



**LÉKAŘSKÁ FAKULTA MASARYKOVY UNIVERSITY**  
**Interní hematoonkologická klinika LF MU a FN Brno**  
**Centrum molekulární biologie a genové terapie**



# Moderní metody analýzy genomu

Další nové technologie

9.12. 2011

Boris Tichý



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována  
Evropským sociálním fondem  
a státním rozpočtem České republiky

# Kvantitativní (real-time) PCR

Standard: jednotlivé zkumavky, kapiláry nebo destičky (96,384,1536 jamek)

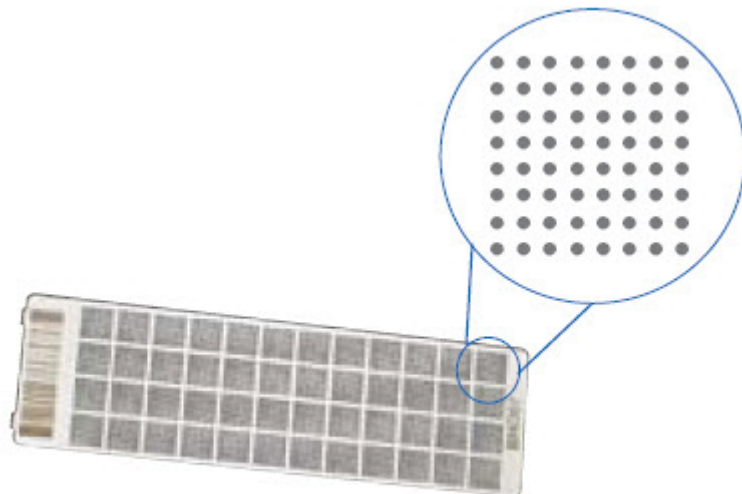
Nově:

Mikrofluidní technologie a qPCR “čipy”

Více vzorků/genů

Nižší spotřeba vzorků/chemikálií

Méně pracné



## TaqMan Array (Life Technologies)

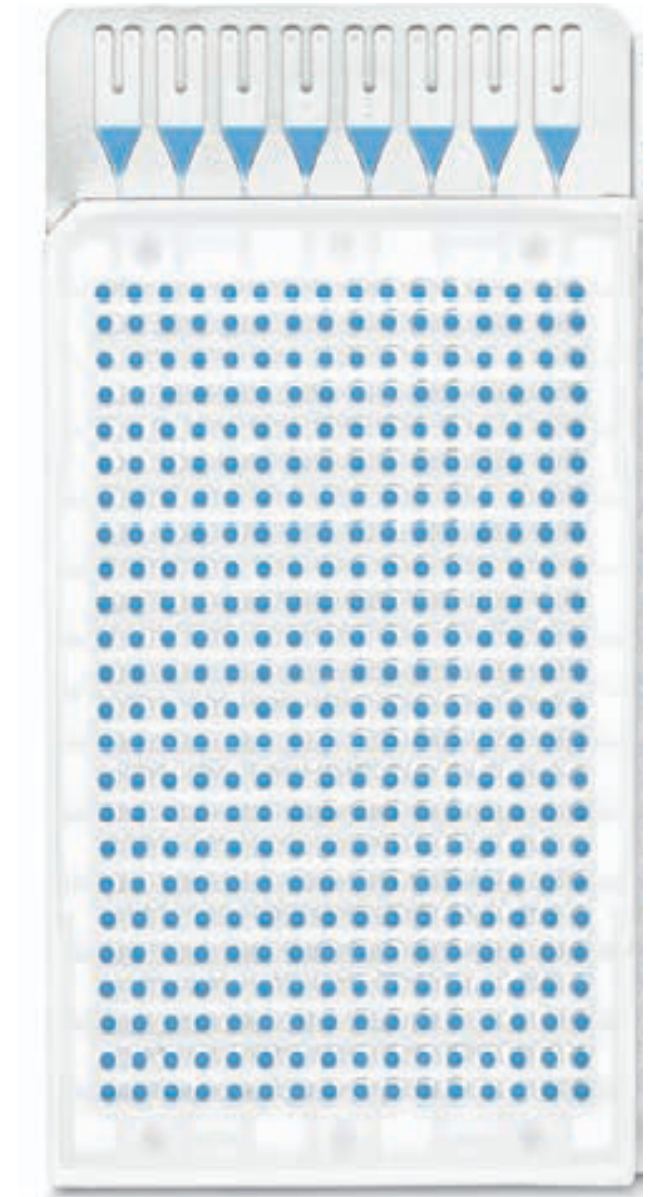
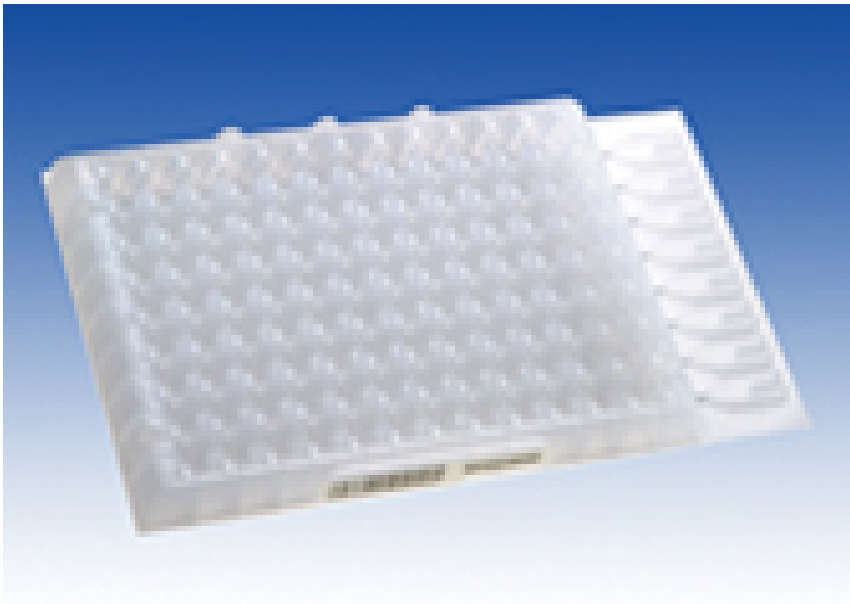
Mikrofluidní náhrada 384-jamkové destičky

Primery + sondy už od výroby

Malé reakční objemy (1 uL)

Minimum pipetování

Různé konfigurace – 1-8 vzorků, 11-380 genů



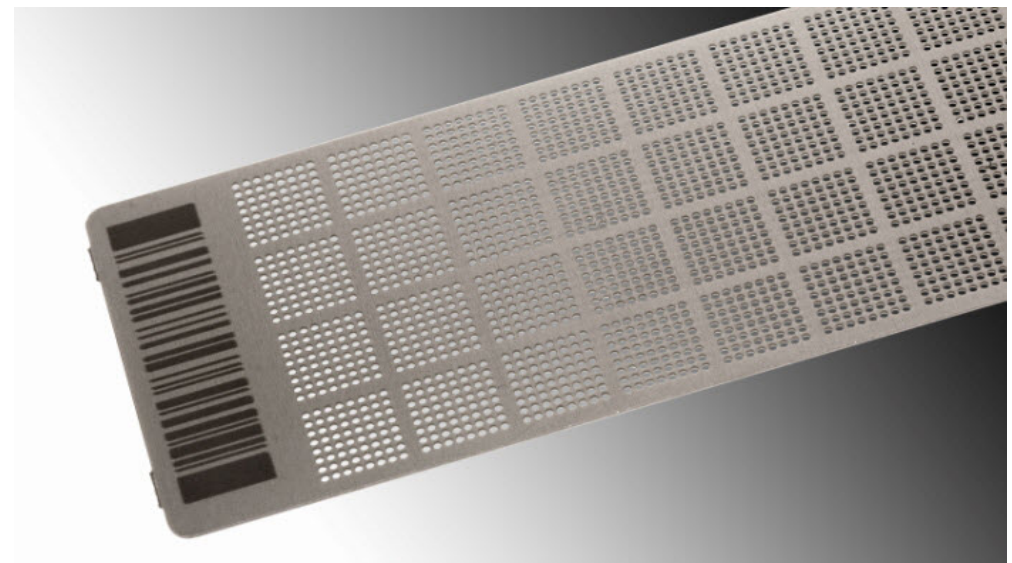
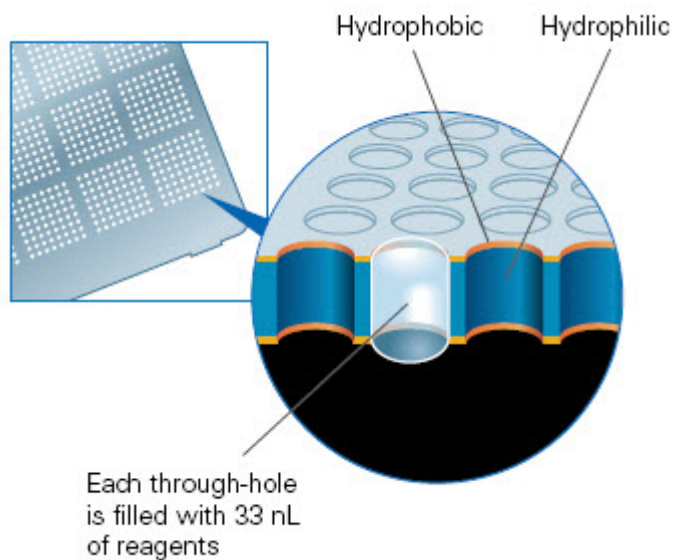
## OpenArray (Life Technologies)

Array reakčních mikroreakčních jamek (“holes”)

Primery (+ sondy) už od výroby

Velmi malé reakční objemy (33 nL)

3072 jamek – 12-144 vzorků, 18-224 genů



## BioMark (Fluidigm)

Mikrofluidní technologie – umožňuje rozvod primerů i vzorků

Různé konfigurace – 48-192 vzorků, 24-96 genů

Dynamic array

Běžná qPCR kvantifikace podle intenzity fluorescence

Genotyping, exprese

Digital array

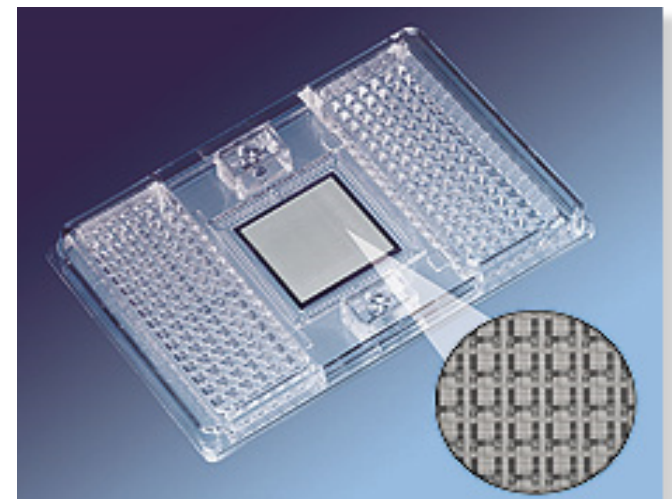
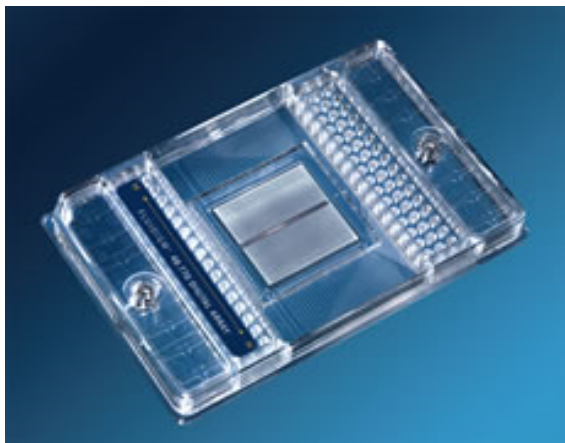
Naředění vzorku tak, aby v jamce bylo 0-1 kopií cíle

PCR – 770 reakcí pro každý gen a vzorek (48 vzorků)

Digitální PCR – počítání pozitivních a negativních jamek

Access array

Target amplification for Next-gen sequencing



## xMAP a xTAG (Luminex)

Fluorescenčně značené kuličky (microspheres) – až 500 “odstínů”

Různé navázané molekuly → různé typy analýz

Protilátky, antigeny, receptory → proteiny, hormony

Oligonukleotidy → exprese

Oligonukleotidy → xTAG (primer extension metoda) → genotyping

Detekce průtokovou cytometrií (nově i mikroskopie)

Běžně měřeny desítky kuliček/analyt/vzorek → robustní

Otevřená technologie – mnoho dodavatelů

Nejběžnější: Cytokiny, patogeny, genotyping, miRNA

<http://www.luminexcorp.com/TechnologiesScience/xMAPTechnology/index.htm>

## Veracode (Illumina)

Holograficky značené skleněné válečky (240 x 28 µM)

Různé navázané molekuly → různé typy analýz

Až 384 analytů

[http://www.illumina.com/media/flash\\_player.ilmn?](http://www.illumina.com/media/flash_player.ilmn?)

[dirname=systems&swfname=aboutVeraCode&width=650&height=410&iframe](http://www.illumina.com/media/flash_player.ilmn?dirname=systems&swfname=aboutVeraCode&width=650&height=410&iframe)

## nCounter (Nanostring)

Hybridizace se single-molecule detekcí

Molecular barcodes → fluorescenční značky

Digitální exprese → přímé počítání molekul

Až 800 genů současně

Genová exprese, miRNA , CNV analýza

<http://www.nanostring.com/products/subpage.asp?id=360>



# MassArray (Sequenom)

Hmotnostní spektrometrie (MALDI-TOF) DNA

Aplikace

Genotypizace (SNP)

Metylace

Genová exprese

Typizace mikroorganismů

Somatické mutace

Multiplexování (až 36 cílů/vzorek)

