

Agencourt SPRI technologie **Solid Phase Reverse Immobilisation**

Purifikace nukleových kyselin

+

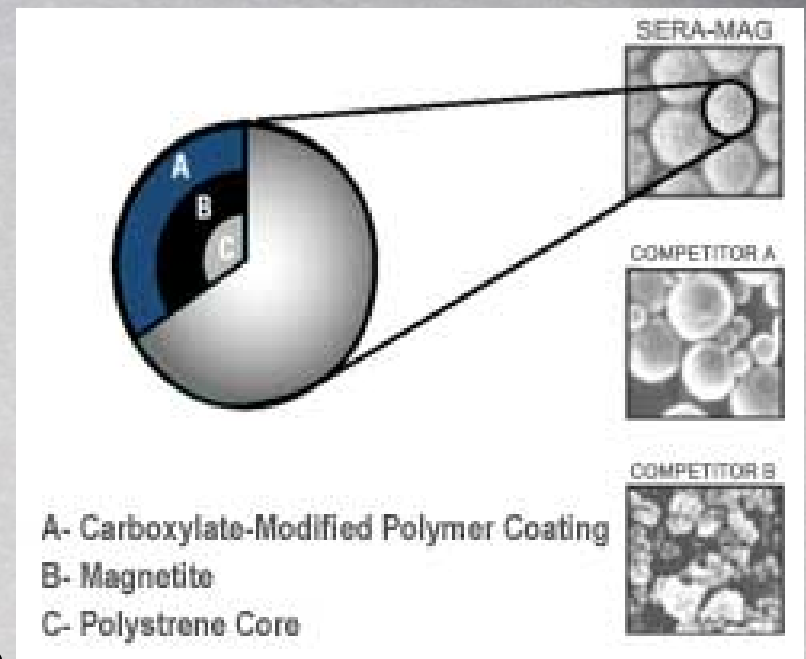
Automatizace

Jiří Moos, Roman Vlček



Solid Phase Reversible Immobilisation

- SPRI = Hawkins, et. al.,
Nucleic Acids Res. 1995 (23):
4742-4743
- Reversibilní vazba nukleových
kyselin na speciálně
modifikovaný povrch
magnetických částic
- Uniformní částice
- Slabá, 100% reversibilní vazba



Princip Agencourt SPRI technologie

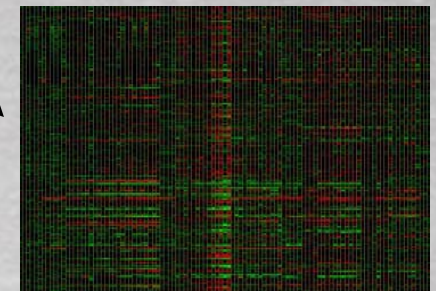


Agencourt - Automatizace - Aplikace



DNA sekvenování

SNP analýza

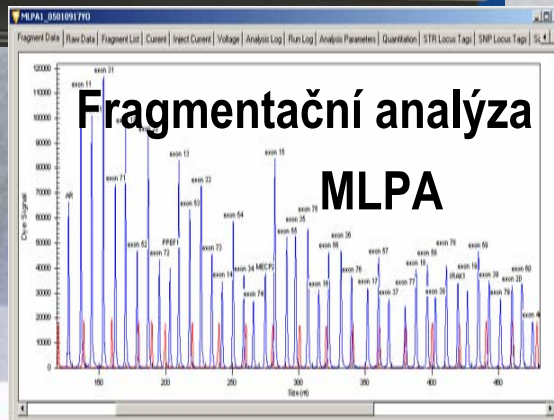
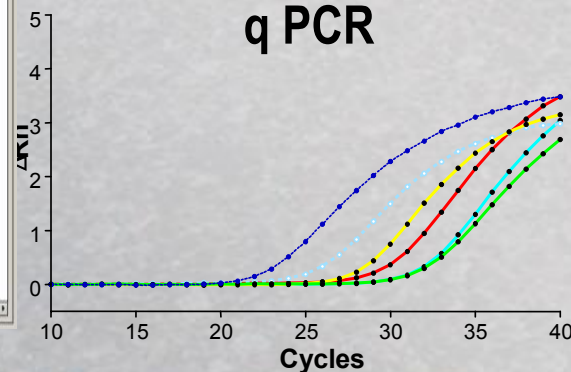


PCR

Microarray



q PCR



Fragmentační analýza

MLPA



Agencourt SPRI

- Nejsnazší automatizace
- Nevyžaduje vakuum
- Nevyžaduje centrifugaci
- Žádná speciální organická rozpouštědla



Laboratorní automatizace

Application		Kit	Biomek Automation				Plates per Hour	
			FX	NX	FX/NX Span 8	3000	96-well	384-well
DNA Sequencing	Single Step Plasmid Purification	Agencourt SprintPrep®	✓	✓				up to 8
		(with PlateStak ¹)	✓	✓				up to 8
	Low and High Copy Plasmid Purification	Agencourt CosMCPrep®	✓	✓			up to 18	
	Dye-Terminator Removal	Agencourt CleanSEQ®	✓	✓	✓	✓	12	12
		(with PlateStak)	✓	✓			12	12
	Buccal Cell gDNA Isolation	Agencourt Orapure™						
	gDNA from Whole Blood/Serum	Agencourt Genfind™	✓				0.5	
PCR Clean-up and Purification	Agencourt AMPure®	✓	✓	✓	✓	12	12	
	(with PlateStak)	✓	✓			12	12	
Gene Expression	Total RNA Isolation from Cells	Agencourt RNAPrep™	✓	✓	✓	✓	2.5	
	Post cDNA Purification and Post IVT RNA Purification	Agencourt RNAClean™	✓	✓	✓	✓	up to 4	
SNP Genotyping	Buccal Cell gDNA Isolation	Agencourt Orapure™						
	gDNA from Whole Blood/Serum	Agencourt Genfind™	✓				0.5	
	PCR Clean-up and Purification	Agencourt AMPure®	✓	✓	✓	✓	12	12
		(with PlateStak)	✓	✓			12	12

Laboratorní automatizace



Manuální i plně automatický systém používá stejné reagensie



Přehled produktů

"Moving Beyond Sequencing..." The Evolution of SPRI

Sekvenační aplikace

Agencourt CleanSEQ®
Agencourt AMPure®
Agencourt CosMCPrep®
Agencourt SprintPrep®

Genomické aplikace

Agencourt RNAClean®
Agencourt RNAdvance™ Cell
Agencourt RNAdvance™ Tissue
Agencourt RNAdvance™ Blood
Agencourt FormaPure™
Agencourt Orapure™
Agencourt Genfind™

Agencourt Genfind™

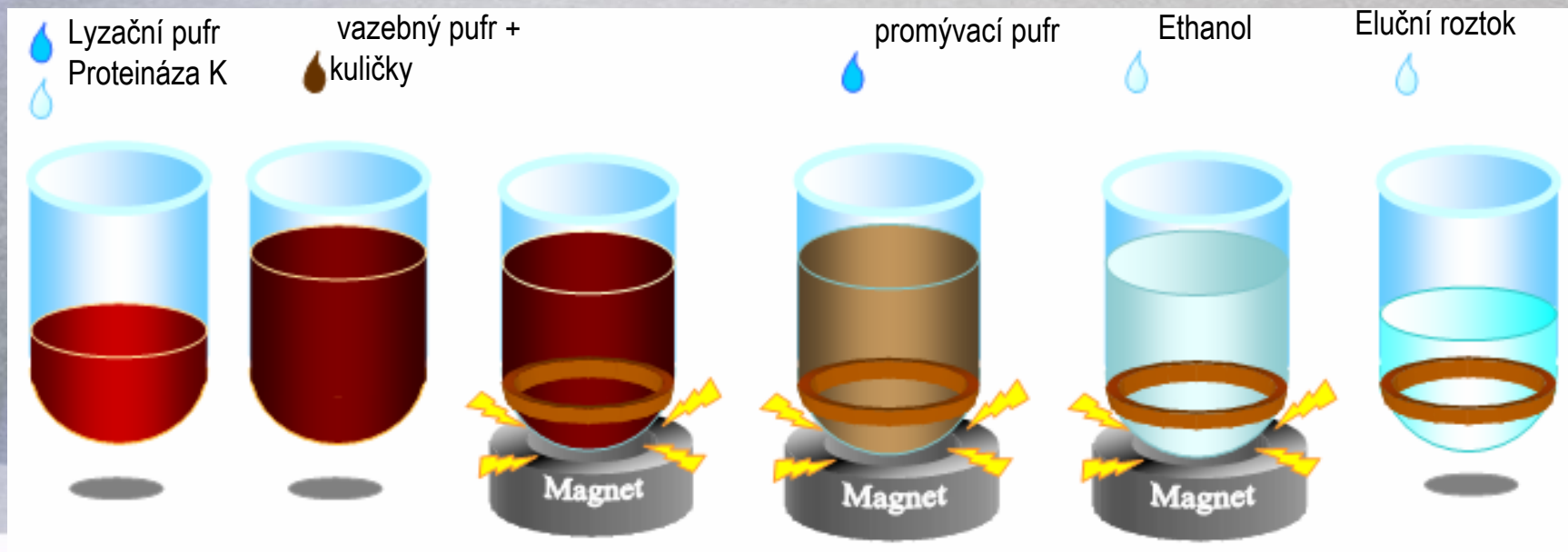
Extrakce gDNA z plné krve

Agencourt Genfind

- Metoda na izolace genomové DNA z krve nebo séra
- Aplikace: PCR, SNP, sekvenování, MLPA ...
- Až 200 μ l vzorku v 96-j. destičce nebo až 400 μ l vzorku ve zkumavce
- Vysoký výtěžek gDNA - 7-12 μ g z 200 μ l krve

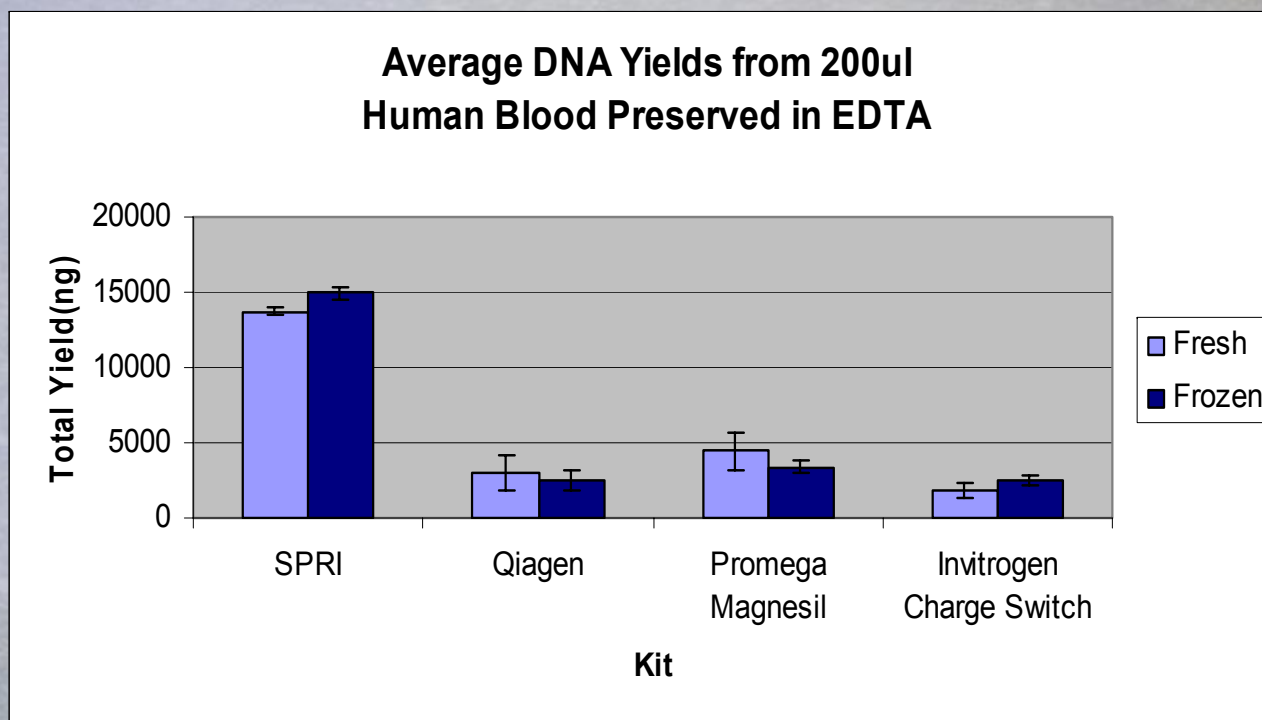
Genfind – schéma metody

- Přidejte lyzační pufr ke krvi nebo séru, zamíchejte, inkubujte
- Přidejte magnetické kuličky s vazebným pufr, inkubujte
- Oddělte na magnetu a odsajte supernatant
- Resuspendujte kuličky v promývacím pufru a promyjte v 70% etanolu
- Eluujte DNA do DiH₂O nebo do pufru s nízkou iontovou silou



Agencourt Genfind vs. konkurenční systémy

Konkurenční srovnání – plná krev



- 200 ul plné krve s EDTA.
- Eluováno v 200ul.
- Výtěžek měřen absorbancí



**BECKMAN
COULTER®**

Simplify • Automate • Innovate