



СИСТЕМА ЦИФРОВОЇ  
КРАПЕЛЬНОЇ ПЛР

QX200™

## Система цифрової крапельної ПЛР QX200™

Система QX200 droplet digital PCR (ddPCR™) – це унікальна технологія проведення цифрової ПЛР від компанії Bio-Rad. Завдяки неперевершеній точності система ddPCR забезпечує проведення абсолютної кількісної оцінки молекул ДНК або РНК-мішені без використання калібрувальних кривих. ddPCR поповнює нестачу масштабованих практичних технологій проведення цифрової ПЛР. Нова система ddPCR QX200 відкриває двері в світ нових досліджень.



Метод ПЛР стає «цифровим» при розподілі зразка по «коміркам» і використанні відповідного статистичного інструментарію для проведення аналізу ПЦР-продуктів, розподілених за цими «комірками». Система QX200 використовує новітні мікрофлюїдні технології для створення дуже великої кількості комірок-крапель, створюючи в кожному зразку по 20 000 дуже схожих за розміром крапель нано-літрового об'єму.

Для досягнення ще більшої чутливості, можливе комбінування декількох лунок для тестування одного зразка, що дозволяє створювати до мільйона крапель. Таке масштабне дослідження генерує велику кількість даних, які після аналізу дозволяють проводити кількісні вимірювання на принципово іншому рівні.

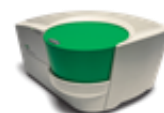
Система дає можливість працювати з 8 зразками одночасно. Процес легко масштабується до експерименту на 96 лунок протягом 5-ти годин з мінімальним часом ручної роботи. Для отримання більшої продуктивності можливе проведення декількох експериментів на 96 лунок протягом дня.

### СИСТЕМА СКЛАДАЄТЬСЯ З:



#### **QX200 Droplet Generator**

генератор нанолітрових крапель з кДНК або РНК-вмісних зразків



#### **QX200 Droplet Reader**

дозволяє здійснювати надчутливий і точний автоматичний аналіз продуктів ампліфікації

## **QX200 дозволяє вирішити наступні задачі:**

- Кількісна оцінка біомаркерів раку. Мутації, асоційовані з онкологією, часто не вдається детектувати через їх низької концентрації в порівнянні з фоновим ДНК дикого типу в тому ж зразку. Висока чутливість системи QX200 дозволяє детектувати і кількісно оцінювати мутації в концентраціях одна копія на мільйон;
- Виявлення та оцінка збудників захворювань. Точна кількісна оцінка вірусного навантаження вкрай важлива для визначення стану захворювання, розробки, затвердження і оцінки ефективності терапії. QX200 має чутливість, достатню для виявлення надмалих кількостей вірусного генетичного матеріалу, в тому числі і в складних сумішах;
- Визначення кількості копій гена (CNV). Варіація числа копій гена – один з основних типів поліморфізмів в геномі людини. CNV асоціюється з раком, неврологічними і аутоімунними захворюваннями, а також з побічними ефектами при застосуванні лікарських засобів. QX200 дозволяє визначити CNV з точністю співвідношення 1.2X, наприклад, п'ять проти шести;
- Валідація та кількісна оцінка бібліотек NGS. Використовуючи технології цифрової ПЛР, можна якісно і кількісно оцінити створену бібліотеку для найбільш ефективного використання секвенаторів;
- Аналіз експресії генів. Крапельна цифрова ПЛР дозволяє кількісно визначити рівень експресії гена: можлива оцінка мінімально 10% зміни експресії, в тому числі і при низьких концентраціях;
- Тестування продуктів на наявність ГМО. З точністю до тисячних часток відсотка система QX200 дозволяє оцінити кількість генетично модифікованих інгредієнтів у продуктах харчування і кормах.

## **Етапи постановки експерименту при використанні методу цифрового ПЛР:**

### **1. Підготовка реакційної суміші та генерація крапель.**

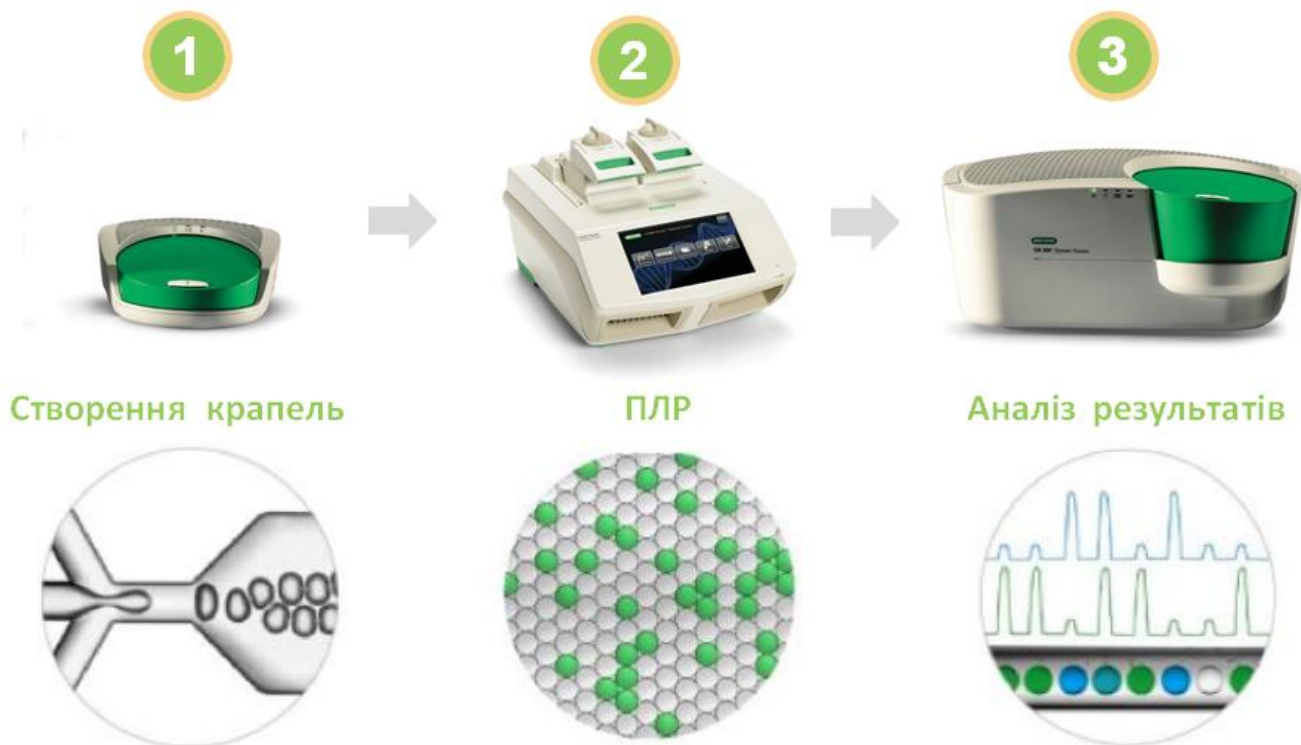
Готують 20 мкл реакційної ПЛР суміші для кожного зразка, потім суміш поміщають в спеціальний пластиковий картридж. У відповідні канали картриджа заливається мінеральне масло, і наповнений картридж встановлюють у QX200 droplet генератор, де зразки і масло з'єднуються між собою по мікро каналах всередині картриджа для отримання емульсії – близько 20 000 монодисперсних крапель для кожного з 8 підготовлених зразків. Об'єм кожної краплі 1 нл.

### **2. Полімеразна ланцюгова реакція.**

Емульсійні зразки переносяться на стандартну 96-ямокву плашку для ПЛР і ампліфікують за допомогою стандартного термоциклера, наприклад, T100.

### 3. Зчитування і аналіз результатів.

Після завершення ПЛР плашка завантажується в QX200 droplet рідер, який забезпечує аналіз флуоресцентного сигналу крапель, детектуючи кожен краплю по черзі і визначаючи, які краплі містять мішень, а які ні. Аналіз результатів здійснюється за допомогою програмного забезпечення ddPCR.



#### Переваги цифрового крапельного ПЛР в порівнянні з ПЛР-РЧ:

- гнучкість системи і оптимізація її для EvaGreen і TaqMan зондів будь-яких виробників;
- надзвичайні чутливість і точність кількісного аналізу продуктів ампліфікації гена-мішені в кожній краплі зразка;
- фракціонування зразків на нанокapлі зводить до мінімуму вплив на результат досліджень таких параметрів як наявність інгібіторів ПЛР та ефективності реакції;
- протікання ампліфікації з абсолютним підрахунком гена-мішені в кожній краплі;
- відсутність необхідності використання калібрувальних кривих;
- пряме виявлення рідкісного варіанту гена-мішені в складному оточенні.