów jeszcze przed przystąpieniem do zaawansowanych analiz genetycznych. Takie podejście pozwala odrzucić próby o bardzo niskiej jakości (w których obserwuje się silną degradację lub skrajnie niskie stężenie DNA), a tym samym zapewnia ekonomiczne zużywanie odczynników potrzebnych do właściwych testów genetycznych.

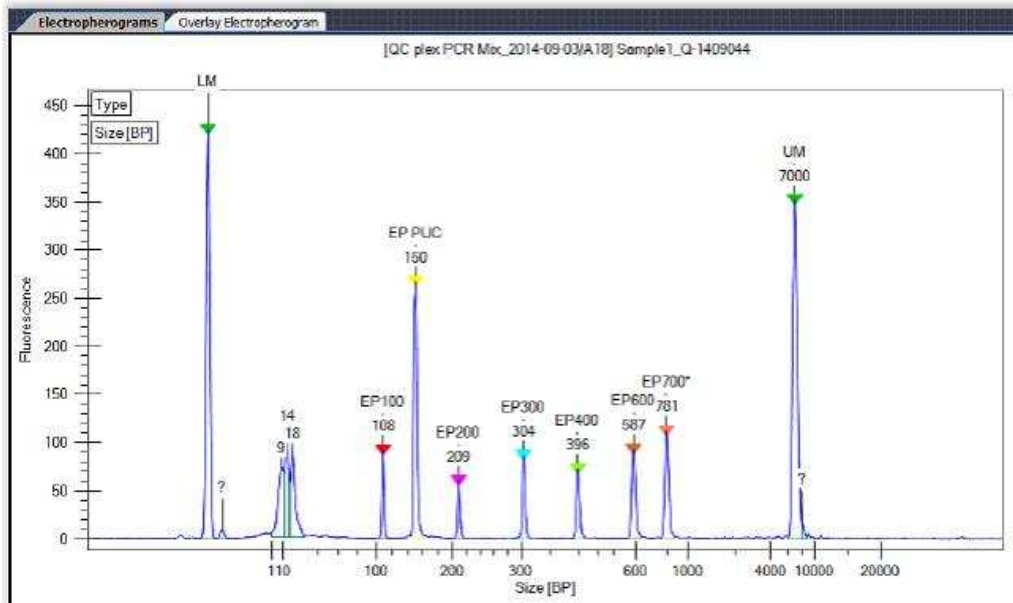
W przypadku pracy z materiałem klinicznym, poniższe aspekty utrudniają analizy molekularne:

- własności formaliny mogą prowadzić do sieciowania DNA oraz degradacji DNA,
- podczas utrwalania preparatów tkanek stosowane są odczynniki zawierające składowe, które hamują działanie enzymów (polimerazy) i zaburzają przebieg reakcji PCR
- stężenie DNA pozyskiwanego z preparatów FFPE nigdy nie jest wysokie.

Dogodnym narzędziem do weryfikacji jakości preparatu DNA wydaje zestaw odczynników o nazwie [QC Plex \(Multiplicom\)](#). Jest to szybki test PCR typu multipleks przeznaczony do jakościowej i ilościowej oceny ludzkiego DNA. Test wykorzystuje zasadę PCR typu multipleks z użyciem standardowego protokołu PCR.

Spodziewane produkty końcowe reakcji multipleks dla QC Plex Kit to 7 fragmentów PCR o różnych długościach, z których 6 (o długościach kolejno 100, 200, 300, 400, 600 i 700 bp) służy do bezpośredniej oceny integralności DNA, a siódmy powstający fragment DNA (o długości 150 bp) stanowi wewnętrzną pozytywną kontrolę QCplex i informuje o ewentualnej obecności inhibitorów polimerazy.

Produkty reakcji QCplex są następnie oceniane na podstawie obrazu elektroforetycznego lub wyników uzyskanych w aparacie do mikrofluidycznej elektroforezy kwasów nukleinowych (np. Bioanalyzer, Agilent Technologies; LabChip GX, Perkin Elmer ; QIAxcel, Qiagen czy Experion, BioRad).



Dane uzyskane podczas rozdziálu elektroforetycznego są wykorzystywane do obliczenia wspoczynnik jakości DNA (tzw. wspoczynnik DQC ). Na podstawie wartości DQC podanej dla każdej z próbek DNA w raporcie końcowym przygotowanym przez DCQ Calculator ([narzdzie dostępnego on-line](#)) użytkownik otrzyma tabel z krótkim opisem jakości prób oraz z sugestiami jaka będzie optymalna objtoc danej próbki do przygotowania reakcji PCR na potrzeby przygotowania biblioteki NGS i analizy danego panelu genowego.

Przykładowy raport DQC z analizy jakości próbki DNA – [do pobrania tutaj](#)

Więcej informacji znajdziecie Państwo w ulotce przygotowanej przez producenta

## Przypominamy o terminach zbliżających się ...

### ...Dniach Aplikacyjnych Illumina

24 czerwca w Warszawie po raz kolejny spotkają się początkujący i zaawansowani użytkownicy systemów MiSeq, NextSeq, HiSeq, HiScanSQ oraz iScan. Okazj do wymiany doświadczeń będzie kolejna edycja Dni Aplikacyjnych wspoorganizowana przez firmy Analytik, Illumina i OpenExome. Tym razem tematem przewodnim bd rozwiązania NGS w diagnostyce onkologicznej oraz badaniach związanych z nowotworzeniem. Szczeglowe informacje wraz z programem otrzymają Państwo wkrótce drog mailową.

### ... 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.

W czerwcu eksperci zespołu Illumina Technical Support omwi następujące tematy:

- Introduction to BaseSpace – podstawowe informacje dotyczące funkcjonalności oprogramowania BaseSpace oraz przewodnik użytkownika, 9 czerwca oraz 30 czerwca 2015
- Introduction to HiSeq3000/4000 – omówienie zasady działania aparatów oraz praktyczna instrukcja obsługi dla użytkowników sekwencjatorw HiSeq3000/4000, 11 czerwca 2015
- Library QC with the BioAnalyzer – informacje na temat wciwego przeprowadzenie kontroa jakości bibliotek NGS z wykorzystaniem urządzenia Bioanalyzer, 18 czerwca 2015
- Introduction to Key Concepts in Illumina Sequencing Data Analysis – seminarium dotyczące podstaw technologii NGS w trakcie którego zostaną omówione takie zastosowania jak sekwencjonowanie DNA de novo, poszukiwanie SNP oraz sekwencjonowanie RNA, 23 czerwca 2015
- MiSeq Troubleshooting Toolkit, czyli jak poradzi sobie w niespodziewanych sytuacjach podczas przebiegu reakcji w aparacie MiSeq, 30 czerwca 2015.

Uczestnictwo w seminariach (webinarach) Illumina wymaga dostępu do internetu oraz aktywnego połączenia telefonicznego (połączenie bezplatne). Aby wzic udział w danym seminarium należy dokonac uprzedniej rejestracji drog elektroniczną. Kompletną list seminariów oraz linki rejestracyjne znajdziecie Państwo na stronach [www.OpenExome.com](http://www.OpenExome.com) oraz [Illumina.com](http://www.Illumina.com):

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

Seminaria on-line, które cieszyły się szczególnym zainteresowaniem są dostępne w formie zarejestrowanych nagrań na stronie internetowej Illumina:

<http://support.illumina.com/training/webinars/sequencing/sequencing-archive.html>  
<http://support.illumina.com/training/webinars/array/array-archive.html>

### ...nowych kursów Illumina

Zachęcamy do zapoznania się z nowymi kursami on-line (pokaz slajdów z komentarzem lektora) dotyczących oprogramowania oferowanego i sugerowanego przez Illumina do pracy z:

a) panelami genowymi projektowanymi przez badacza

**„DesignStudio: TruSeq Custom Amplicon”**

<http://support.illumina.com/training/online-courses/sequencing.html>

b) panelem Genowym do oznaczania antygenów zgodności tkankowej

**“Conexio Assign for TruSight HLA – Essentials”**

[http://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/courses/trusight-hla-conexio-software/story\\_html5.html](http://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/courses/trusight-hla-conexio-software/story_html5.html)

**“Conexio Assign for TruSight HLA – Advanced”**

[http://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/courses/trusight-hla-conexio-advanced/story\\_html5.html](http://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/courses/trusight-hla-conexio-advanced/story_html5.html)

c) oraz o aplikacji BaseSpace dedykowanej do pracy z wynikami sekwencjonowania NGS

**„BaseSpace – Frequently Asked Questions”**

<http://support.illumina.com/training/online-courses/sequencing.html>

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

**ICAR2015 Technical Workshop.**

Kraków, 10-12.06.2015

<http://www.icar2015.pl/program>

**Biotechnologia i dobrostan w hodowli zwierząt.**

Kraków, 15-16.06.2015

<http://konferencje.whibz.ur.krakow.pl/konferencja-WHIBZ.html>

**6th International Weigl Conference on Microbiology.**

Gdańsk, 08-10.07.2015

<http://weiglconference.edu.pl/>

**ISFG – 26th Congress of the International Society for Forensic Genetics**

Kraków, 31.08-05.09.2015

<http://isfg2015.org/>

**ISOBM 2015 - 42th Congress of the International Society of Oncology and Biomarkers.**

Zakopane, 3-7.10.2015

<http://www.isobm-congress.org/>

**Mikrobiologia w Medycynie, Przemysle i Ochronie Środowiska.**

Łódź, 24-25.10.2015

<http://www.mikrostudent.pl/>

**... konferencji zagranicznych:**

**Chromatin and epigenetics - EMBO Conference**

Heidelberg, 06-10.05.2015

<http://www.embl.de/training/events/2015/CHR15-01/index.html>

**European Human Genetic Conference, ESHG 2015**

Glasgow, 06-09.06.2015

<https://www.eshg.org/eshg2015.0.html>

**International Conference on Structural Genomics 2015.**

Rehovot, Izrael. 07-11.06.2015

<http://www.weizmann.ac.il/conferences/ICSG2015/program>

**23rd Annual International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology and the 14th European Conference on Computational Biology.**

Dublin, 10-14.06.2015

<http://www.iscb.org/ismbeccb2015>

**3rd Next Generation Sequencing Data Congress 2015.**

Londyn, 15-16.06.2015

<http://www.nextgenerationsequencingdata-congress.com/>

**Festival of Genomics.**

Boston, 24-25.06. 2015

[link](#)

**EUSTM 2015**

3rd Annual Congress of the European Society of Translational Medicine.

Wiedeń, 01-04.09.2015

<http://www.eutranslationalmedicine.org/eustm-2015>

**ACM-BCB 2015, ACM Conference on Bioinformatics, Computational Biology, and Health Informatics**

Atlanta, GA, 09-12.09.2015

<http://bigls.org/>

**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 przesyłanie ich na adres: [community@openexome.pl](mailto:community@openexome.pl).

OpenExome s.c. | ul. Schroegera 82 | 01-828 Warszawa | (+48) 22 465 25 27 | [community@openexome.pl](mailto:community@openexome.pl)

[Zrezygnuj z otrzymywania wiadomości](#)