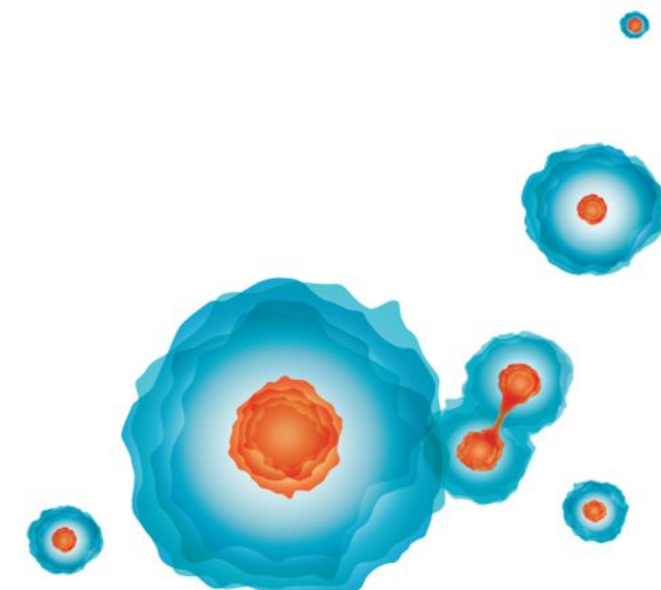


**iontorrent**  
by Thermo Fisher Scientific

Биология в формате

**ULTRAHD**



Artem Bogomolov [a.bogomolov@helicon.ru](mailto:a.bogomolov@helicon.ru)

# Эволюция

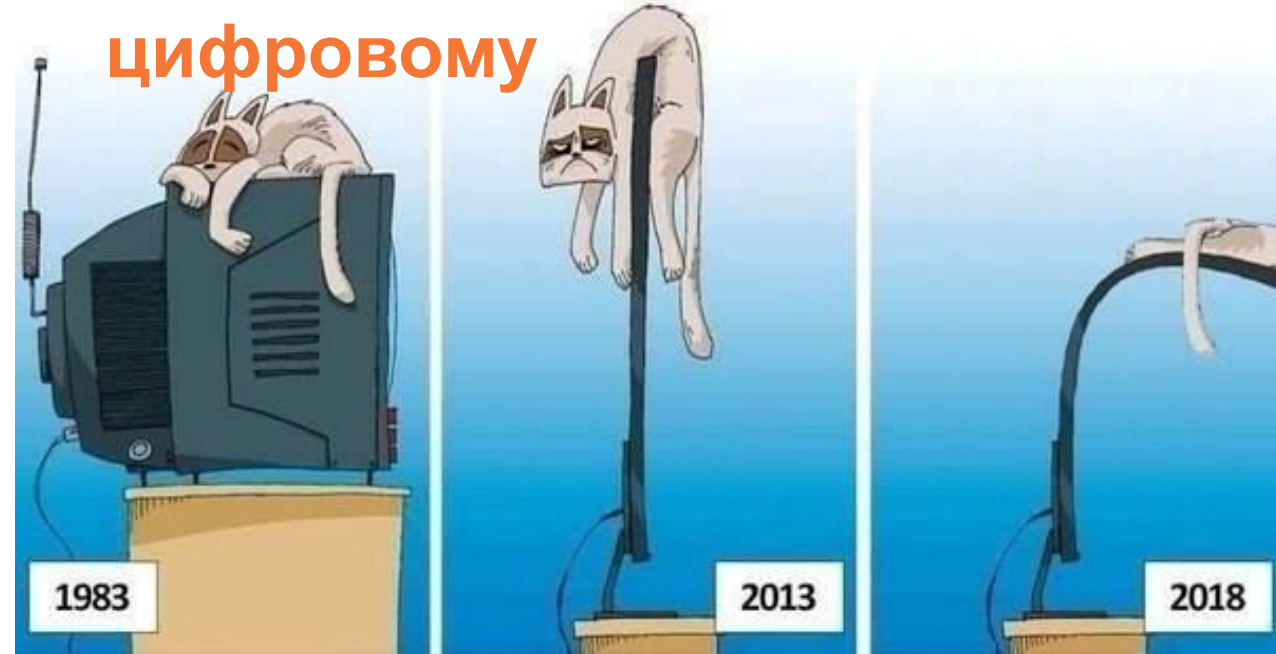


Разрешение

HD >>> Full HD >>> Ultra HD



От аналогового к цифровому



# Секвенирование

От отдельных последовательностей до полных геномов всего за 30 лет!

## Capillary Electrophoresis



- ✓ “Gold Standard”
- ✓ 1000 b.p. per run
- ✓ 3 days run

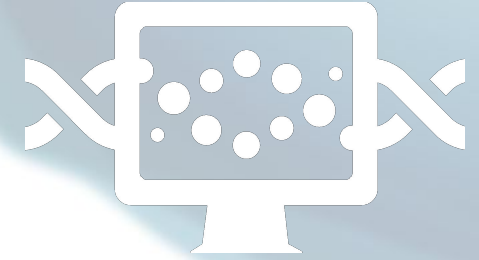
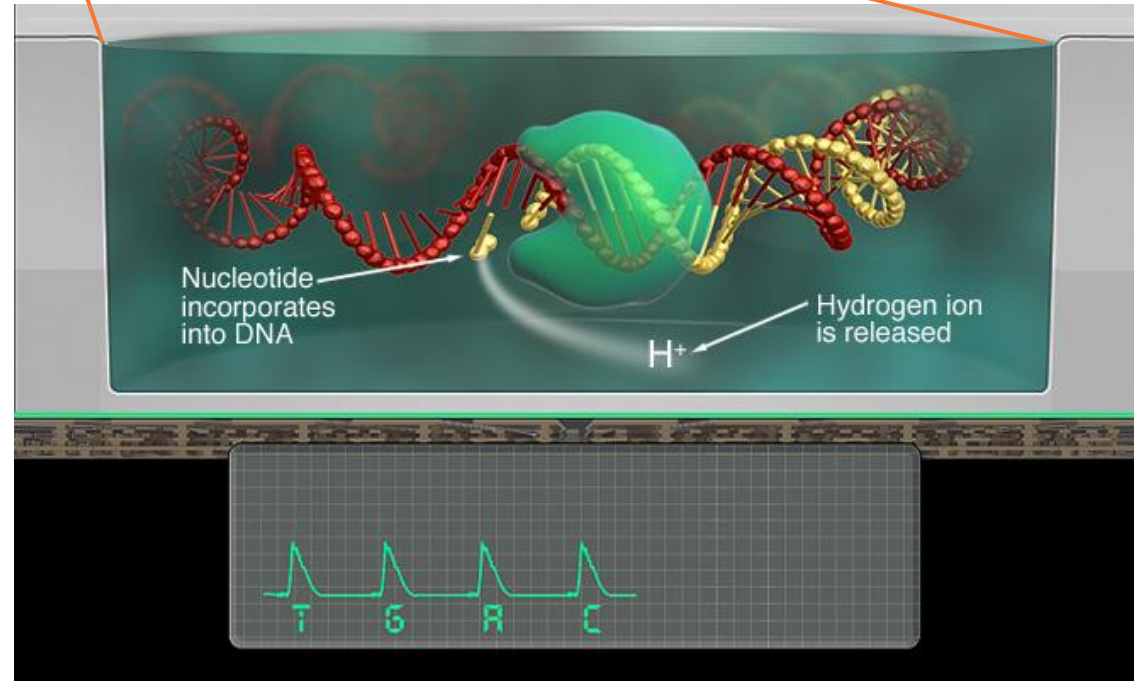
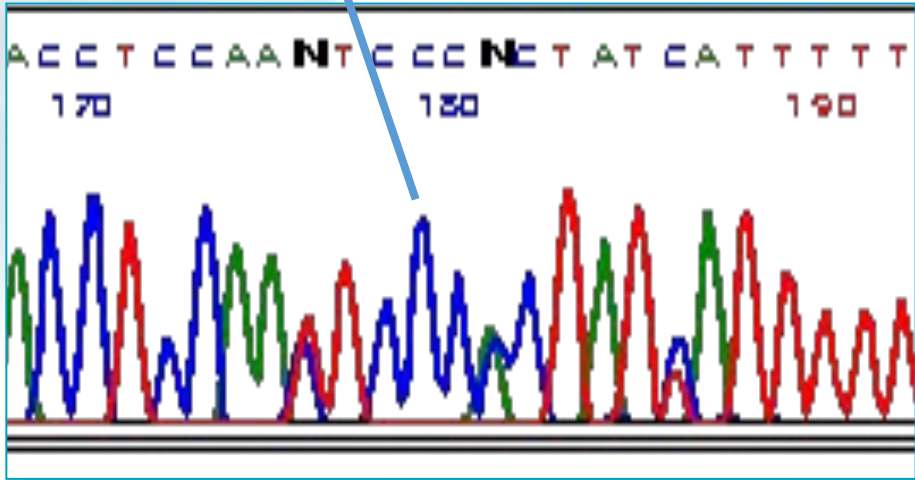
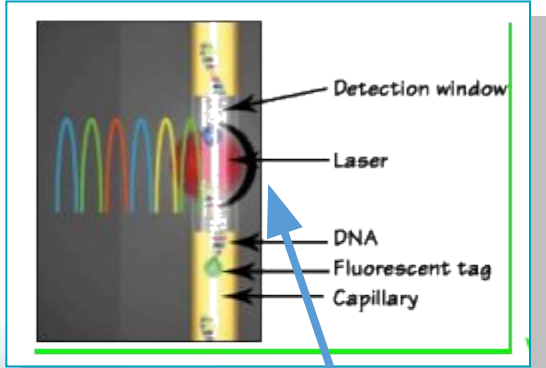
## Next Generation Sequencing



- ✓ Revolution in molecular genetics
- ✓ 100 000 000 b.p. per run
- ✓ Less then 24 hours for run

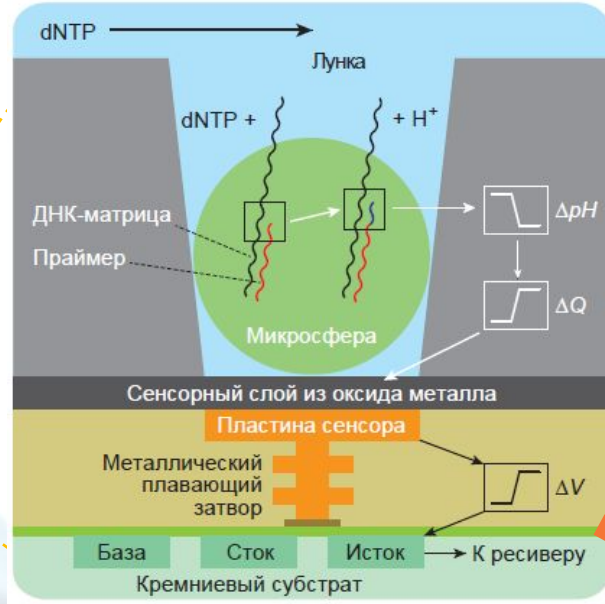
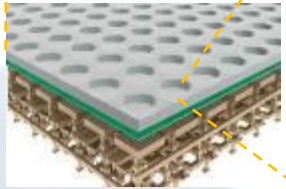


# Цифровая революция

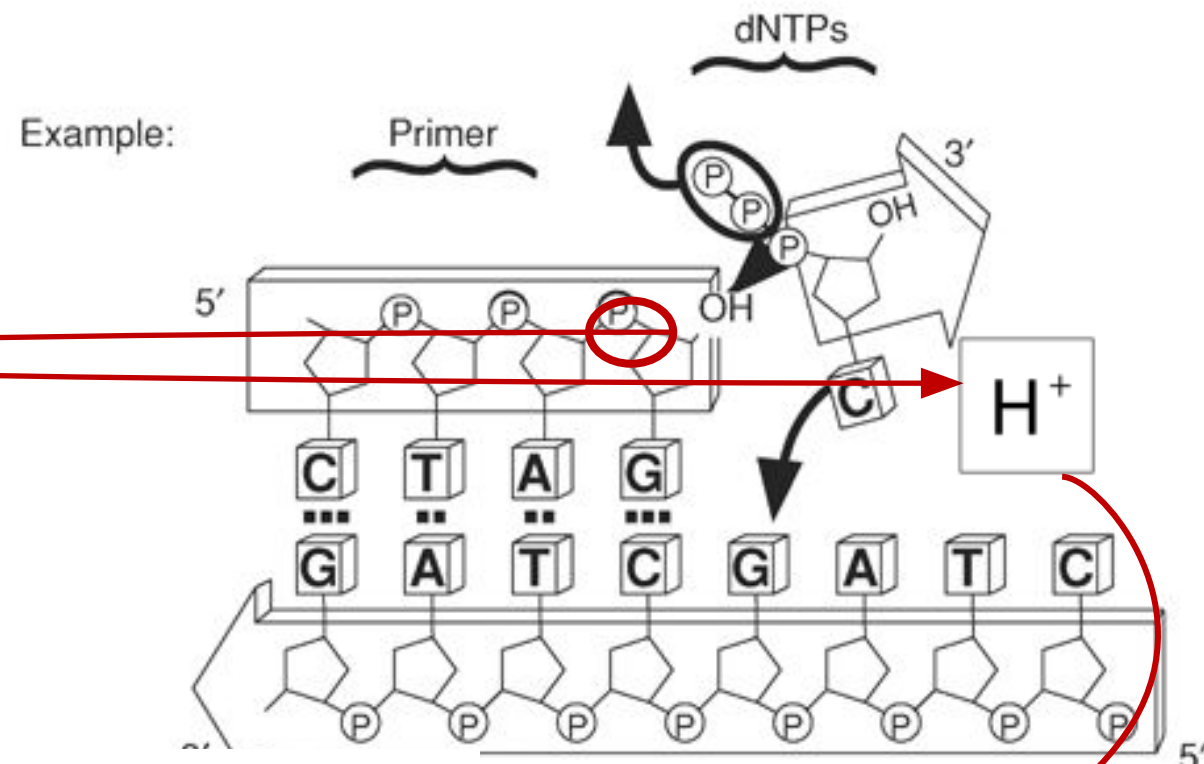
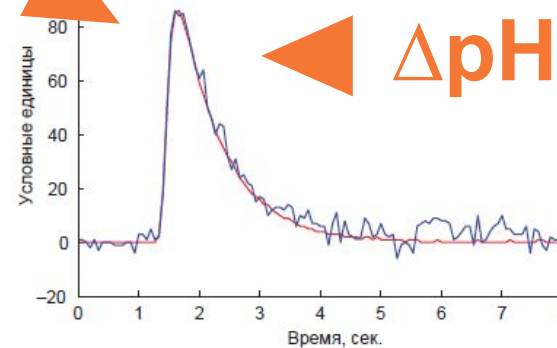


# Ion Torrent

## Полупроводниковый



1000  
0101  
1101  
0101  
1011





# К вопросу о разрешении...

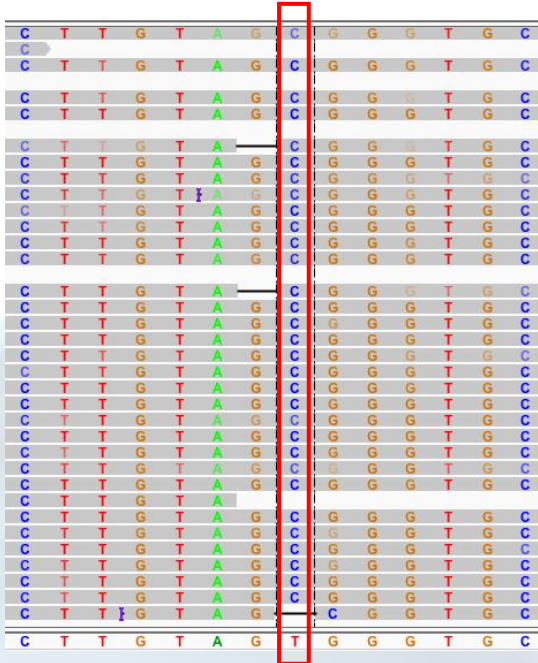
Порог детекции SE - 20%

Гомозиготта

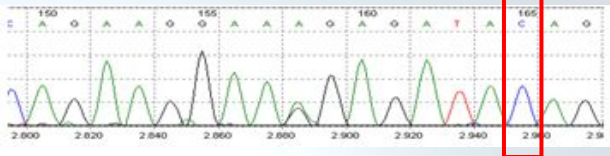
Гетерозиготта

Порог детекции NGS < 1%

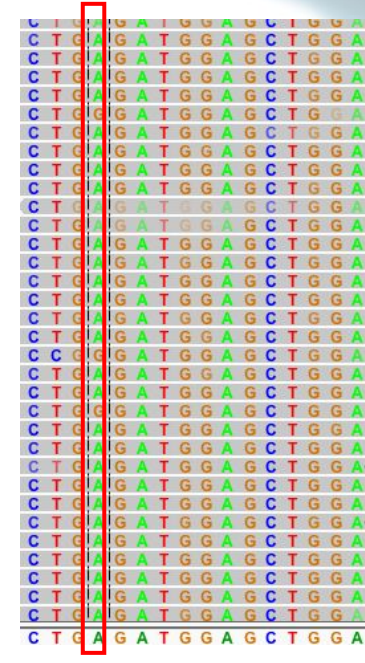
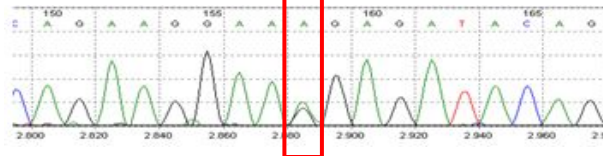
Минорный аллель



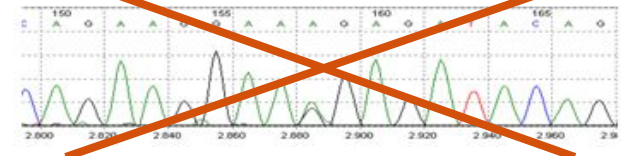
C/C



G/A



A/G (8%)



# Насколько безгранична ваша фантазия?

✓ Один секвенатор

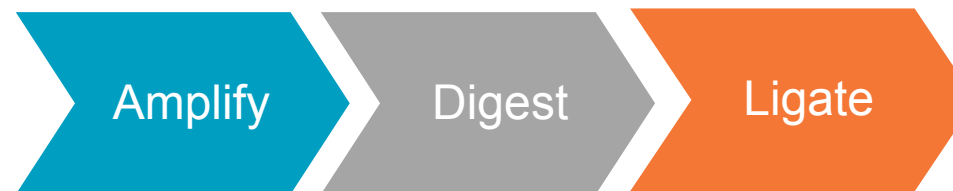
✓ Один рабочий процесс

✓ Три чипа

✓ Множество задач!



## Технология Ion AmpliSeq™



Экзомы

РНК  
Экспрессия

Панели  
«горячих  
точек»

Панели  
генов

CNV

Химеры

# Единый автоматизированный рабочий процесс

Выбор  
мишеней

Подготовка  
библиотек

Подготовка  
матрицы

Запуск  
секвенатора

Анализ  
данных

Решения для всех этапов: от ДНК до анализа  
данных



**Ion AmpliSeq™  
Designer**  
Панели Ion  
AmpliSeq™



**Библиотеки Ion  
AmpliSeq™  
и система  
Ion Chef™**



**Система  
Ion Chef™**

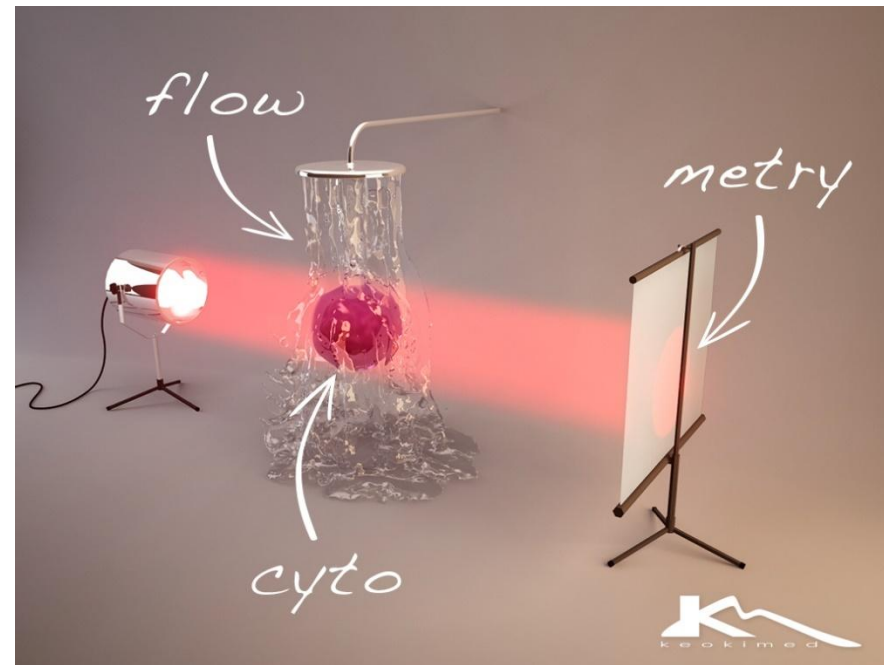
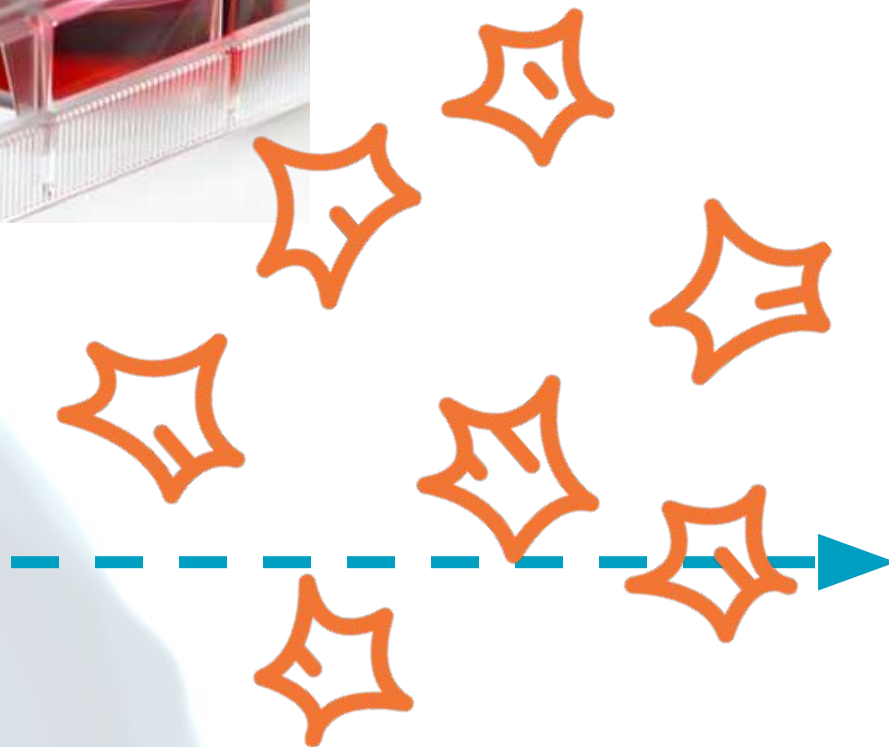
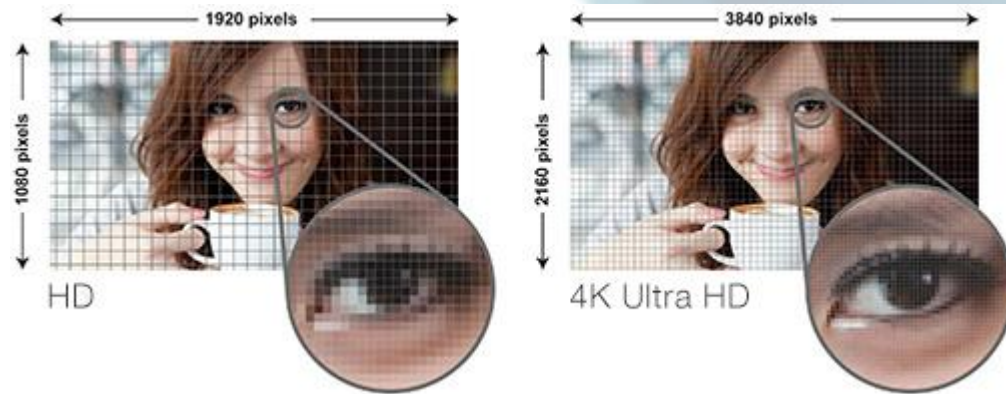
**Системы Ion  
S5™ и S5 XL**



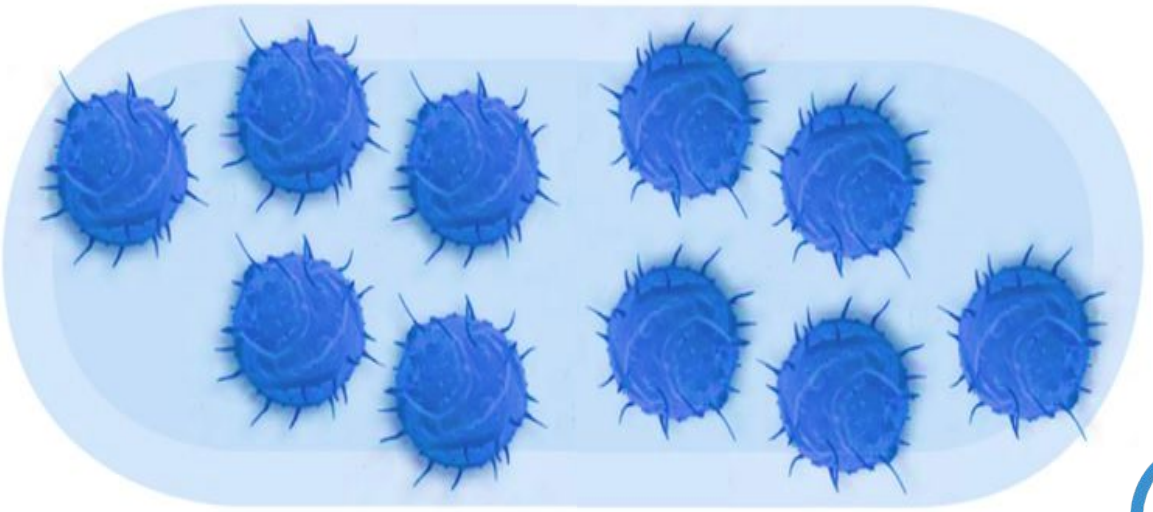
**Torrent Suite™  
Ion Reporter™**



# Клеточки



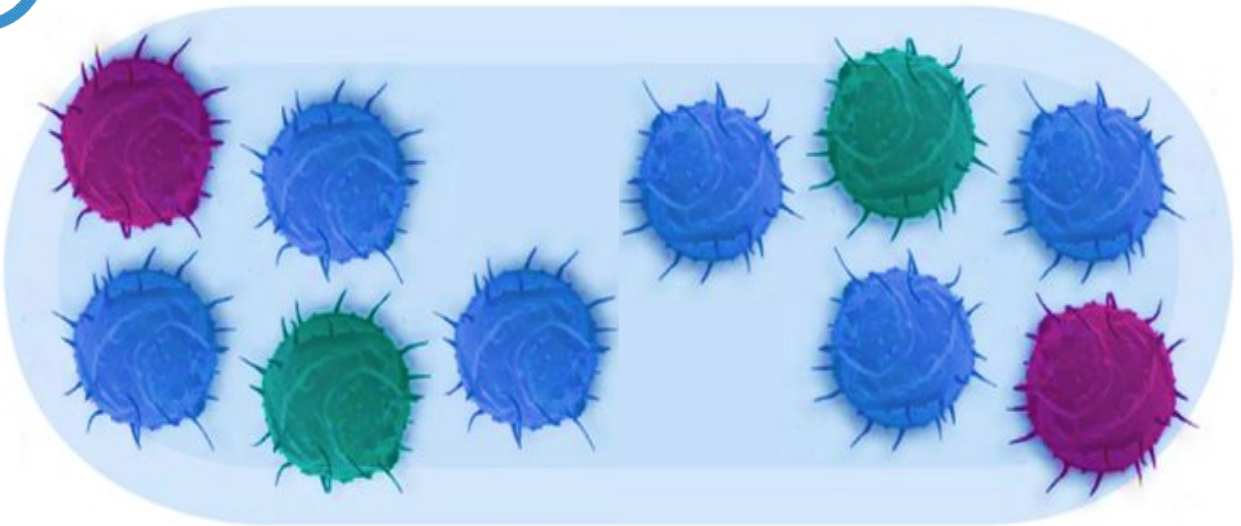
# А что, если... каждая клетка уникальна ?



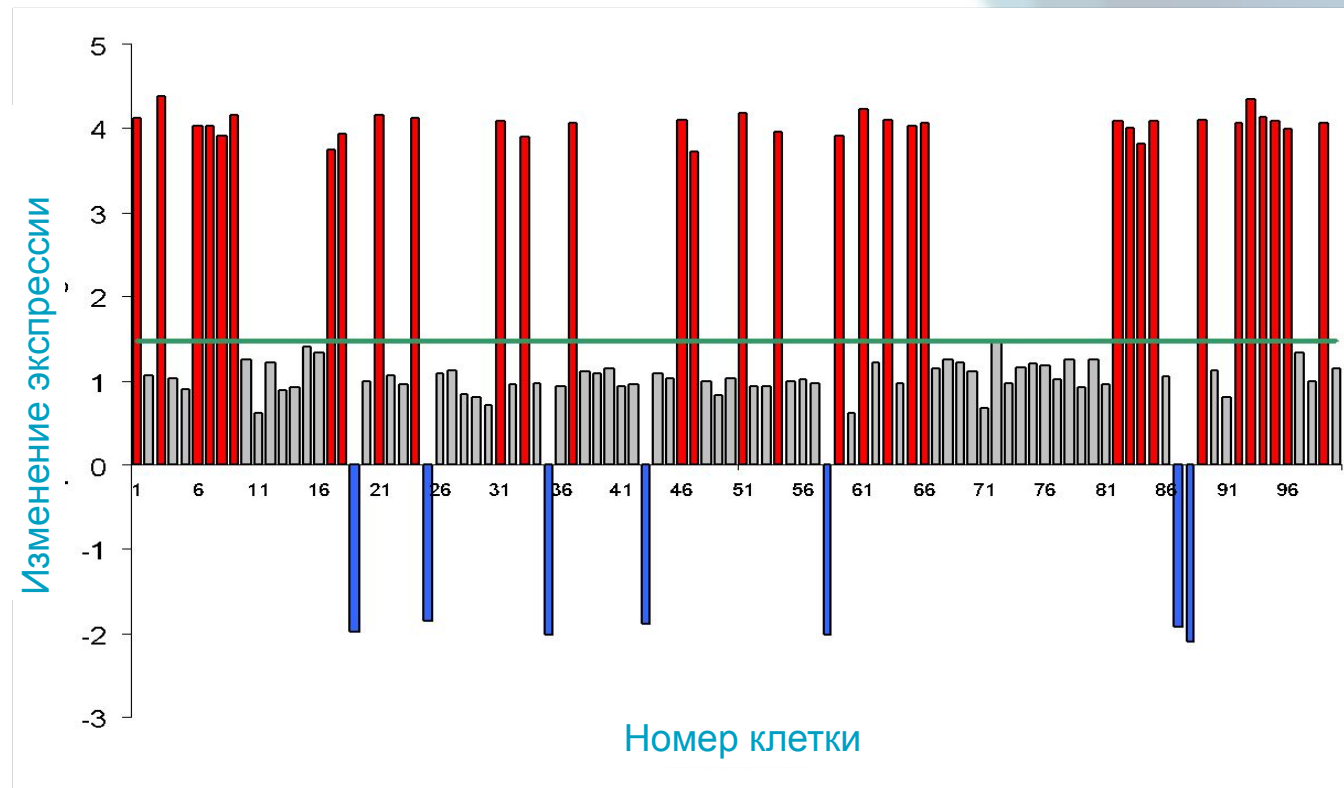
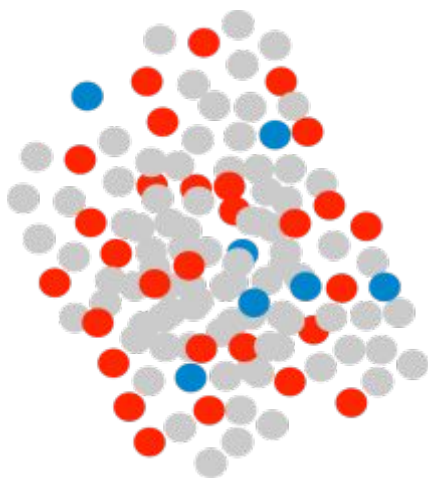
Ожидание



Реальность



# Изучение экспрессии генов



Изменение уровня

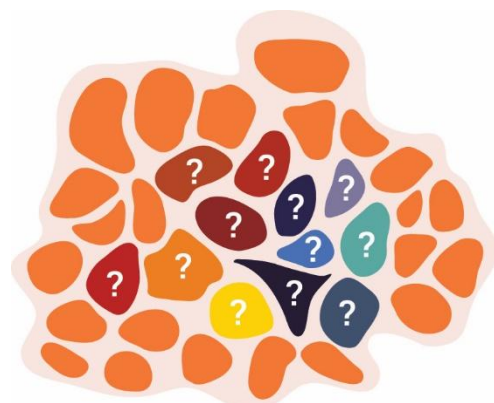
экспрессии

■ Популяция в целом: 1.5x  
■ Популяция А: 1x

■ Популяция В: 0x  
■ Популяция С: 4x



# Работа с единичными клетками



## 1. Обогащение клеточной популяции

FACS

Магнитная сепарация

Центрифугирование

Фильтрация

## 2. Изоляция отдельных клеток



## 4. Амплификация



## 6. Секвенирование и анализ



## 3. Лизис, выделение нуклеиновых

Система захвата и процессирования единичных клеток

FACS

Лазерная микродиссекция

Последовательное разбавление

## 5. Создание библиотеки секвенирования





# Автоматическая хваталка-убивалка клеток C1



## Функционал

Рабочий элемент

Принцип захвата клеток

Размеры клеток

Количество клеток

Концентрация  
выделяемой ДНК

- Изолирование
- Окрашивание
- Лизис
- Обратная транскрипция
- Преамплификация

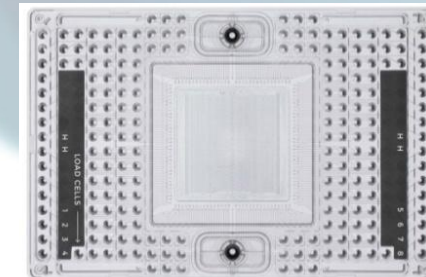
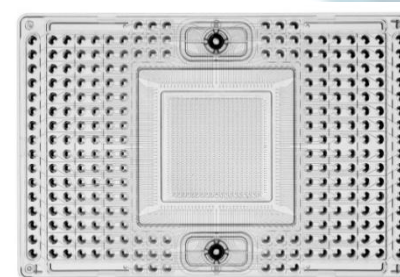
Чип

По размеру

5 – 25 мкм

96 (C1 IFC) либо  
800 (C1 HT IFC)

От 0,3 до 10 нг/мкл



# Протокол C1 Single-Cell



# Приложения Single Cell

## Иммунология

- Т-лимфоциты:  
развитие,  
клональность,  
строение рецепторов

## Неврология

- клеточная структура и  
гетерогенность клеток  
мозга
- изучение  
неврологических  
заболеваний

## Онкология

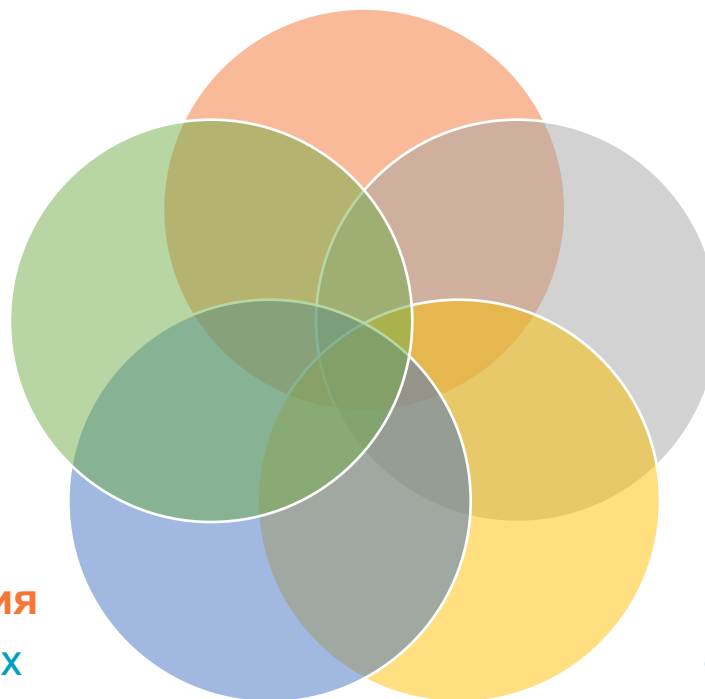
- циркулирующие  
опухолевые клетки
- клональность и  
развитие опухоли
- поиск новых  
маркеров

## Биология развития

- стволовые клетки и их  
программирование
- эмбриогенез

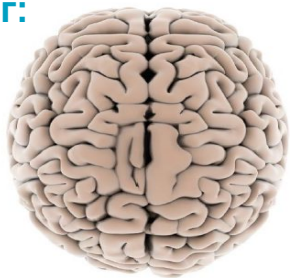
## Фундаментальная биология

- типирование клеточных  
популяций
- поиск новых популяций  
клеток

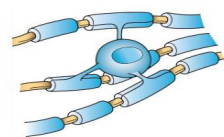
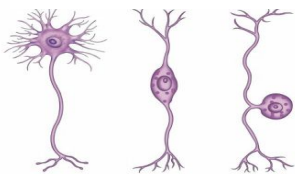


# Профилирование клеточных популяций

Человеческий  
МОЗГ:



нейроны



астроциты



олигодендроциты

Соматосенсорная  
кора

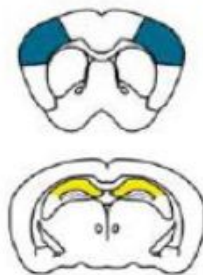
И многие другие?



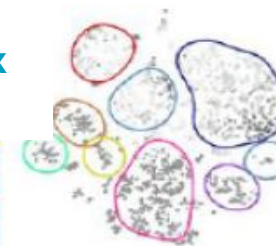
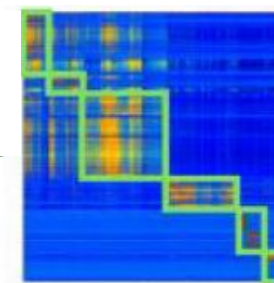
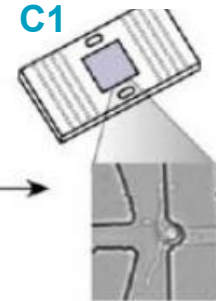
Суспензия  
клеток ткани

Захват и  
процессирование  
клеток на системе  
C1

Секвенирование  
мРНК единичных  
клеток



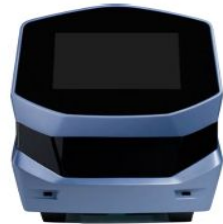
Гиппокампус



3005 клеток  
9 классов  
47 подклассов

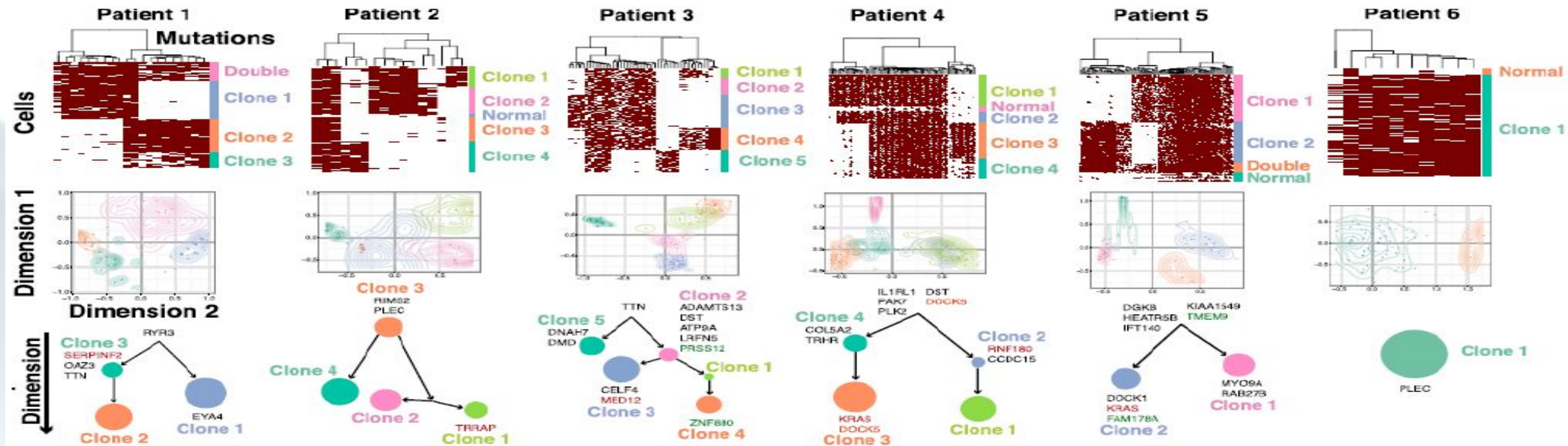


# Определение клональной структуры опухоли



Амплификация  
полногеномной ДНК  
единичной клетки

Обогащение  
целевыми участками  
с потенциально  
важными мутациями



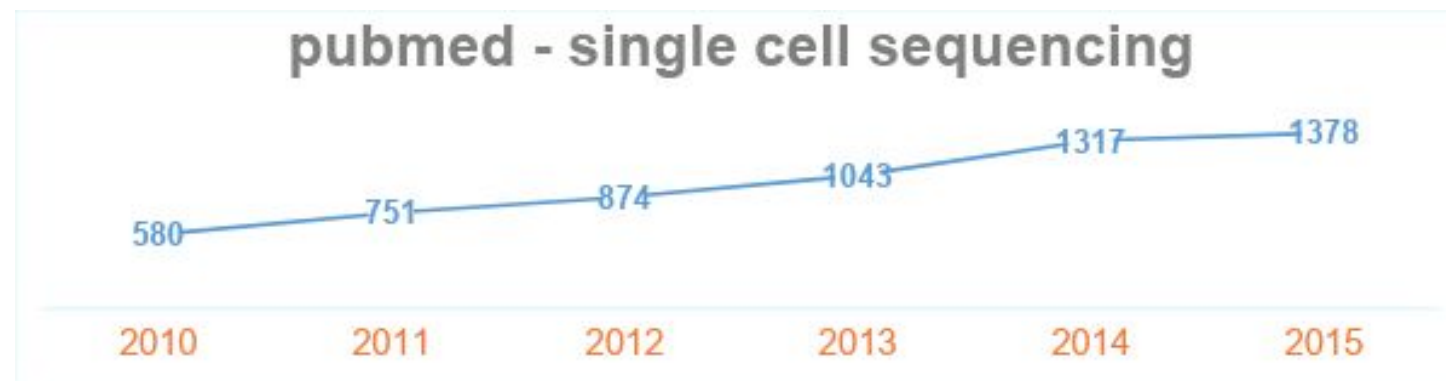
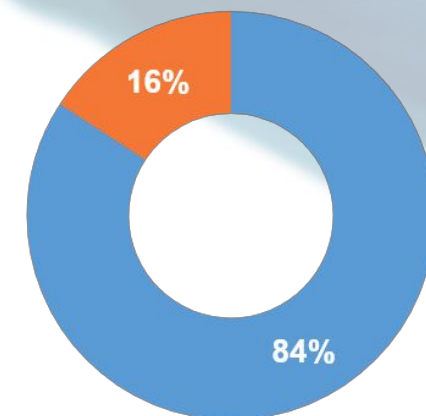
# Вернёмся к нашим баранам

- Телевидение изобрели в 1928 году
- Секвенировать начали в 1977
- Единичные клетки активно изучают меньше 10 лет
- Что же будет дальше?



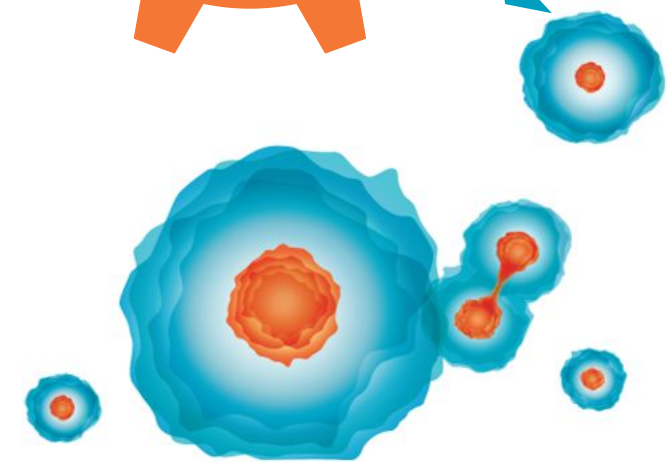
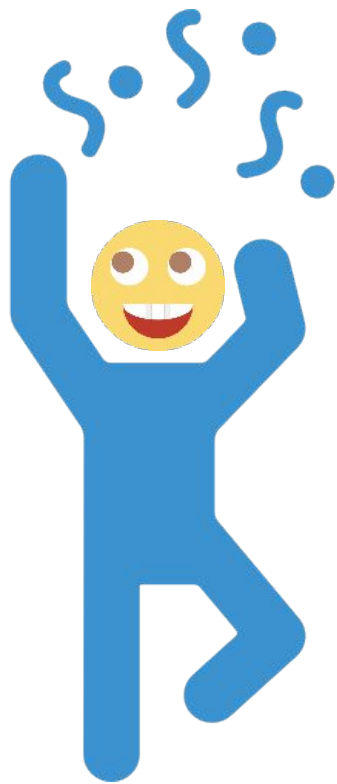
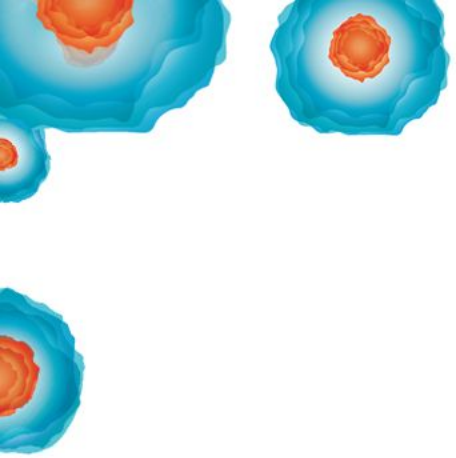
## Импакт-фактор

■ TOP 10 Journal Rankings ■ Прочие



20-и летний опыт компании в организации ведущих лабораторий России





Thank you!  
Let's Do Science! 😊





# Полногеномная амплификация

