

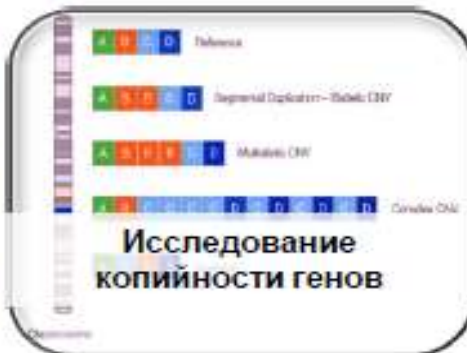
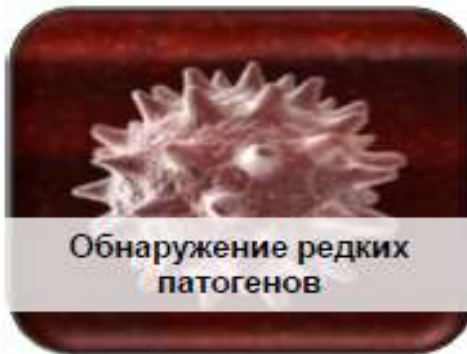
ЦИФРОВАЯ ПЦР КАК СОВРЕМЕННОЕ РЕШЕНИЕ В ДИАГНОСТИКЕ ЗООНОЗОВ

Ирхин Сергей
старший специалист
ООО “Диаэм”

Применение ПЦР сегодня

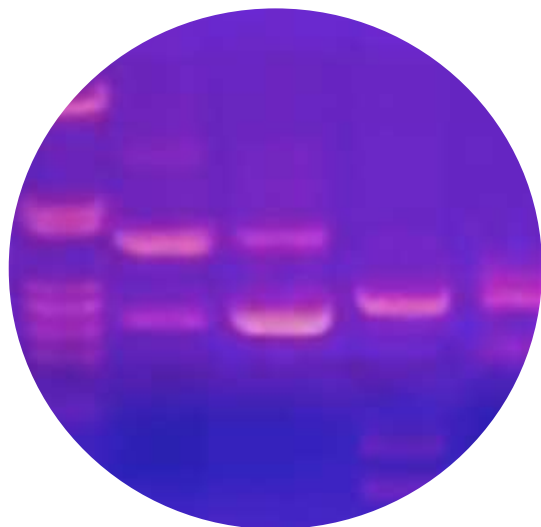
Преимущества метода:

- Высокая чувствительность
- Минимальный объем образца
- Высокая скорость анализа
- Широкий выбор мишеней



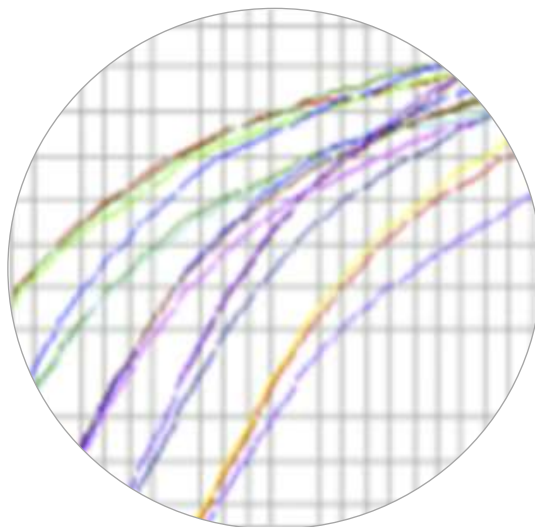
Поколения ПЦР-анализа

1-е



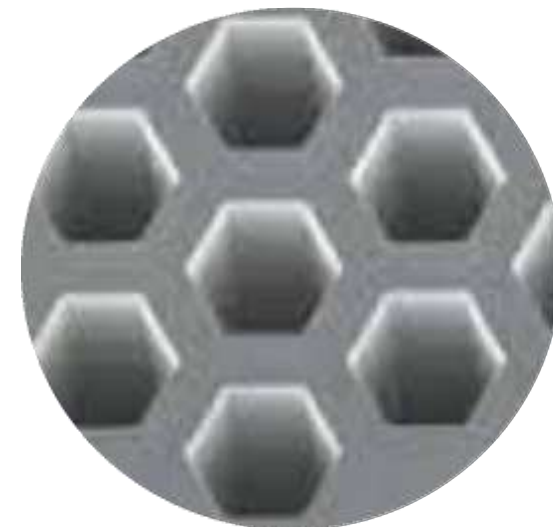
классический
ПЦР - анализ
качественный

2-е



ПЦР-анализ в режиме
реального времени
количественный

3-е



Цифровой ПЦР –
анализ
высокоточный
количественный

ПЦР 1-го поколения

- Амплификация ДНК- мишени с анализом продукта в конце реакции
- Отсутствие четкой зависимости между количеством конечного продукта и количеством копий ДНК-мишени

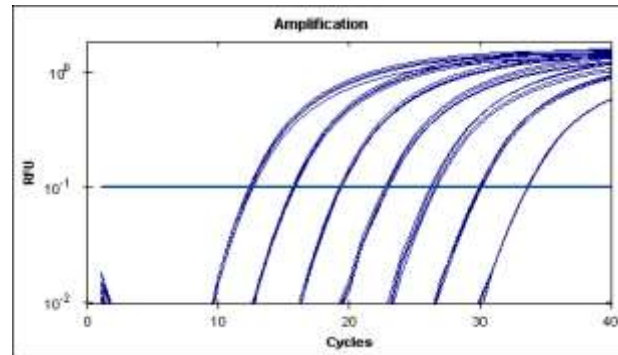
Анализ осуществляется в конце реакции!



ПЦР в режиме реального времени - ПЦР 2-го поколения

- Детекция флуоресцентного сигнала репортной метки
- Дает относительную количественную оценку ДНК-мишени.

Детекция флуоресценции.



ПЦР 3-го поколения цифровая

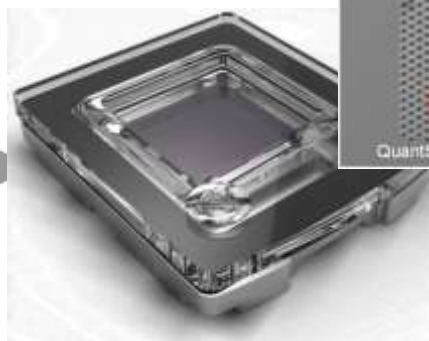
Цифровая ПЦР – это аналитическая техника определения концентрации нуклеиновых кислот, основанная на ПЦР-амплификации единичных молекул образца, без использования стандартов.

1 образец = 20 000 лунок

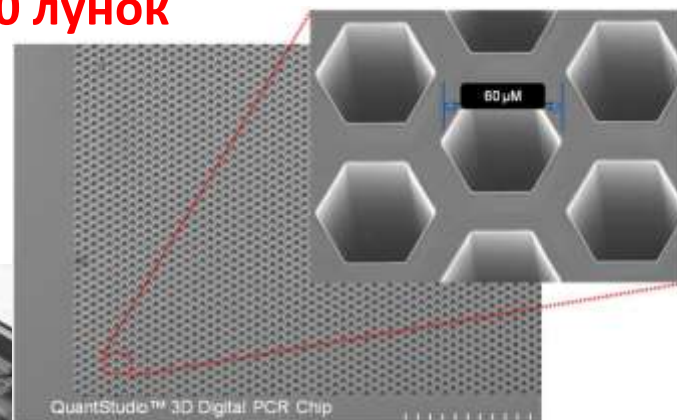
1 образец = 1 лунка



1 измерение
 общего сигнала
 одного образца



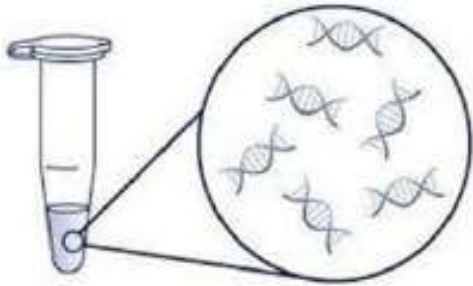
20 000 измерений
 одного образца



Технология цифровой ПЦР

1. ДНК-мишени, фоновая ДНК реагенты для ПЦР распределены по 20 000 индивидуальных реакторах
2. После ПЦР каждая микролунка тестируется на наличие или отсутствие в ней флуоресцентного сигнала
3. Сигнал в каждой лунке определяется независимо от других
4. Система подсчитывает концентрацию ДНК-мишени в каждой лунке

1. Выделение ДНК

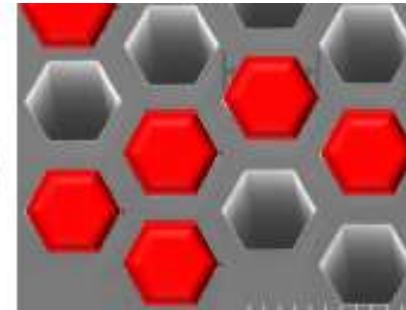


Геномная ДНК или
кДНК или cDNA

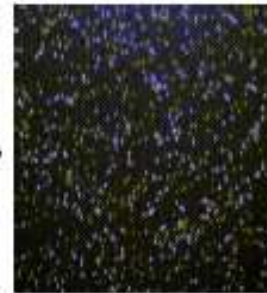
2. Распределение в микролунках



3. ПЦР



4. Детекция сигнала



● Положительные реакторы
● Негативные реакторы

Основные преимущества цифровой ПЦР

- Исключительная чувствительность (до одной копии) количественного определения копий ДНК-мишени.
- Исключительно высокая точность метода.
- Прямое определение концентрации мишени.
- Не требует калибровочных кривых.
- Прямое обнаружение редкого варианта мишени в сложном окружении.

Сравнение кПЦР и цПЦР

qPCR

- Высокая чувствительность к ингибиторам
- Точность анализа зависит от кривых плавления
- Расчётное определение концентрации
- Для количественного определения, нужен стандарт

Digital PCR

- Высокая толерантность к ингибиторам
- Цифровая ПЦР не нуждается в кривых плавления
- Подсчёт абсолютного числа молекул
- Абсолютное количественное определение без стандартов

Система QuantStudio 3D Thermo

- Простой протокол
- Стандартная пробоподготовка
- Стандартная реагентика
- Высокая чувствительность метода



QuantStudio 3D для цифровой ПЦР

- Скорость сканирования 1 чипа - 45 сек.
- Каналы детекции FAM и VIC
- Сенсорный экран с интуитивным ПО
- Хранение до 100 сканов во внутренней памяти
- Возможность удалённого анализа данных



Изучение патогенов

- Абсолютный подсчёт мишеней ДНК/кДНК без построения кривых.
 - анализ вирусной нагрузки на организм;
 - определение кол-ва копий в образце.
- Высокая чувствительность метода:
 - обнаружение единичных ДНК\РНК возбудителя;
 - Низкий уровень «шума»;
 - анализ полиморфизмов и генетических изменений обуславливающих патогенность.
- Низкая чувствительность к ингибиторам
 - выделение НК из «сложных» образцов (кровь, фекалии, почва);
 - возможность постановки «прямого» протокола ПЦР

Другие возможности применения QuantStudio 3D

Обнаружение редких последовательностей ДНК:

- позволяет определить редкие мутации или выявить наличие атипичных клеток в очень небольшом титре.

Анализ единичных клеток:

- позволяет оценить степень вариабельности отдельной клетки в культуре;
- позволяет провести анализ вырезанных участков с гистологического препарата.

Анализ экспрессии генов и анализ микро-РНК:

- позволяет количественно определить уровень экспрессии гена, особенно при низких концентрациях микро-РНК с более высокой чувствительностью и точностью.

Секвенирование следующего поколения (NGS):

- возможность точной оценки качества приготовления образцов для NGS, что улучшает качество результатов секвенса и уменьшает стоимость приготовления образцов.

Семинар "Возможности и приложения количественной и цифровой ПЦР"

- **Время проведения:** 7 апреля 2017 года. Начало в 12:00.
- **Место проведения:** г. Ставрополь, ул. Мира, 310, Ставропольский государственный медицинский университет, Основной корпус, Библиотека, конференц-зал (4 этаж).



Оборудование и реагенты:

- **28 –летний опыт работы!**
- **Комплексное оснащение генетических и ПЦР-лабораторий**
- **Поставка уникального экспериментального оборудования**

- Амплификаторы
- Секвенаторы
- Станции выделения ДНК и РНК
- Наборы для выделения ДНК
- Ферменты и смеси для ПЦР
- Бесплатные вебинары
- Практические семинары
- Техническая и консультационная поддержка

Спасибо за внимание!

Вопросы?

Нужна помощь?

Присылайте вопросы:

sir@dia-m.ru

+7(985) 929-67-28

