



Разработка и коммерциализация спектро-секвенатора ДНК и РНК.

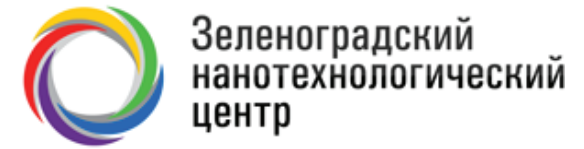
Более 50 лет назад Нобелевский лауреат Ричард Фейнман на лекции в Стэнфордском университете сказал то, что во многом справедливо и сегодня.

«Какие сегодня основные центральные и фундаментальные проблемы биологии? Это вопросы подобные: Что такое последовательность оснований в ДНК? Что может случиться когда вы имеете мутацию? Как порядок оснований в ДНК связан с порядком аминокислот в белке? Какая структура у РНК; это одиночная цепочка или двойная цепочка, и как она связана с порядком оснований в ДНК? Как устроены микросомы? Как синтезируются белки? Как движется РНК? Где её место в этом? Где синтезируются белки? Что заставляет аминокислоты собираться в них? В фотосинтезе, где расположен хлорофилл; как он организован, какая роль у каротиноидов, связанных с ним? Что такое система для преобразования света в химическую энергию?»

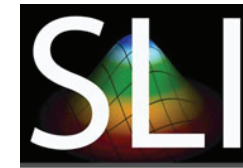
Очень легко ответить на многие из этих фундаментальных биологических вопросов; просто смотрите на вещи! Вы увидите порядок оснований в цепи; Вы увидите структуру микросом. К сожалению, существующий микроскоп просто видит в слишком грубом для этого масштабе. Сделайте микроскоп в сто раз более мощный, и многие проблемы биологии станут гораздо проще...»

*Там внизу много места.
Ричард Фейнман (1959)*

Мы считаем, что только прямое секвенирование нуклеиновых кислот и других биологических полимеров на уровне индивидуальных молекул в их нативном состоянии (т.е. прямо из клеток, без копирования) сможет обеспечить наиболее полную информацию о этих молекулах.



NANO VISION



St. Laurent Institute

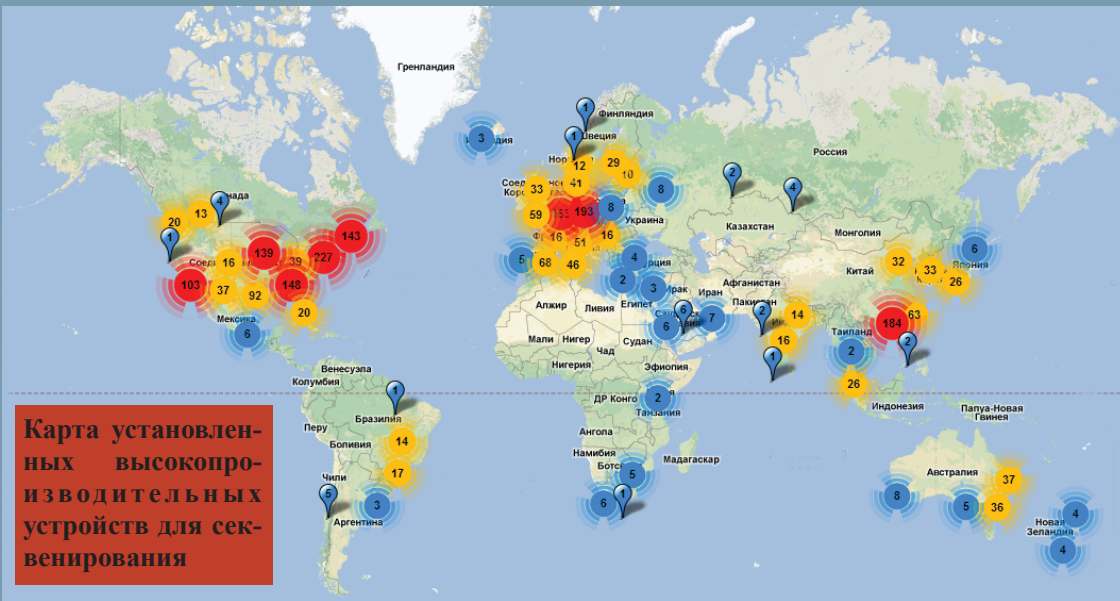


МИЭТ



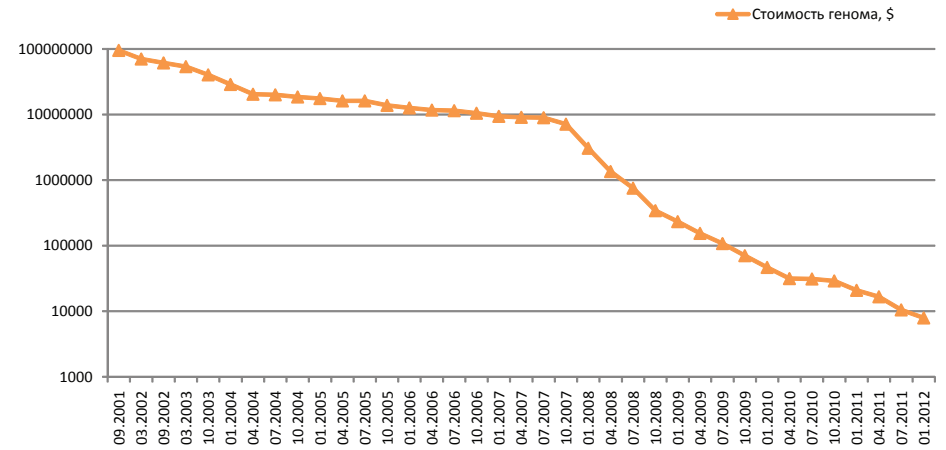
Компания Nano Vision предлагает проект по созданию отечественного секвенатора на основе технологий принципиально отличающихся от используемых в настоящее время.

Это технология секвенирования нативной конфигурации ДНК/РНК без добавления дополнительных нуклеотидов, меток, амплификации, или другого любого метода, который вводит количественные ошибки или артефакты.



В настоящее время происходит настоящий бум в биотехнологии. Подобно бурному развитию компьютерных технологий в конце XX и начале XXI веков в биотехнологическом секторе возникает большое число компаний, возникают новые направления, крупные традиционные биотехнологические компании вкладывают средства в новые исследования и разработки.

Стоимость секвенирования генома, \$



Стоимость секвенирования падает быстрее, чем предсказывает «закон Мура», благодаря чему получить информацию о генетических предрасположенностях к болезням могут уже многие люди, прошли клинические испытания первые препараты для генетической терапии и многие другие достижения уже входят в нашу жизнь.



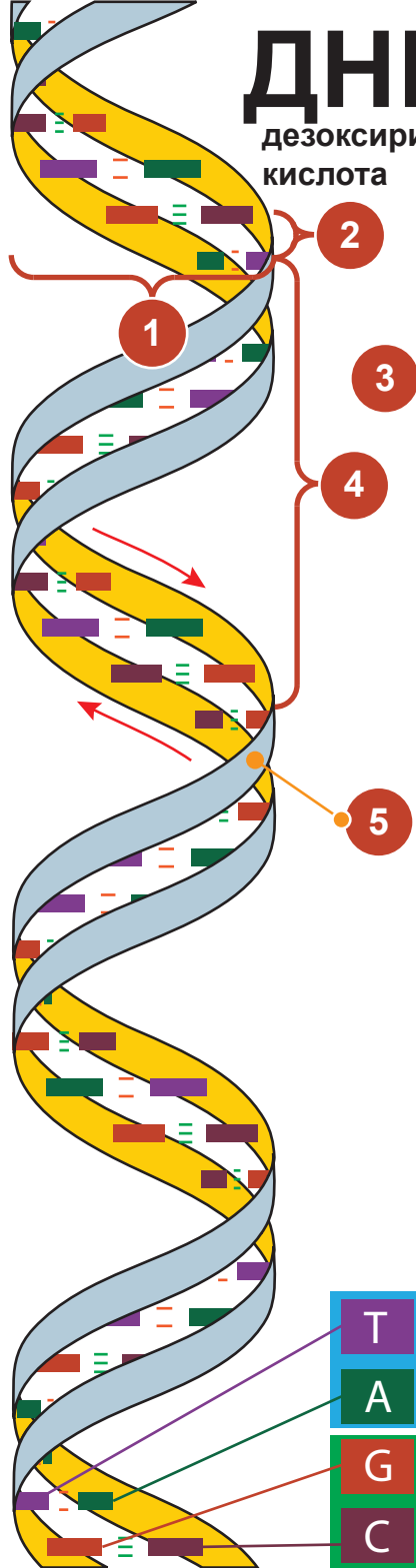
Завершение проекта «Геном человека» в 2003 году, появление секвенаторов следующего поколения (NGS – Next-Generation Sequencing) в 2005, завершение проекта ENCODE (определение функций «мусорного» ДНК) в 2012 и многие другие завершённые и текущие проекты открыли новый этап в биотехнологии.

Уже произведено и установлено множество высокопроизводительных секвенаторов. Проведено секвенирование геномов большого числа людей, животных, растений, бактерий и вирусов. При этом технология находится с самом начале своего развития. Многие проблемы ещё не решены.

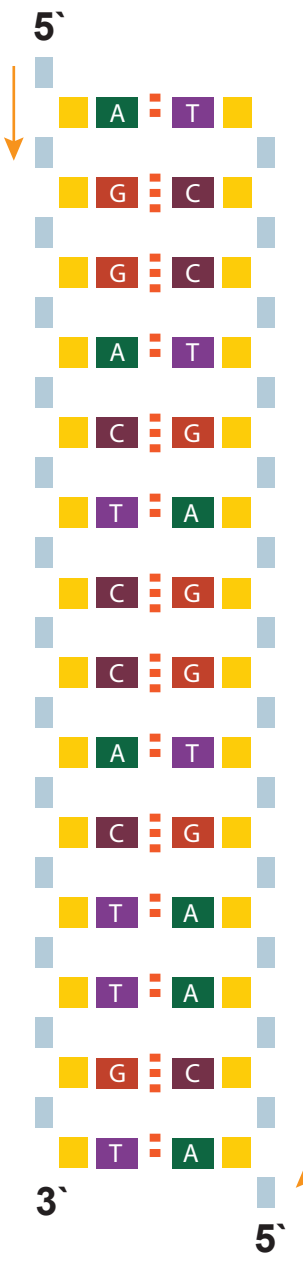
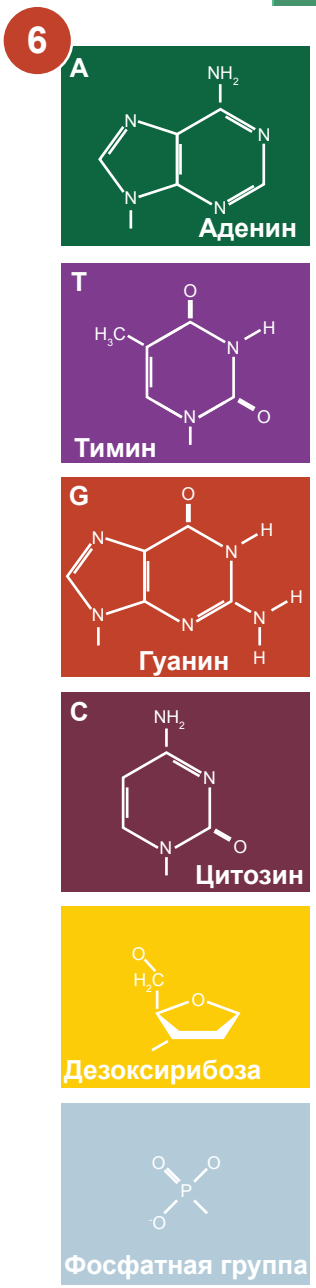
Так что это за технология?

ДНК

дезоксирибонуклеиновая кислота



Нуклеотидная последовательность ДНК, составляющая генетический код, несет в себе информацию о наследственных признаках всех живых организмов. Т.е. информацию о функционировании и внешнем виде человека, животных, растений, бактерий, грибов, вирусов и других организмов.

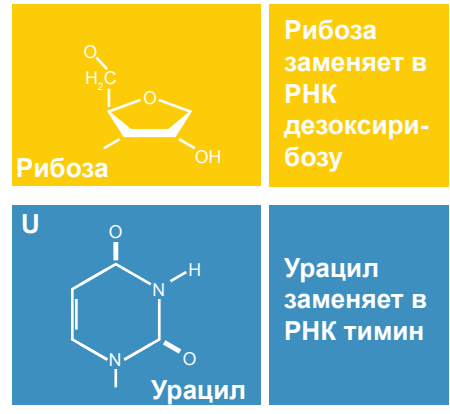


1. Диаметр ДНК - 1.98 нм.
2. Шаг между отдельными основаниями - 0.34 нм.
3. 10 оснований на один виток.
4. Шаг двойной спирали - 3.4 нм.
5. «Скелет» ДНК и РНК составляет сахаро-фосфатный остов.
6. Азотистые основания (нуклеотиды). А, Т, G, С в ДНК и U в РНК.
7. Молекулы РНК значительно короче и в большинстве случаев одноцепочечные.

ДНК человека содержит последовательность из

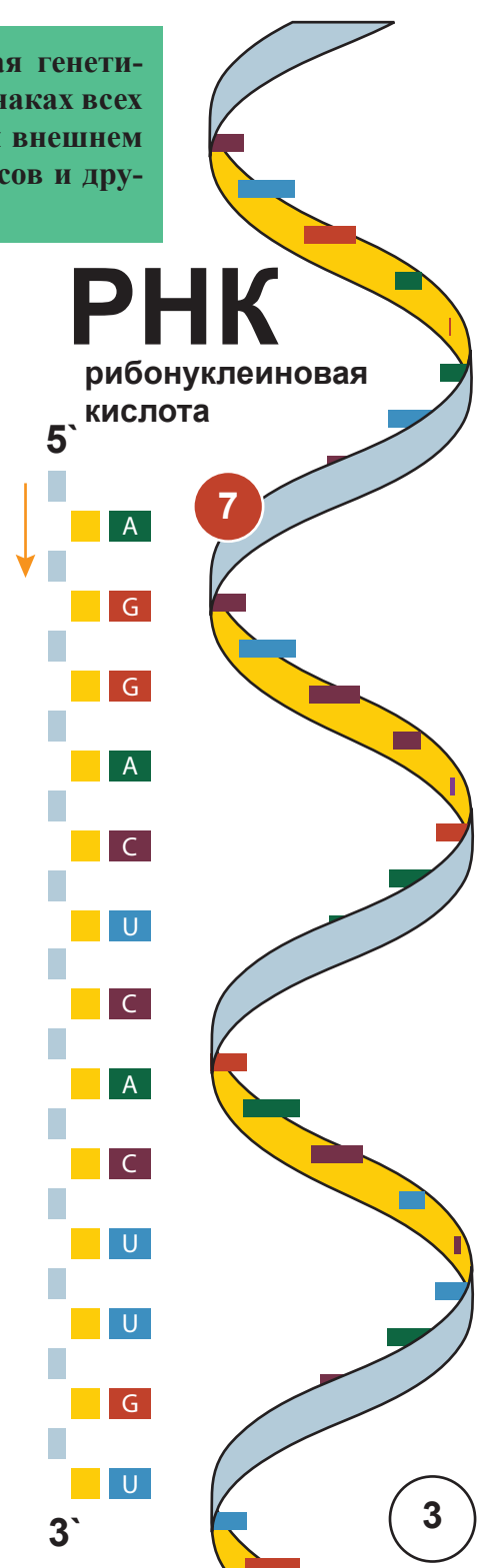
3 000 000 000

нуклеотидов.



РНК

рибонуклеиновая кислота



Секвенирование

Секвенирование ДНК и РНК — общее название методов и технологий для определения порядка нуклеотидов (аденин, цитозин, гуанин, тимин, урацил) в молекуле ДНК или РНК. В результате процесса секвенирования получается линейное символическое описание, которое кратко поясняет атомную структуру молекулы ДНК или РНК.

Нуклеотидная последовательность кодирует аминокислотную последовательность белков. Уникальные последовательности нуклеотидов образуют генетический код всех живых организмов.

Все современные технологии секвенирования (оптические и полупроводниковые) позволяют считывать только последовательность основных 4 нуклеотидов (А, Т/У, G, С в ДНК и РНК). В действительности, в ДНК и РНК присутствуют более 200 различных модификаций (например, метил-С) этих нуклеотидов, каждая со своей биологической функцией.

Все современные технологии позволяют получить только усредненную информацию со множества копий ДНК из множества клеток, тогда как генетические механизмы даже двух соседних клеток могут различаться (например, различие нервной клетки и клетки стенки сосуда, или даже двух соседних нервных клеток).

Поэтому нам нужны технологии которые могут дать точную информации о полном химической последовательности каждой индивидуальной молекулы ДНК или РНК и ее количестве в индивидуальной клетке.

Спектральное секвенирование ДНК и РНК

Часто для определения химического состава веществ используют эффект комбинационного рассеяния. По спектру комбинационного рассеяния можно расшифровать химическую структуру ДНК и РНК. В общем виде спектр ДНК или РНК состоит из спектров составляющих эти молекулы частей.

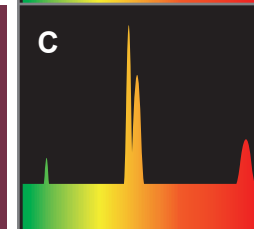
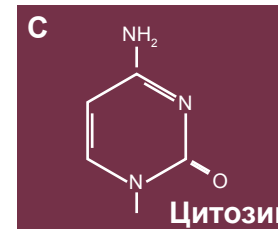
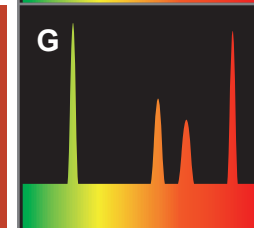
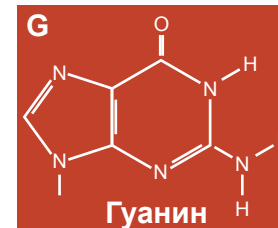
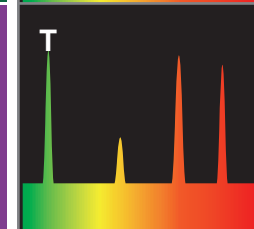
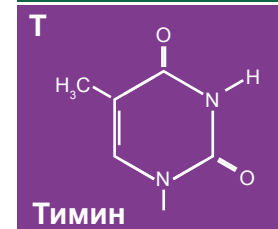
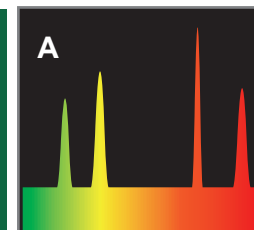
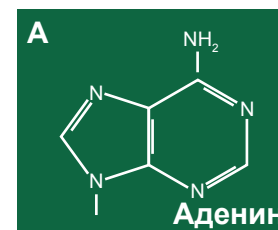
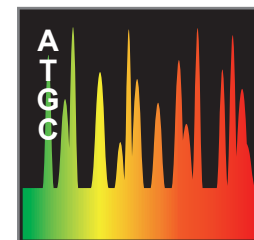
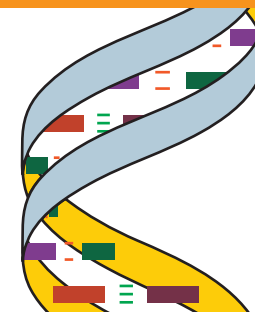
Для расшифровки последовательности азотистых оснований в нуклеиновой кислоте необходимо знать какому основанию соответствует тот или иной пик в общем спектре.

В зависимости от числа различных оснований в участке ДНК с которого получают спектр различным будет и общий спектр с молекулы.

Используя различные методы и подходы можно увеличить разрешение методики до нескольких нуклеотидов.

Эта технология не требует использования дополнительных нуклеотидов, меток, амплификации, или любого другого метода, который вводит количественные ошибки или артефакты.

Чувствительность метода теоретически позволяет проводить секвенирование одиночных молекул и определять модификации нуклеотидов.



Медицина и медицинская генетика



Более 200 модификаций оснований

Знание генетической последовательности, реализации генетической информации необходимо для определения причин, нахождения способов лечения и профилактики многих заболеваний. Последние исследования в области переноса информации от ДНК через РНК в белки, регуляция этих процессов, исследование роли «мусорной» ДНК показывает, что процесс наследования и функционирования живых организмов гораздо более сложный чем представлялось ранее и это требует развития методов исследования и диагностики путем секвенирования отдельных единиц (ДНК, различных видов РНК) этого механизма.

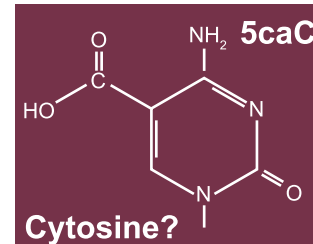
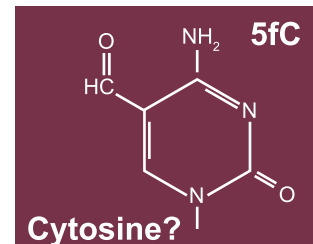
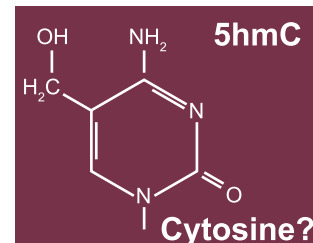
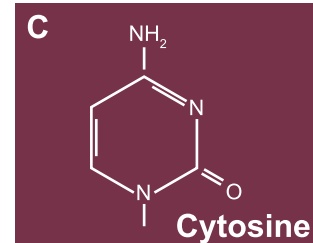
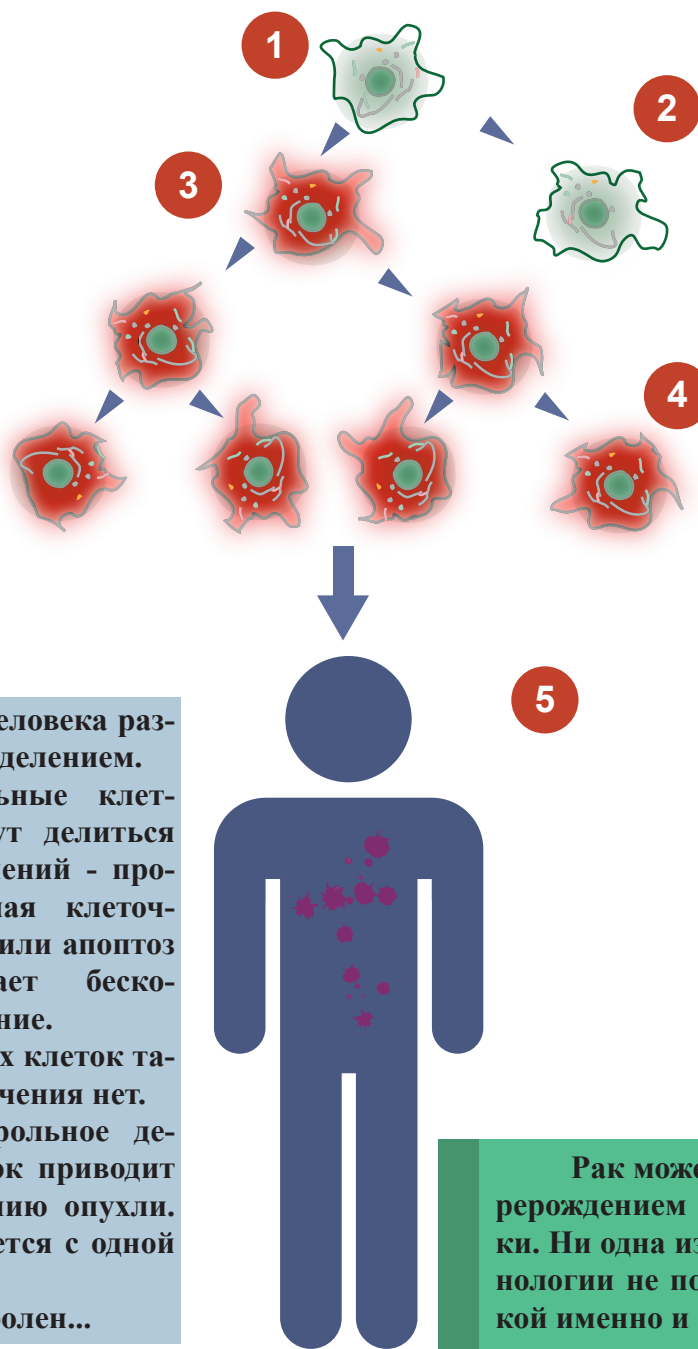
Отдельное и быстро развивающееся направление современной медицинской генетики – эпигенетика. Многие заболевания вызваны не только ошибками в генетическом коде, но и его «интерпретацией» в организме человека, в отдельных клетках.

Сюда относятся: наследственные генетические заболевания, предрасположенность к раку, диабету, болезни Паркинсона, восприимчивость к бактериальным и вирусным инфекциям, предрасположенность к наркомании и другим зависимостям.

Определение генетической последовательности возбудителей заболеваний человека позволяет разрабатывать более эффективные лекарственные препараты.

Создание искусственных организмов или модельных культур клеток, бактерий и вирусов позволит ускорить поиск (скрининг) новых лекарств, изучать взаимодействия препаратов, модельных человеческих клеток и возбудителей заболеваний в лабораторной среде.

1. Клетки человека размножаются делением.
2. Нормальные клетки не могут делиться без ограничений - программируемая клеточная смерть или апоптоз останавливает бесконечное деление.
3. У раковых клеток такого ограничения нет.
4. Бесконтрольное деление клеток приводит к образованию опухоли. Все начинается с одной клетки.
5. Человек болен...



Рак может быть вызван перерождением всего одной клетки. Ни одна из современных технологий не позволят понять какой именно и почему...

Персональная медицина



Современная медицина основана в основном на статистических данных. Назначение лечения, ход протекания болезни определяются сравнением состояния больных с ранее известными данными. Но часто требуется совершенно иной подход в каждом конкретном случае. Наличие в распоряжении врачей доказательного метода для назначения индивидуального лечения позволит излечить многих людей.

Отдельное направление персональной медицины – лечение на основе генетической информации (может дать вероятность возникновения того или иного заболевания в будущем) и лечение на основе данных об экспрессии генов (процесс от считывания информации до получения продуктов в клетке на основе этой информации) в настоящий момент.

Получение информации о генетической последовательности людей позволяет создавать такие конечные продукты, как рекомендации по образу жизни, осуществлять подбор лекарственных препаратов и их дозировки, создание индивидуальных химических, биохимических или генетических препаратов (например, генетическая терапия), индивидуальное лечение онкологических заболеваний и других заболеваний, создание как индивидуальных, так и массовых вакцин и сывороток от вирусных и бактериальных инфекций.

Многие заболевания вызваны не только ошибками в генетическом коде, но и интерпретацией этого кода при работе его в клетках организма. Сюда можно отнести метилирование ДНК, расположение ДНК в хромосомах и другое. Часто эпигенетические изменения носят строго индивидуальный характер и полноценной статистики и инструментов для диагностики эпигенетических заболеваний на данный момент не существует.

Биотехнология



Получение информации о генетической последовательности живых организмов уже в настоящее время используется в сельском хозяйстве и биотехнологии, генетической инженерии.

Это создание новых сортов продовольственных и технических культур с новыми характеристиками, развитие отрасли биотоплива (например, создание культур с более высоким содержанием сахара для получения биотоплива), переработки отходов (отходы органического происхождения, ликвидация последствий разливов нефти, борьба с заболеваниями животных и растений, создание новых культур дрожжей и бактерий для различных биотехнологических процессов (например, получение кормовых белков, увеличение выхода биотоплива, более эффективная переработка отходов, синтез органических материалов и т.д.), поиск новых генов с не описанными ранее свойствами для применения в биотехнологии, создание культур клеток и бактерий синтезирующих те или иные лекарственные препараты.

Научные исследования



Создание подробной базы по генетике онкологических заболеваний. Классификация всех видов рака по генетическим признакам.

Многие биоценозы представлены огромным количеством бактерий, взаимодействующих друг с другом (например, горизонтальный перенос генов), то их трудно рассматривать как отдельные организмы и требуется комплексный подход для анализа подобных систем. Например, метагеном бактерий кишечника человека, почв и т.д.

Потенциальные открытия новых модификаций нуклеотидов.

Где делать?

Создание высокопроизводительного устройства



Для осуществления секвенирования больших геномов (например, человека) на основе описанных принципов необходимо создание секвенатора с высокой производительностью.

Такой секвенатор должен секвенировать большое число молекул параллельно, обеспечивать перемещение молекул. Для этого необходимо оперировать отдельными молекулами и массивами молекул ДНК и РНК с нужной воспроизводимостью и точностью. Т.е. нужно создавать необходимые конструкции и структуры с размерами близкими к размерам молекул ДНК и РНК.

Это микроканалы, «островки» металла для усиления комбинационного рассеяния за счет поверхностного плазмонного резонанса и т.д.

Для выполнения такой задачи необходимо использование технологий современной микроэлектроники и интеграция их с технологиями молекулярной биологии.

Т.е. в рамках этого проекта планируется создание специализированных чипов для секвенирования ДНК и РНК методами спектроскопии комбинационного рассеяния света.

Зеленоградский нанотехнологический центр в силу своей специализации обладает необходимым опытом, конструкторскими и производственными мощностями для создания такого чипа и секвенатора ДНК и РНК на его основе.

