

SkyGen

Кто проживает на дне океана?

Нарэ Акопян
Директор по маркетингу и
научной поддержке клиентов
SkyGen



Супергерои из морских глубин

- Адаптация к высокому давлению воды
- Адаптация к постоянной темноте
- Биолюминесценция - способность испускать собственный свет
- Возможность различать цвета
- Сильно развитая мускулатура и двигательные конечности (плавники)
- Выживаемость без гемоглобина



Почему важно изучать существ морских глубин?

- Морская среда обитания представляют собой крупнейшие водные экосистемы Земли, однако мало что известно о геномах морских организмов.
- Понимание геномов исчезающих видов животных
- Способность видов адаптироваться и выживать в экстремальных условиях
- Изучение эмбрионального развития морских существ в экстремальных условиях обитания
- Экономический аспект – рациональное использование биоресурсов океана и морей



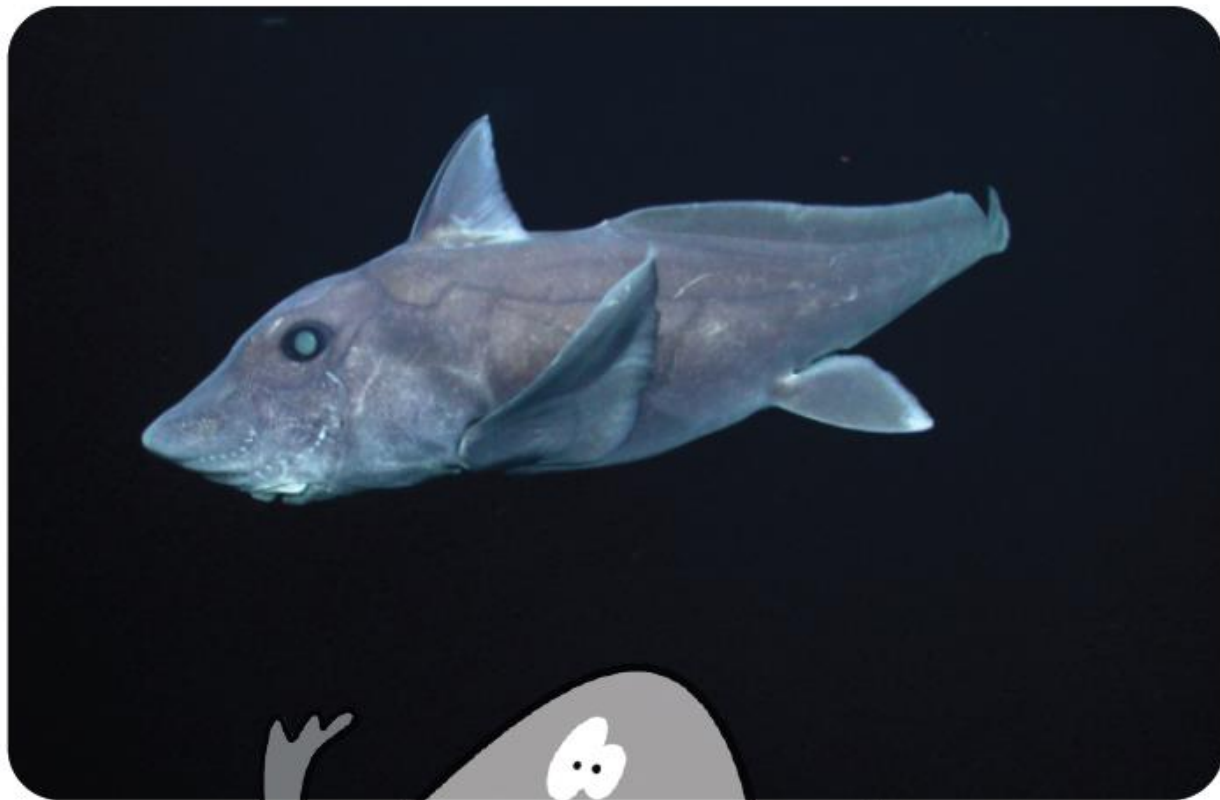
Морская бабочка в Японском море
©Александр Семенов



Существо морских глубин



Призрачная акула
Hydrolagus trolli



Возможна ли жизнь без гемоглобина?



Ледяная рыба или белокровка
(*Champsoscephalus gunnari*)
обитает у берегов Антарктиды



Прозрачные рыбы

Исследование прозрачных рыб дало понимание:

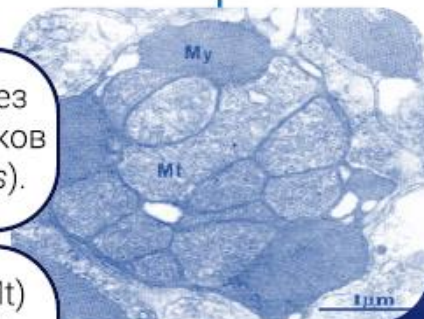
- Отсутствует миоглобин в скелетной мускулатуре, но присутствует в сердечной, объем митохондрий в скелетных мышцах существенно выше, чем в миокарде.
- Эволюция гемоглобина происходила миллионы лет, но в специфических условиях Антарктики (холодная вода, обогащенная кислородом)
- Адаптивные преимущества могут достигаться за счет эволюционной утраты гемоглобина



Остров Буве



Белокровные рыбы



Поперечный разрез миоцитов желудочков сердца (*C. aceratus*).

Большие митохондрии (Mt) по периферии окружены миофибриллами (My)

Полярная рыба активно экспрессирует белки-антифризы

- Сборка *de novo* и анализ транскриптома рыбы *Liparis gibbus*, выловленной у берегов Восточной Гренландии.
- Гены белков-антифризов AFP являются 1% самых активных генов.
- Особенность - на сегодня это единственная известная биофлуоресцирующая полярная рыба.
- Результаты подчеркивают необходимость белков-антифризов для выживания рыб в полярных широтах.



Liparis gibbus. Burns et al. 2022
10.1177/11769343221118347

A Type I AFP predicted 3D structure



B LS-12-like protein predicted 3D structure

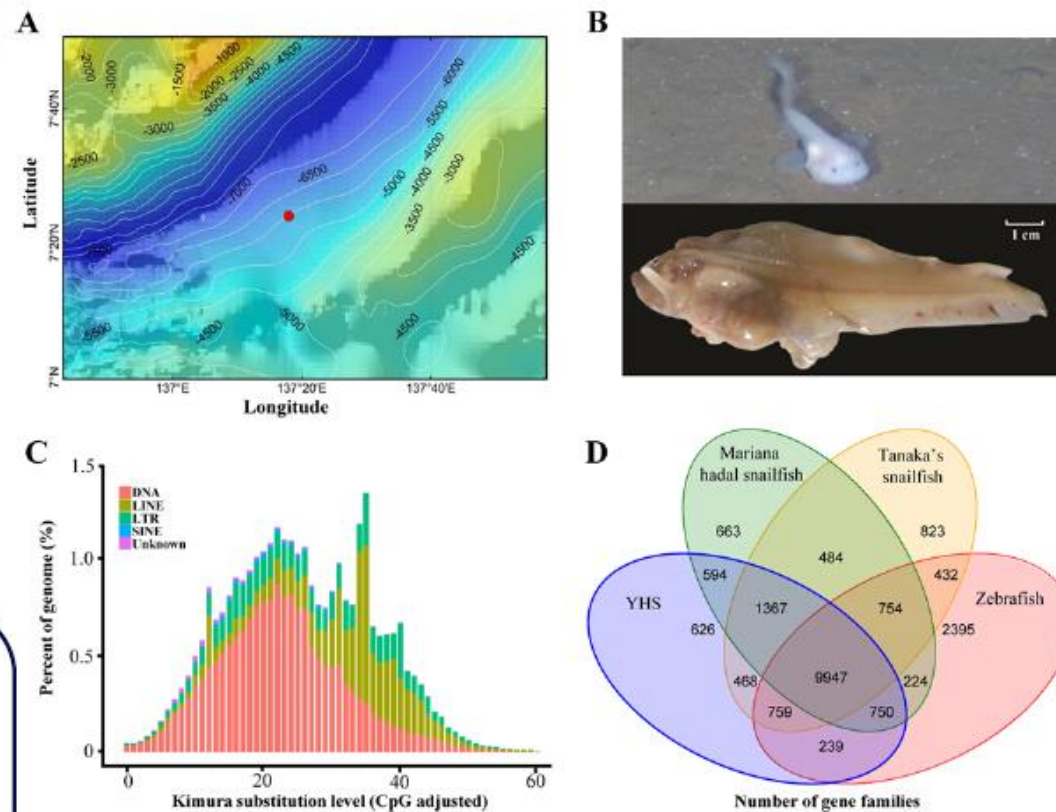


Морские слизни из Япского желоба живут на экстремальной глубине

- Китайские ученые секвенировали геном морских слизней, выловленных на глубине 7 000 метров в Япском желобе.
- Ультраабиссаль (hadal zone) – зона океана глубже 6 000 метров, характерная для глубоководных желобов.

Рис. 1. Коллекция и морфология морского слизня и ее геномные характеристики.

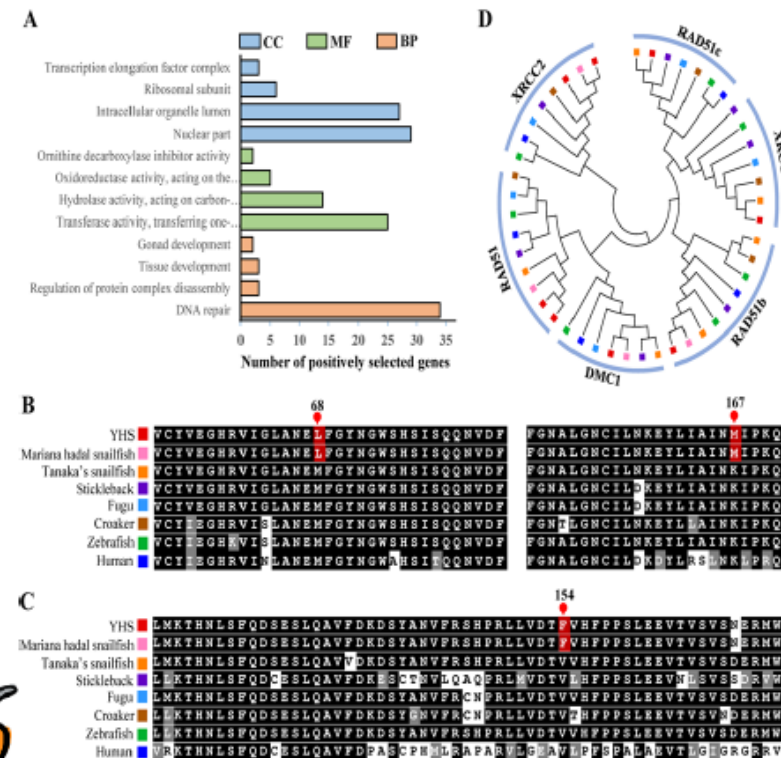
(A) Батиметрическая карта желоба Яп. Красная точка указывает место, где китайским пилотируемым подводным аппаратом «Цзяолун» были пойманы две рыбы-хадалы. (B) Морской слизень (YHS) на высоте 6 903 м (вверху) и после поимки (внизу). (C) Распределение семейств TE по геному YHS: ДНК-транспозоны (ДНК), длинные вкрапленные ядерные элементы (LINE), длинные концевые повторы (LTR), короткие вкрапленные ядерные элементы (SINE) и неизвестные TE (неизвестно). (D) Диаграмма Венна, показывающая общие и уникальные семейства генов у YHS, улитки Марианского хадала, улитки Танаки и рыбки данио.



Weston J.N.J., et al. 2022

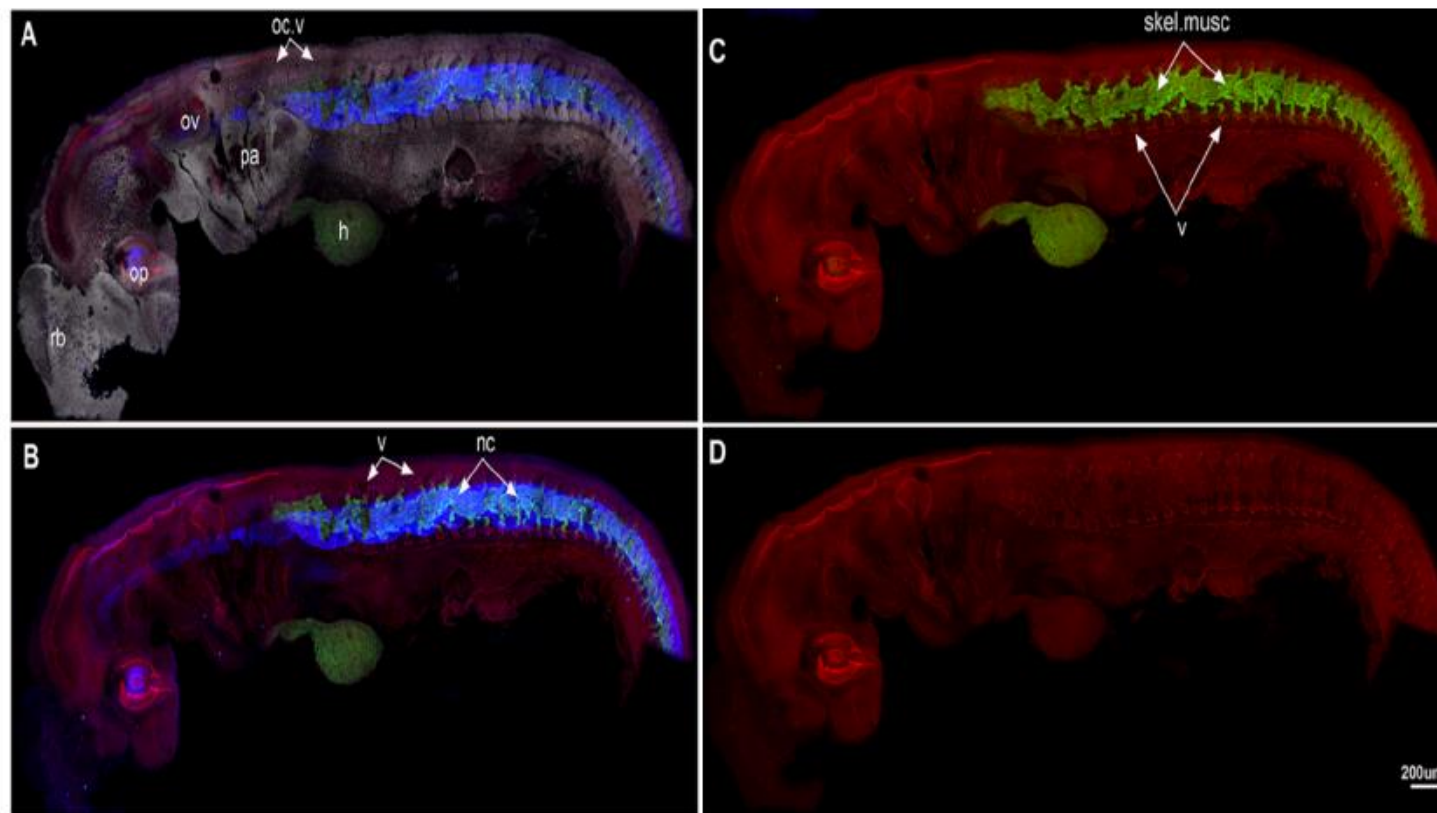
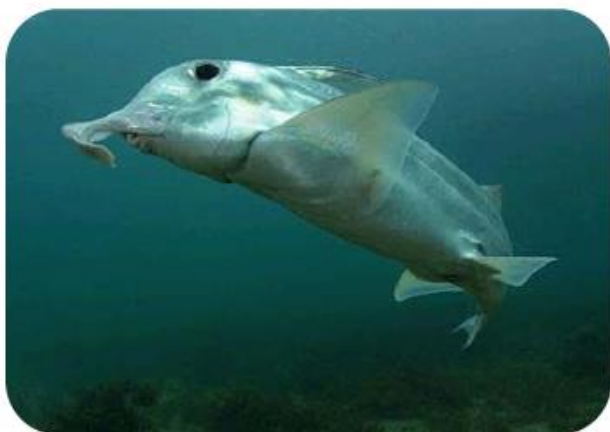
Геномные признаки усиленных механизмов репарации ДНК у морского слизня (YHS)

- Размер генома оценили в 815,59 мегабаз, 731,75 мегабаз собрали *de novo*.
- Высокое давление воды может повреждать ДНК, поэтому геном YHS был обогащен генами системы репарации.
- Таким образом, авторы исследования показали молекулярные механизмы адаптации морских слизней из Японского желоба к глубоководной среде.
- Подобные механизмы характерны и для морских слизней из Марианской впадины, хотя эти два вида разделяют сотни километров.



Эмбриональное развитие *Callorhynchus milii*

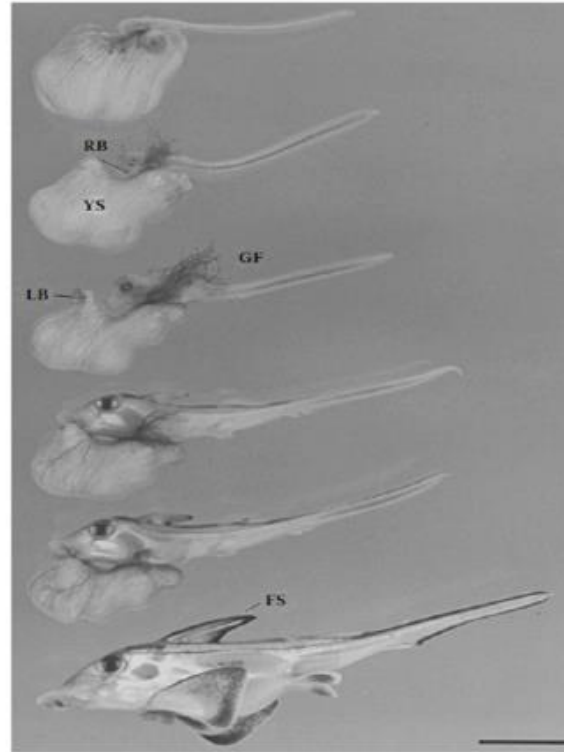
Эмбрион *Callorhynchus milii*,
стадия 23



Эмбриональное развитие *Callorhinchus milii*

Размер эмбрионов в этой серии варьируется от TL 53 мм (вверху) до TL 122 мм (внизу). Хорошо видны боковые отростки (LB) желточного мешка (YS). Также показаны наружные жаберные лепестки (GF) и роstralный бульбус (RB). Развивающийся финский шип (FS) появляется только на поздних стадиях развития. Масштаб = 2 см.

Самцы демонстрировали более медленную скорость роста, чем самки, и самки достигали большей максимальной длины.



Эмбриональное развитие *Callorhinchus milii*, собранного в заливах Мальборо, Новая Зеландия



Callorhinchus milii плывёт над высоким каменистым рельефом у побережья центральной Калифорнии на глубине 1624 м. (Фотография предоставлена Научно-исследовательским институтом аквариума Монтерей-Бей.)

SkyGen



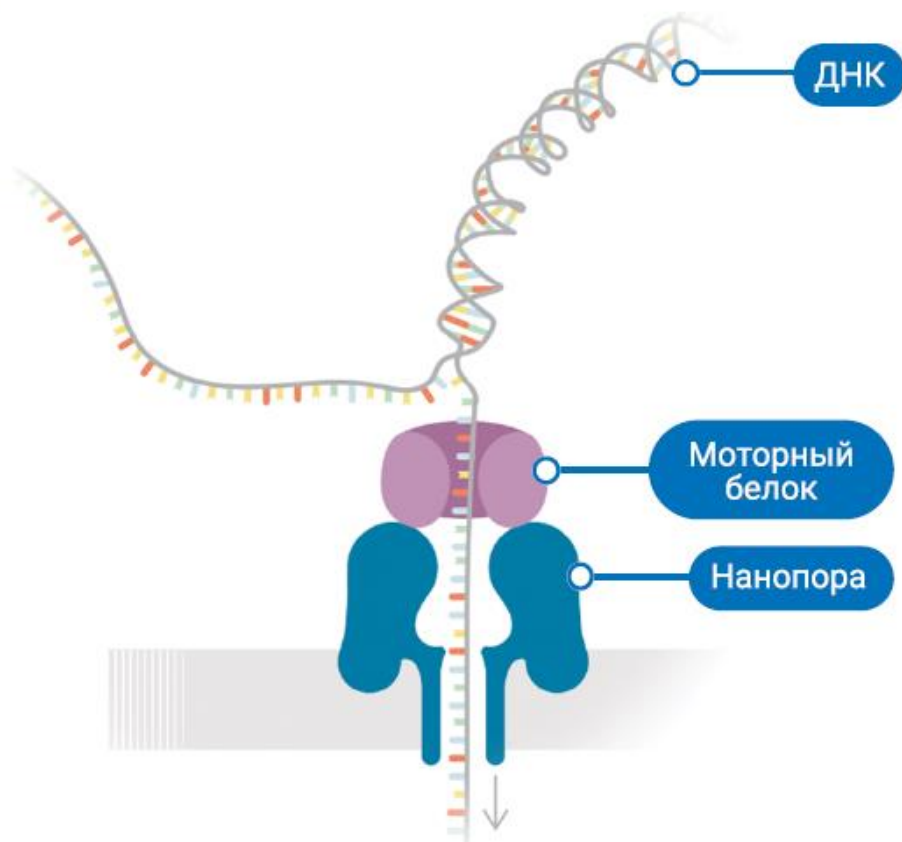
Решения от Oxford Nanopore

Существа морских глубин

Oxford Nanopore



Секвенирование ДНК с помощью нанопор



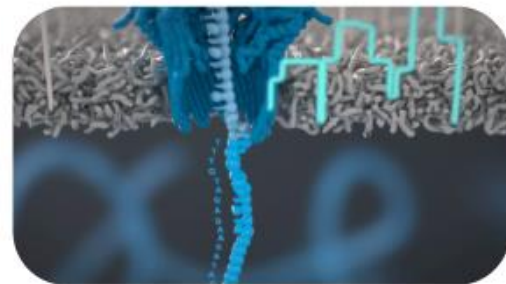
1

На мембране находятся нанопоры
Через нанопору проходит ионный ток



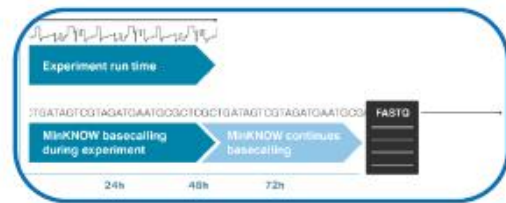
2

Когда цепь НК проходит через пору
или вблизи нее, возникают
характерные колебания тока

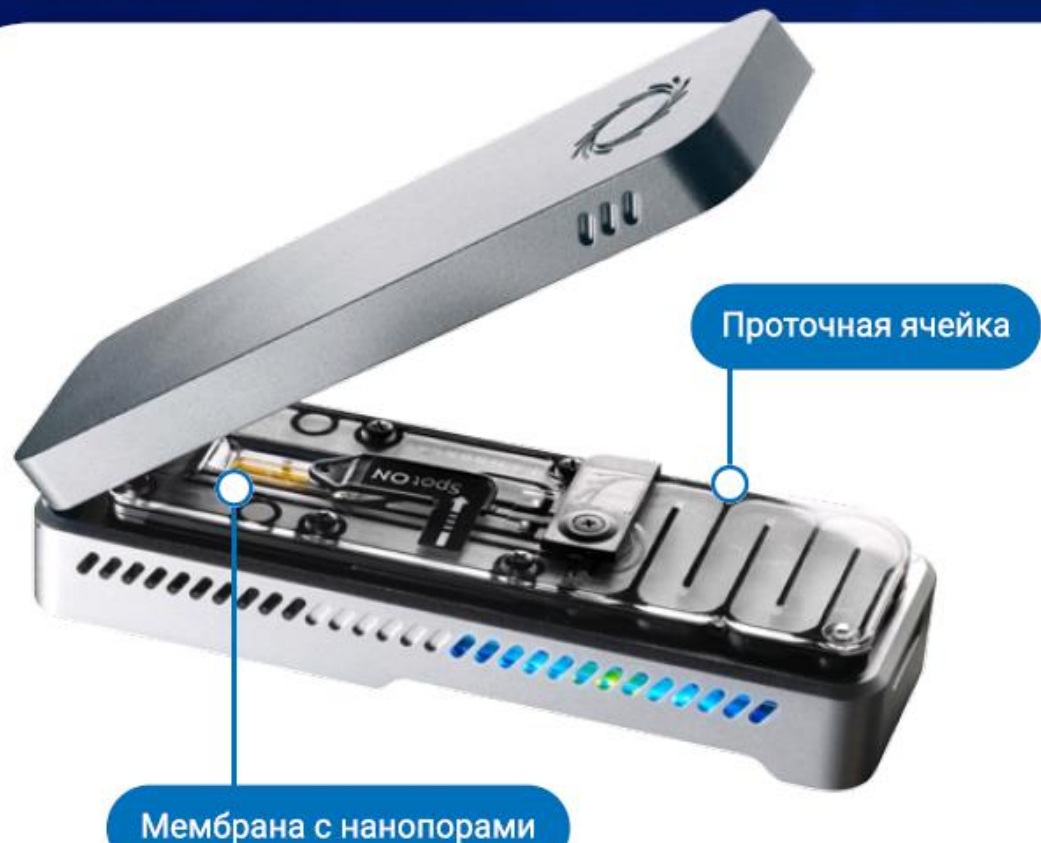


3

По специфическим характеристикам
ионного тока прибор идентифицирует
основания, прошедшие через пору



MinION: портативное устройство для секвенирования ДНК и РНК



Особенности

Прямая детекция ДНК или РНК
Длина чтения ограничена длиной фрагмента
Данные в реальном времени – через 5 минут после запуска
Выход данных от среднего (бактериальные геномы) до очень высокого (большие эукариотические геномы)

Существа морских глубин

Oxford Nanopore

SkyGen

Возможности нанопорового секвенирования



Полногеномное
секвенирование



Таргетное
секвенирование



Секвенирование
РНК



Метагеномика



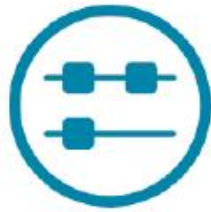
Эпигенетика



SNV



Структурные
вариации



Фазирование



Сборка



Конформация
хроматина

Существа морских глубин

Oxford Nanopore

SkyGen

Только нанопоровая технология обеспечивает все перечисленное ниже:

Все технологии позволяют:

- Сборка геномов *de novo*
- Высокая точность консенсуса
- Таргетное ресеквенирование
- Определение количества кДНК
- Фазирование
- Выявление SNP
- Нанесение штрих-кода для мультиплексного анализа
- Небольшое кол-во образца

Но только ONT даёт ВСЕ следующие возможности:

- Быстрая, легкая подготовка
- Не требует больших вложений
- Секвенирование в реальном времени
- Разные масштабы, разное количество образцов: любой геном, из любого источника в любом месте
- Длинные «риды»
- Прямой анализ (ДНК, РНК)

Существа морских глубин

Oxford Nanopore

SkyGen

Генная инженерия

Клонирование
CRISPR/Cas
Синтез олигонуклеотидов и генов

Молекулярная генетика и цитогенетика

ПЦР, FISH анализ, биочипы
Анализ одиночных клеток
ПГД

NGS и нанопоровое секвенирование

Геномика, транскриптомика, эпигенетика
Реагенты для создания библиотек
Секвенаторы и биоинформатика

Криминалистика

Экстракция ДНК из объектов
Автоматизация анализа
Капиллярное секвенирование

SkyGen

Протеомика

Выделение белков
Масс-спектрометрия
Хроматография

Ветеринарная диагностика

Подготовка проб
Оборудование для ПЦР
Тест-системы

Биотехнологическое производство

Штаммы и среды
Химические реактивы
Поверка систем дозирования



Продукты и решения для клеточной биологии



Выделение

- Магнитный штатив DynaMag Thermo Fisher Scientific
- Магнитные частицы для выделения Dynabeads Thermo Fisher Scientific
- Одноканальные дозаторы
- Wuhan Servicebio Technology



Культивирование

- Классические питательные среды Gibco™, HiMediaR
- Фетальная бычья сыворотка (FBS) Nobimplex
- Бессывороточные среды для T-cell, MSC, PSC Gibco™, Nobimplex
- Культуральный пластик Biologix
- CO2 Инкубатор Hanil



Модификация

- Система для трансфекции Neon Thermo Fisher Scientific
- Реагенты для трансфекции Lipofectamine Thermo Fisher Scientific
- Готовые наборы для Cas-редактирования генов GenScript



Анализ

- Автоматический счетчик клеток SOL COUNT
- Биологические и инвертированные микроскопы Micro-shot Technology
- Набор для детекции пролиферации CCK-8 kit Abbkine
- Набор для детекции апоптоза Annexin V Abbkine



Хранение

- Среда для криоконсервации клеток Gibco™, Nobimplex
- Криопробирки Biologix CryoKING
- Низкотемпературные морозильники Hanil
- Сосуды Дьюара Biologix CryoKING

Спасибо за внимание!

SkyGen

Вдохновляем на
научные открытия!

Нарэ Акопян
Директор по маркетингу и
научной поддержке клиентов
SkyGen

