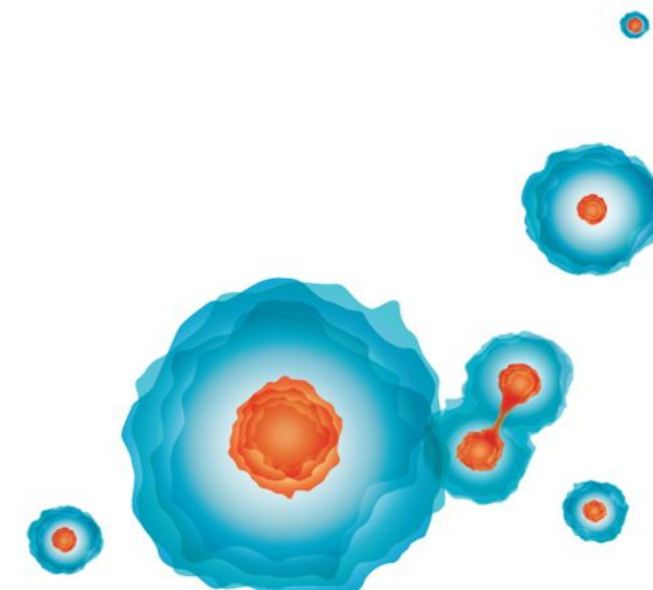


iontorrent
by Thermo Fisher Scientific

Биология в формате

ULTRAHD



Artem Bogomolov a.bogomolov@helicon.ru

Эволюция

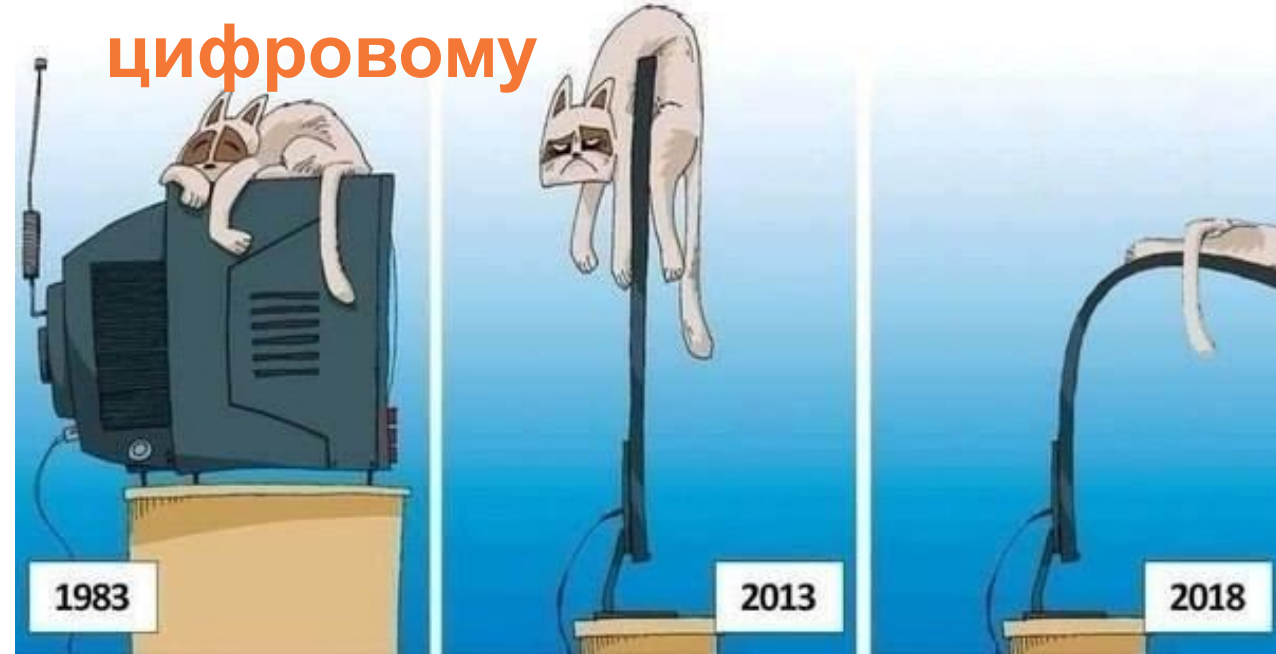


Разрешение

HD >>> Full HD >>> Ultra HD



От аналогового к цифровому



Секвенирование

От отдельных последовательностей до полных геномов всего за 30 лет!

Capillary Electrophoresis



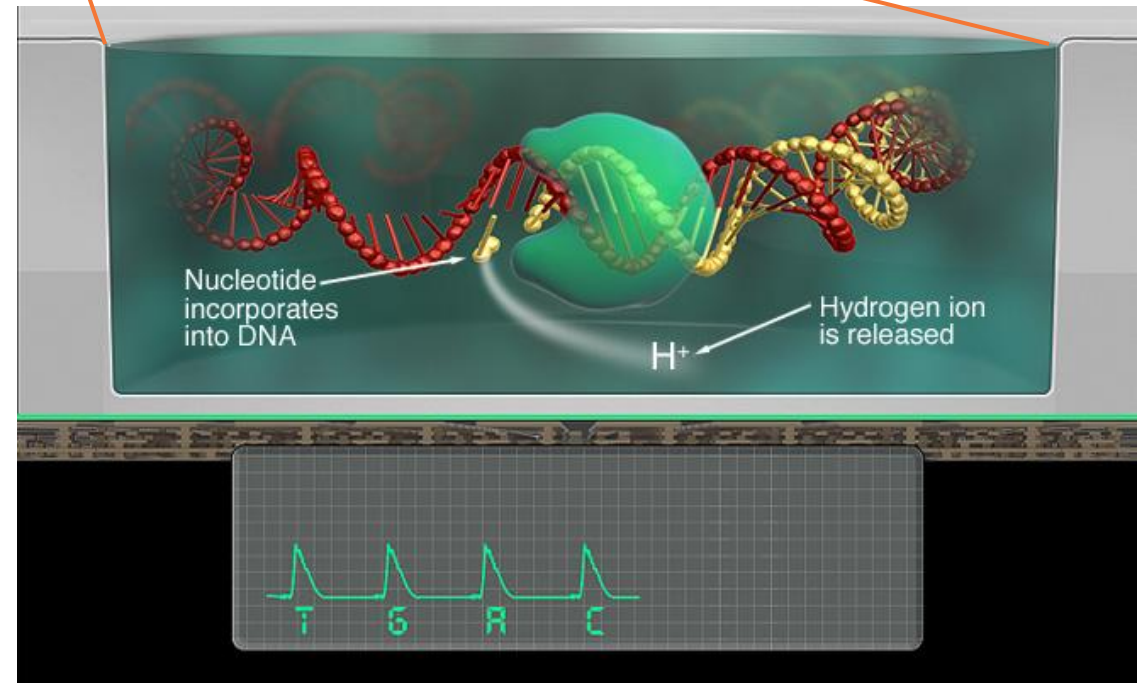
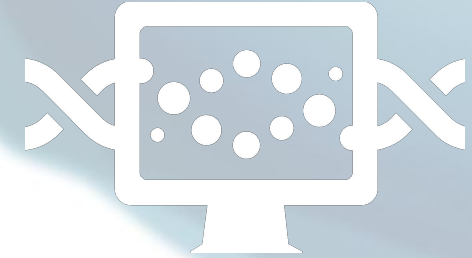
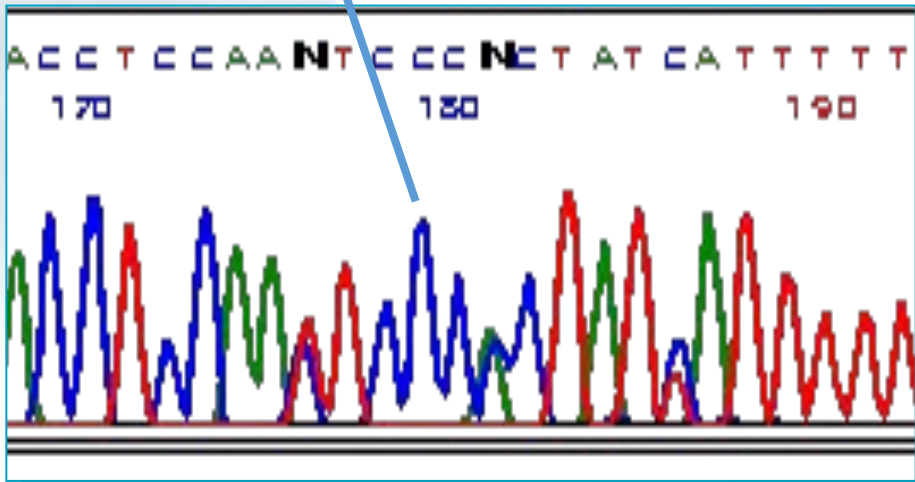
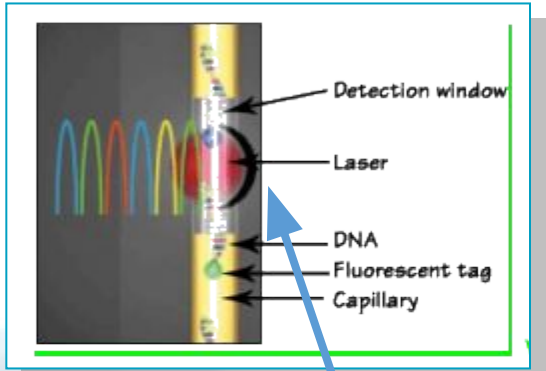
- ✓ “Gold Standard”
- ✓ 1000 b.p. per run
- ✓ 3 days run

Next Generation Sequencing



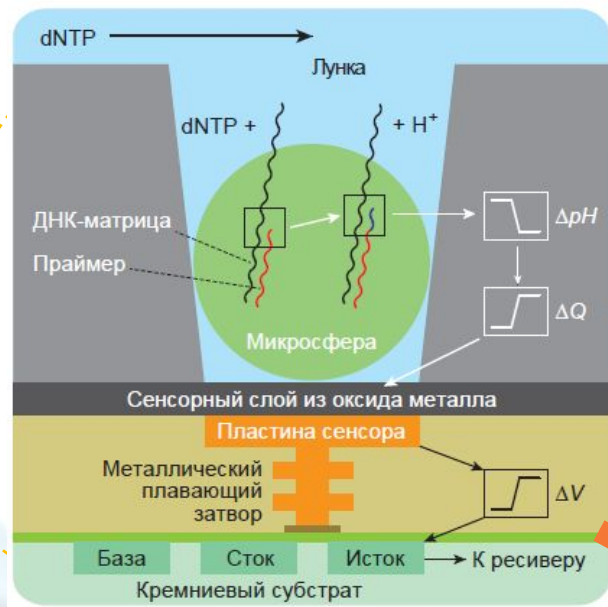
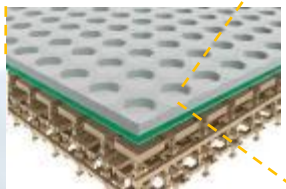
- ✓ Revolution in molecular genetics
- ✓ 100 000 000 b.p. per run
- ✓ Less then 24 hours for run

Цифровая революция



Ion Torrent

Полупроводниковый





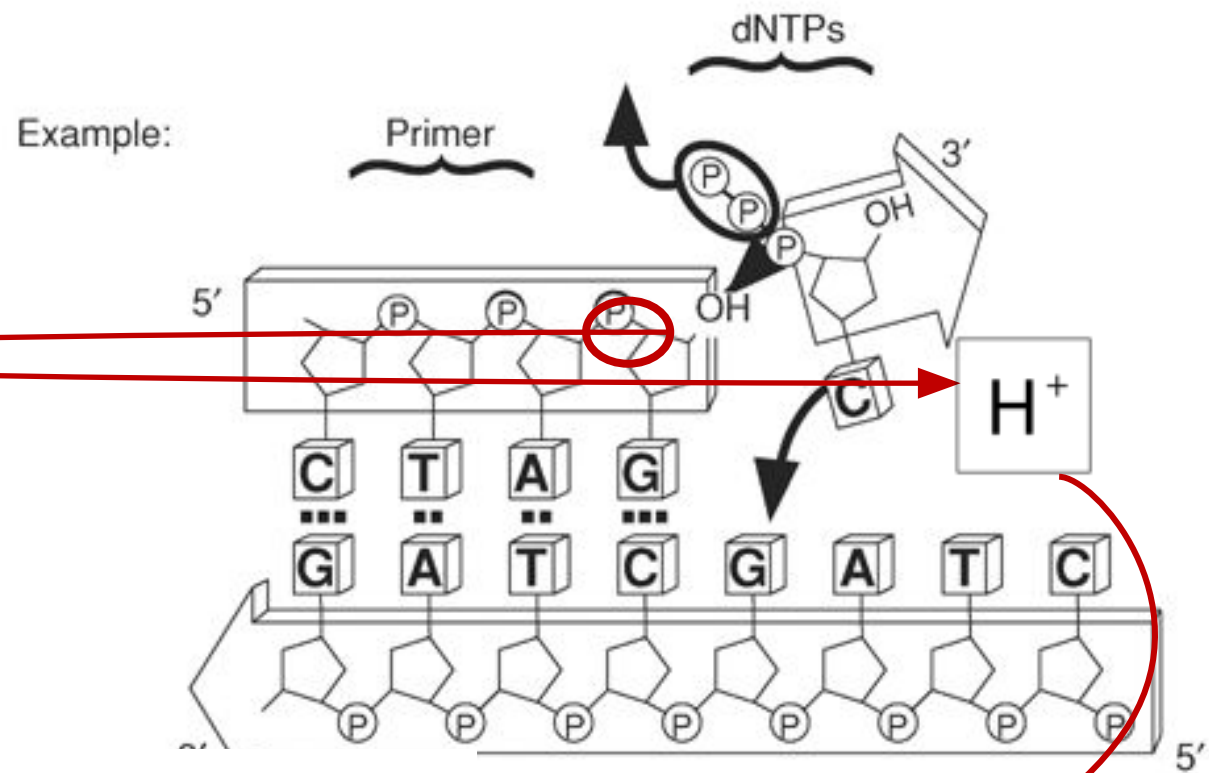
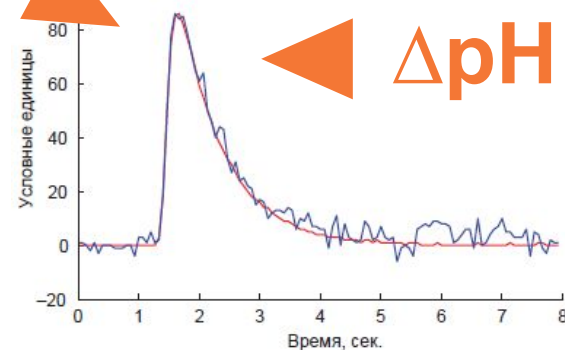
1000

0101

1101

0101

1011



К вопросу о разрешении...

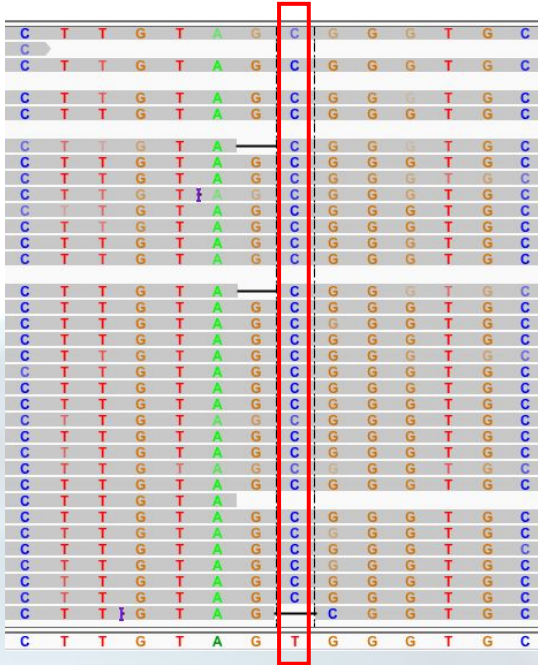
Порог детекции SE - 20%

Гомозиготта

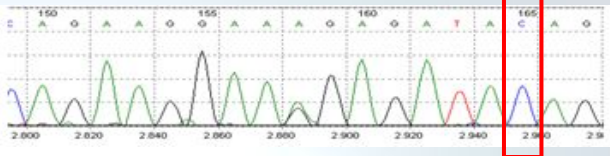
Гетерозиготта

Порог детекции NGS < 1%

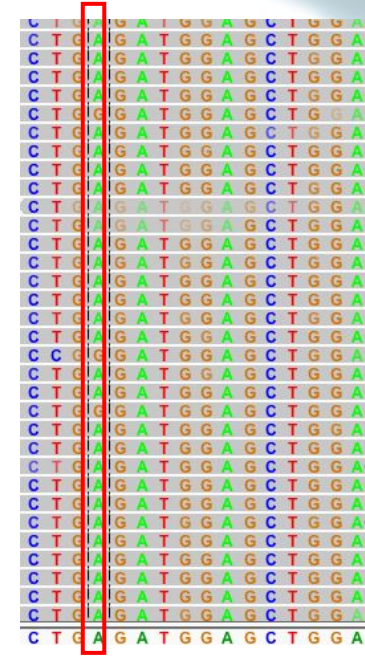
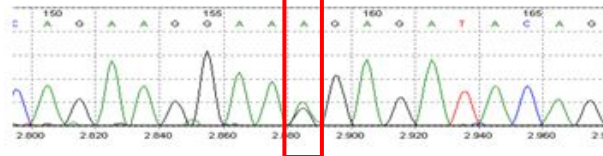
Минорный аллель



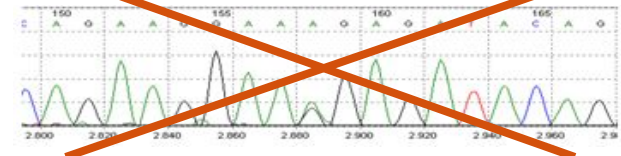
C/C



G/A



A/G (8%)



Насколько безгранична ваша фантазия?

✓ Один секвенатор

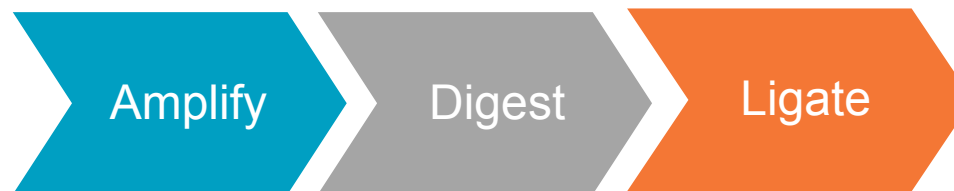
✓ Один рабочий процесс

✓ 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™**



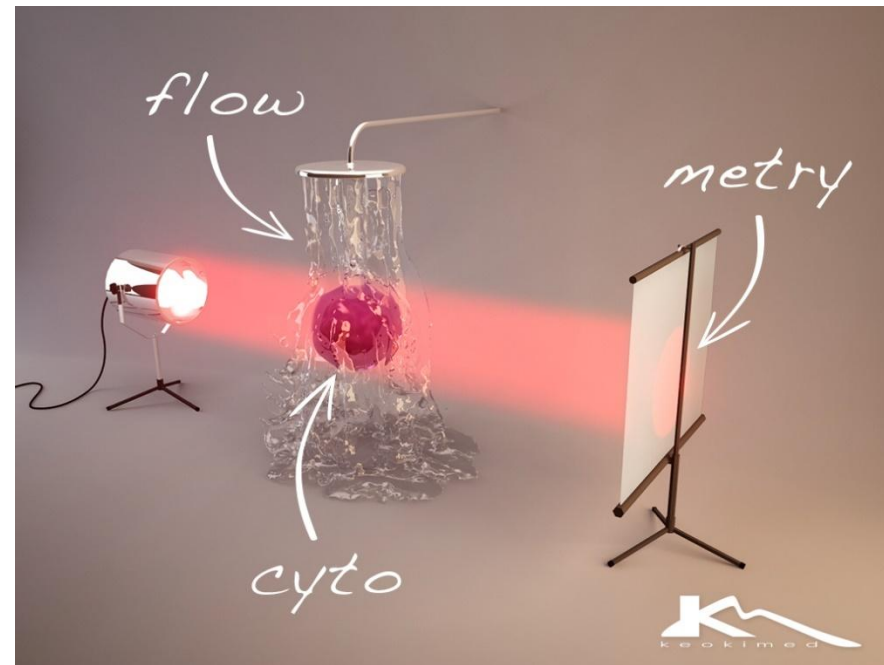
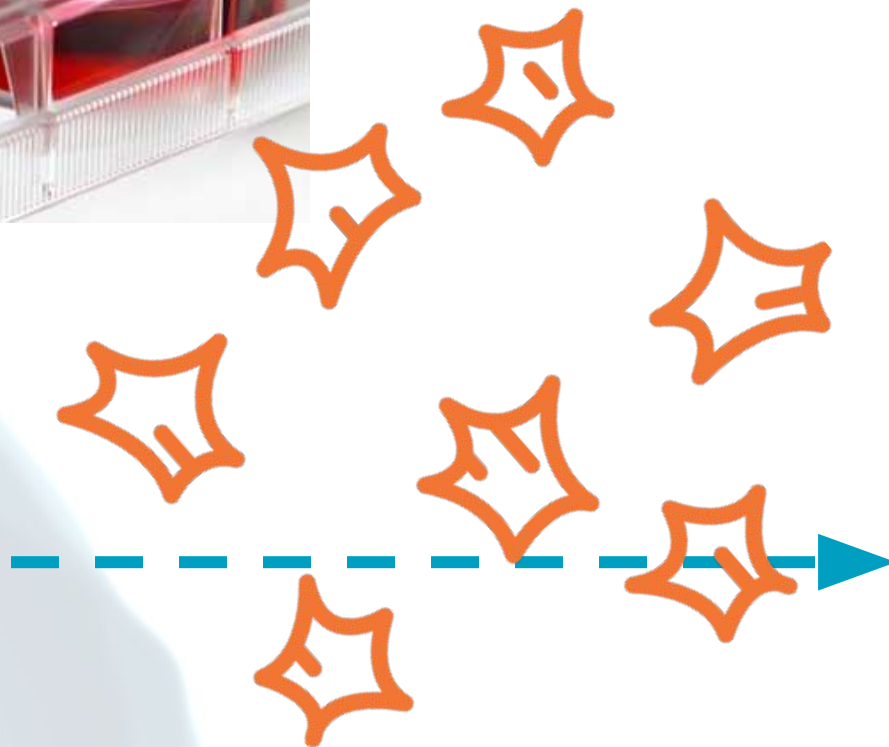
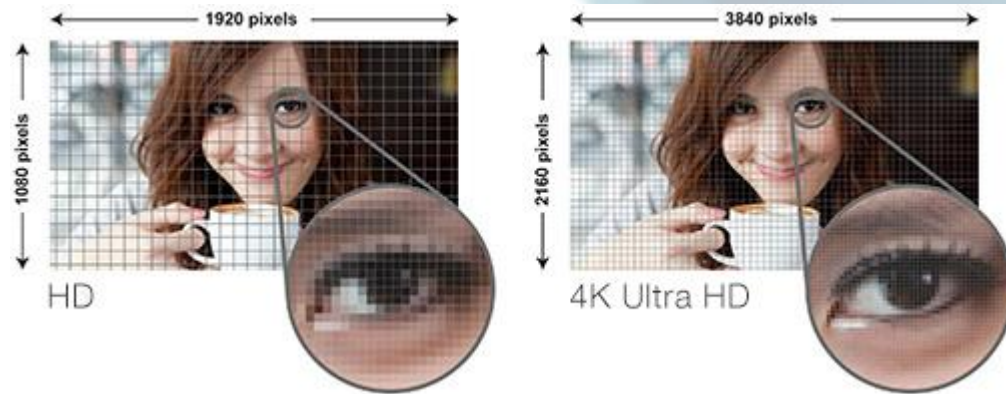
**Система
Ion Chef™**

**Системы Ion
S5™ и S5 XL**

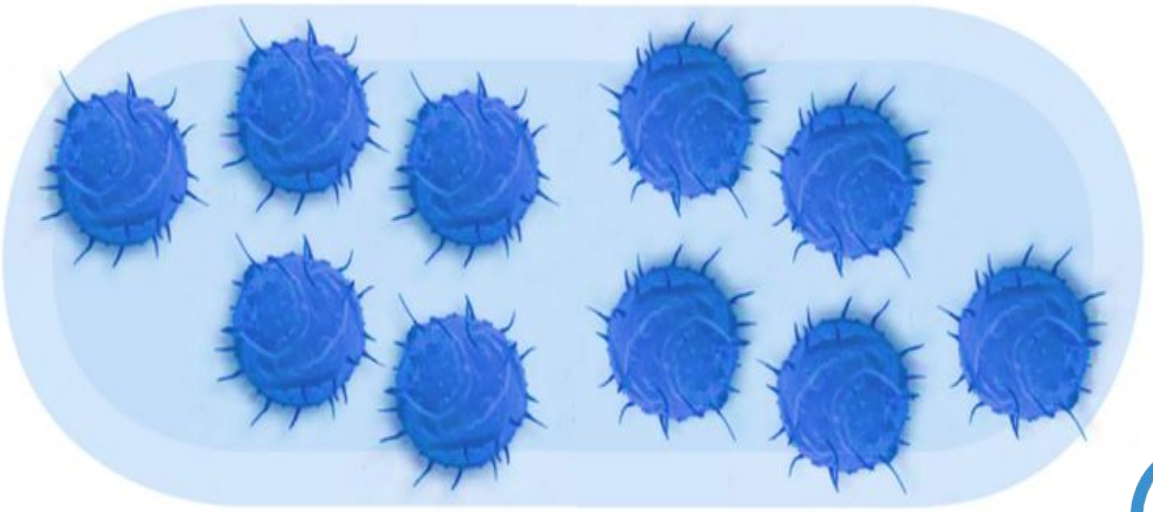


**Torrent Suite™
Ion Reporter™**

Клеточки



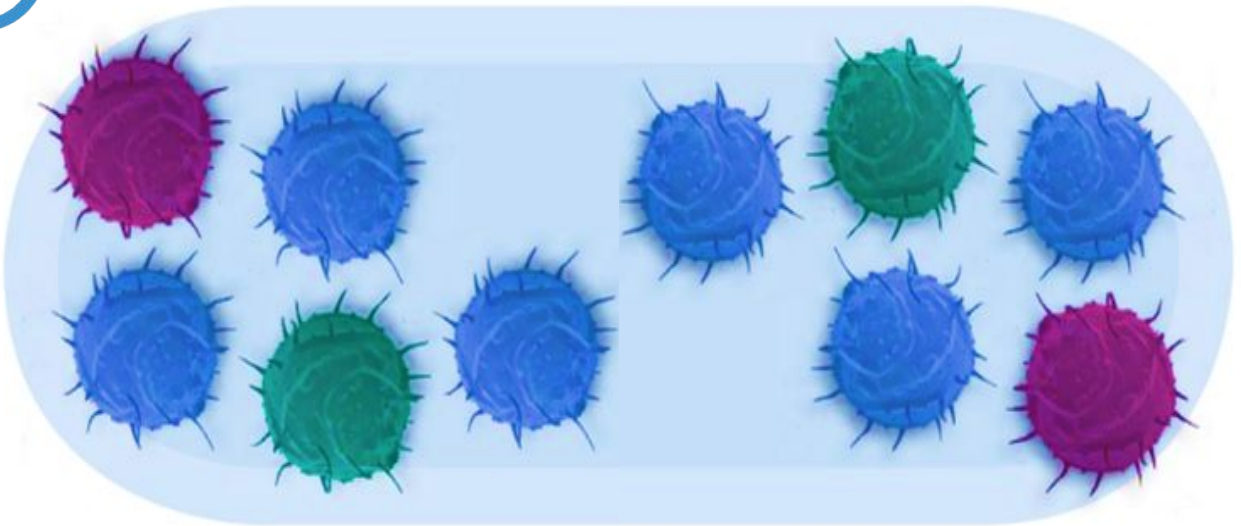
А что, если... каждая клетка уникальна ?



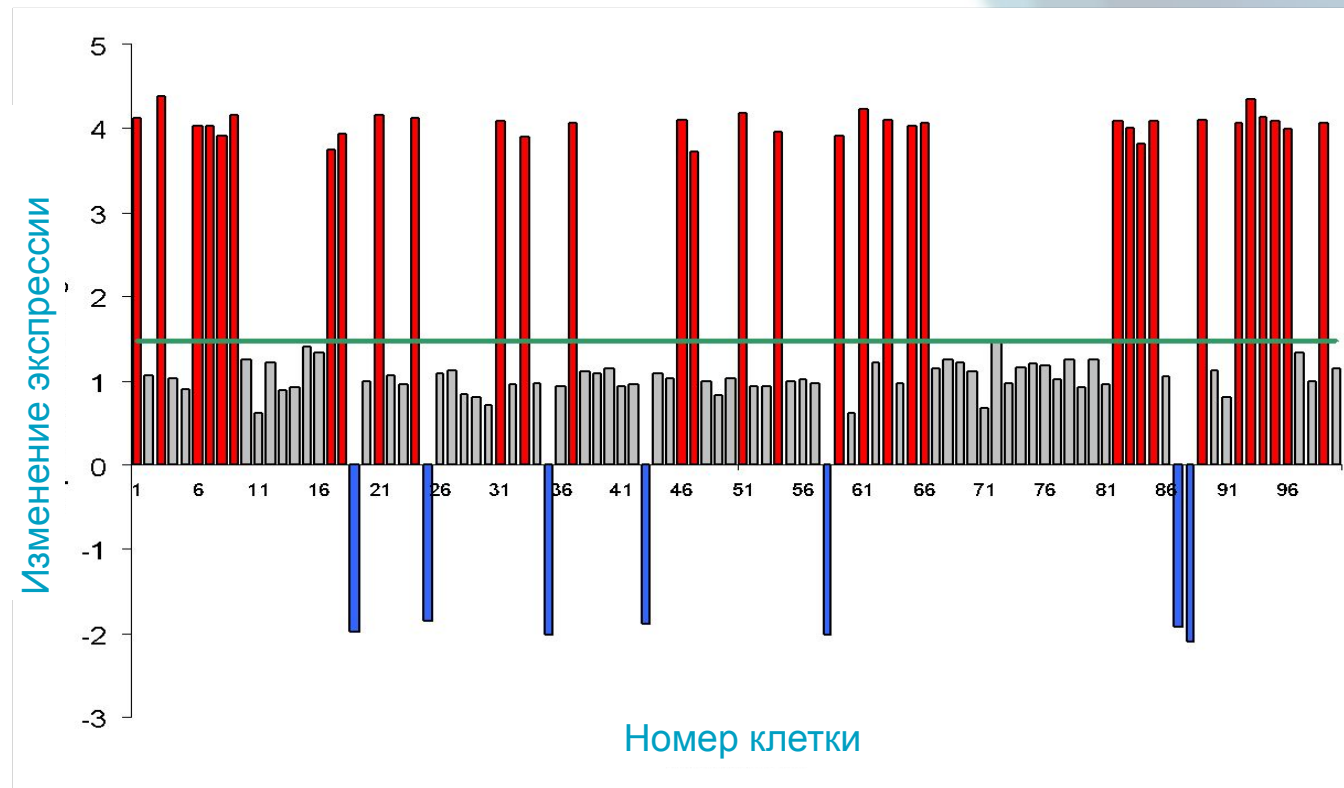
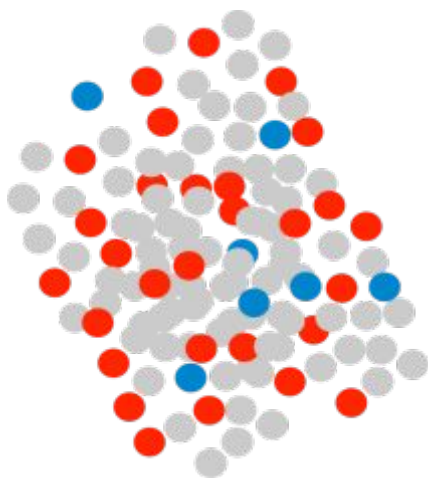
Ожидание



Реальность



Изучение экспрессии генов



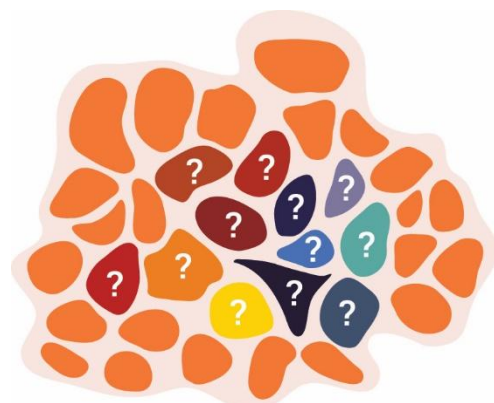
Изменение уровня

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 процессинга единичных клеток



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

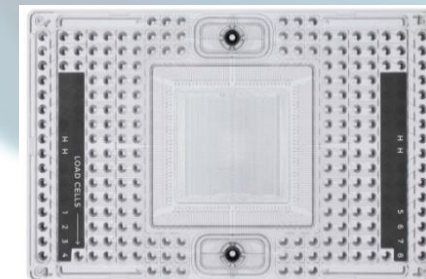
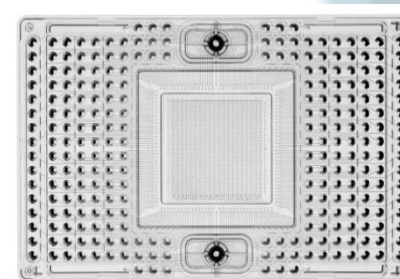
Чип

По размеру

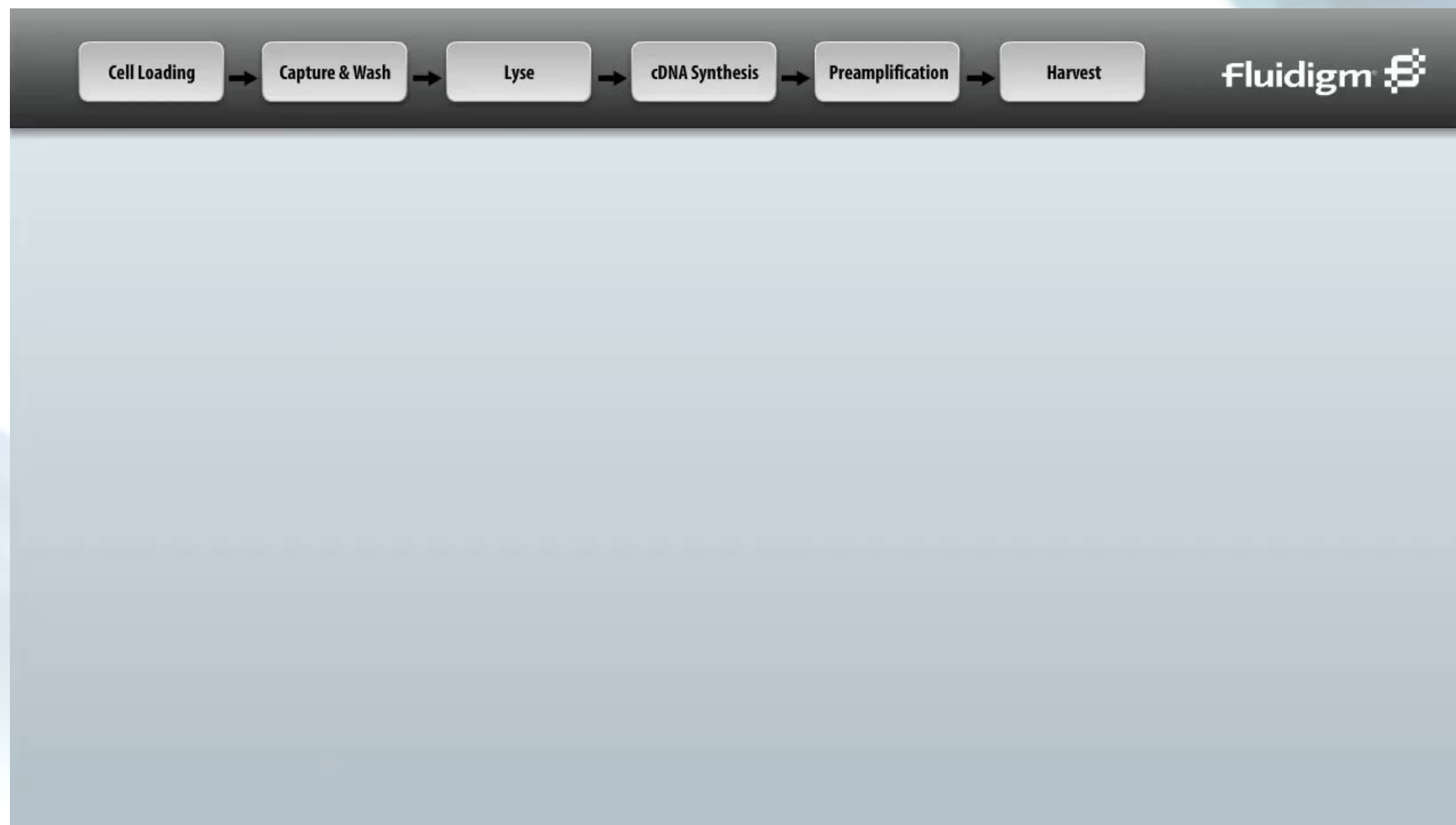
5 – 25 мкм

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

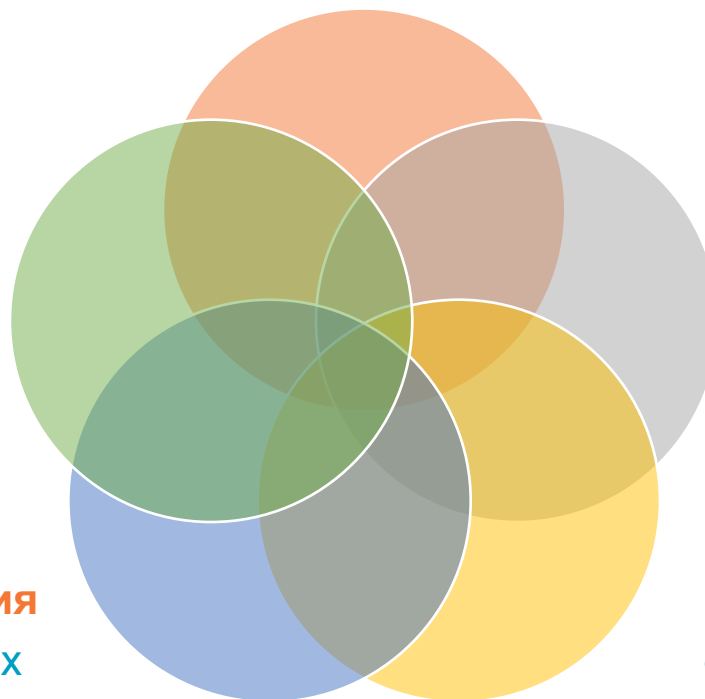
- циркулирующие
опухолевые клетки
- клональность и
развитие опухоли
- поиск новых
маркеров

Биология развития

- стволовые клетки и их
программирование
- эмбриогенез

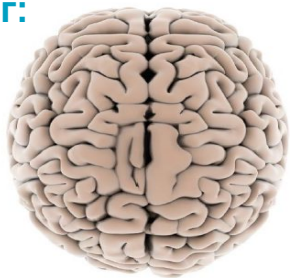
Фундаментальная биология

- типирование клеточных
популяций
- поиск новых популяций
клеток

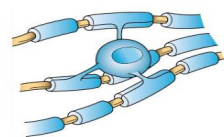
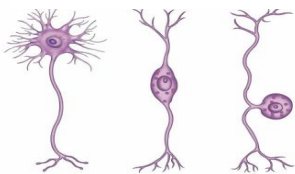


Профилирование клеточных популяций

Человеческий
мозг:



нейроны



астроциты



олигодендроциты

Соматосенсорная кора

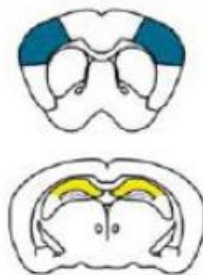
И многие другие?



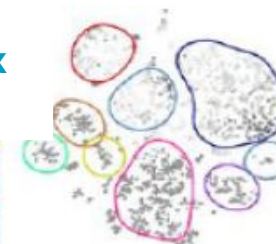
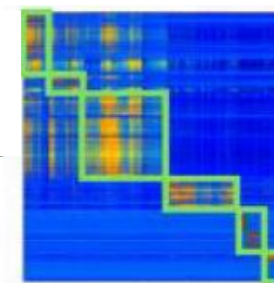
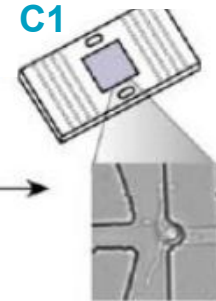
Суспензия
клеток ткани

Захват и
процессирование
клеток на системе
C1

Секвенирование
мРНК единичных
клеток

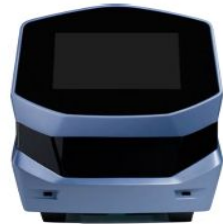


Гиппокампус



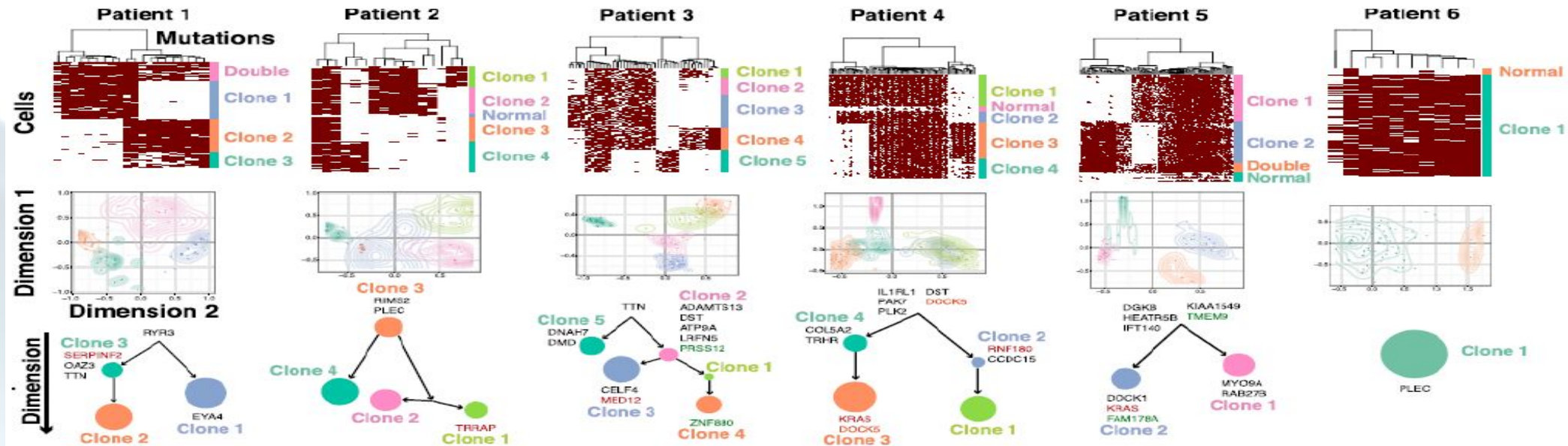
3005 клеток
9 классов
47 подклассов

Определение клональной структуры опухоли



Амплификация
полногеномной ДНК
единичной клетки

Обогащение
целевыми участками
с потенциально
важными мутациями



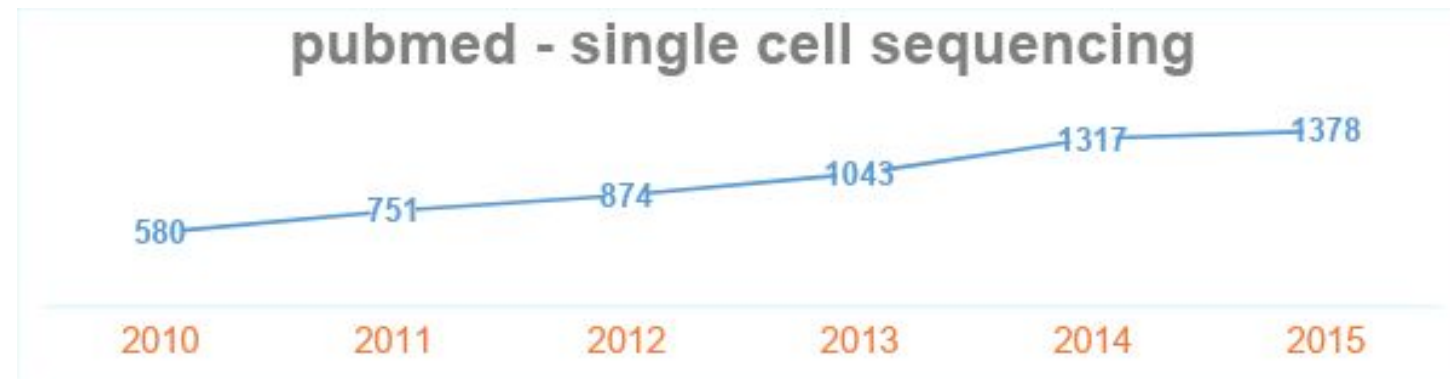
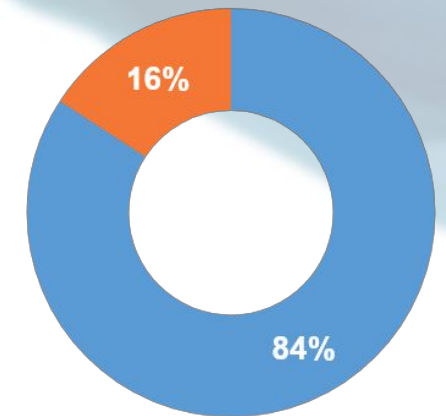
Вернёмся к нашим баранам

- 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



Сортер клеток
S3e, Bio-Rad



Система C1,
Fluidigm

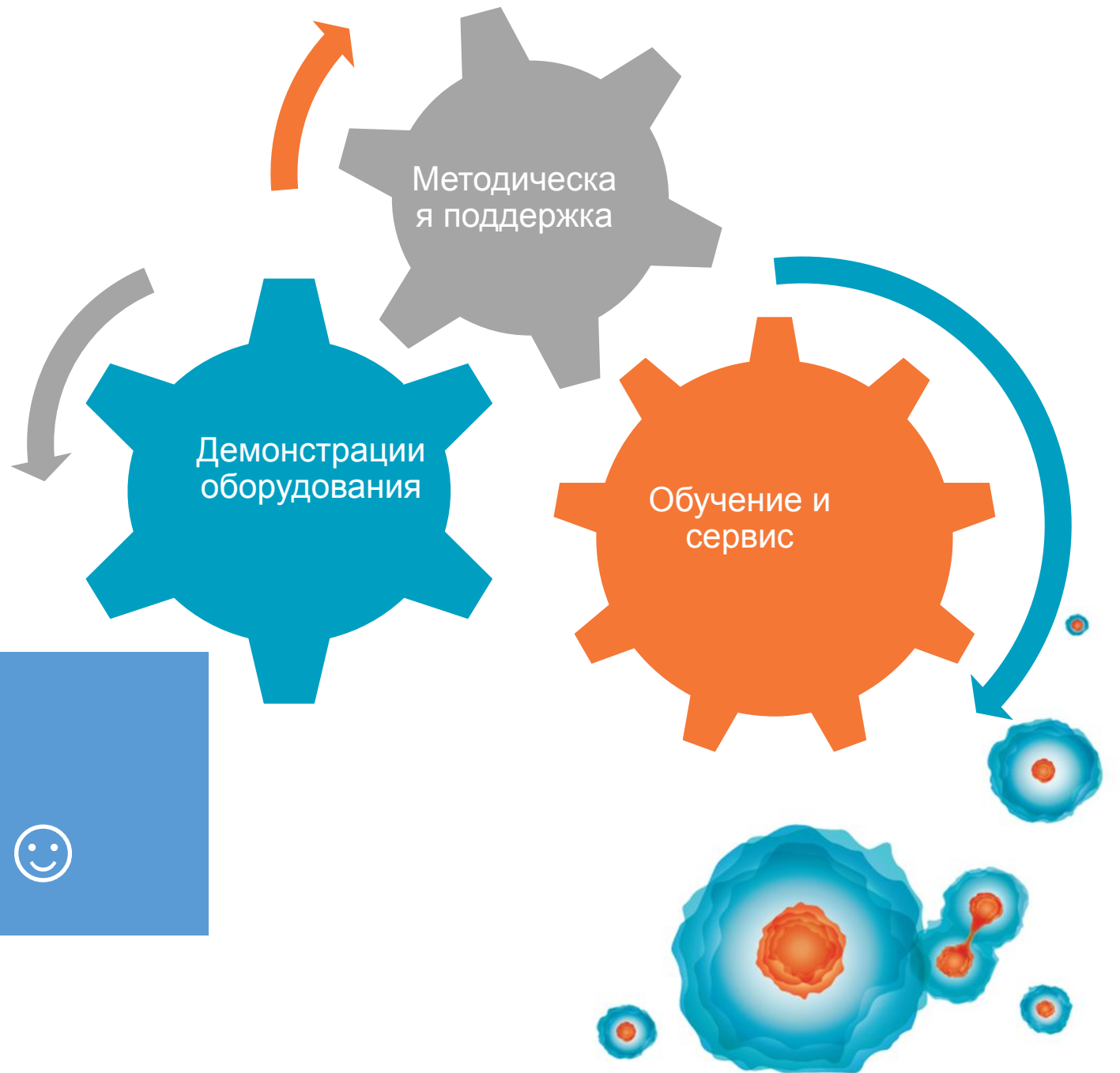
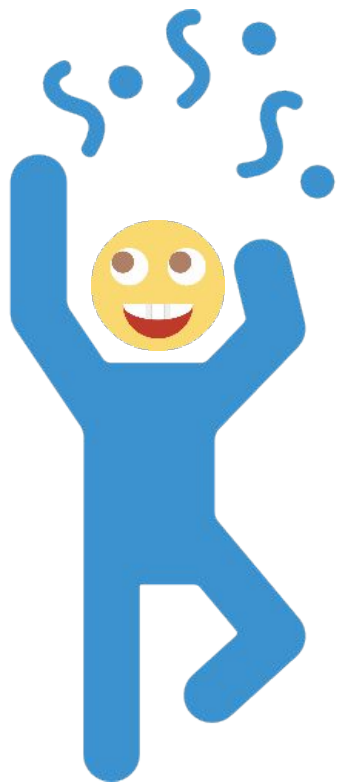
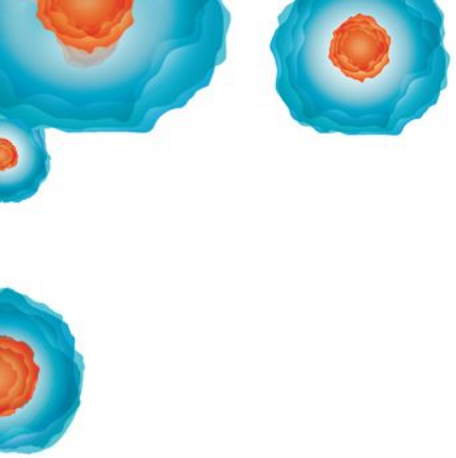


Микроскоп ZOE, Секвенатор
S5 XL,
Bio-Rad Thermo Fisher



Счетчик
Countess II,
Thermo Fisher





Thank you!
Let's Do Science! 😊



Полногеномная амплификация

