

## Új Génanalitikai Laboratórium a személyre szabott orvoslás szolgálatában

Többszintű, nukleinsav analitikai vizsgálatokra alkalmas műszer-együttes beszerzésével új génanalitikai laboratórium került kialakításra a Természettudományi Kutatóközpontban. A legmodernebb PCR alapú módszerek (génexpresszió mérés, mutáció azonosítás és kópia-szám meghatározás) kiszolgálásához olyan műszerek állnak rendelkezésre, amelyek a target kutatásokhoz és a nagy-áteresztőképességű rutin vizsgálatokhoz egyaránt háttérrel szolgálnak, rugalmasan változtatható platformjukkal többféle, nukleinsav-alapú detektálási technológiát tesznek lehetővé.

A műszer-együttes legfontosabb elemei:

- mikrofluidikai 'chip'-ekkel működő, multiplex PCR rendszer (Biomark HD + Juno, Fluidigm), amely nagy-áteresztőképességű, transzkriptomikai mérésekre alkalmas;
- 'droplet' technológián alapuló digitális PCR rendszer (QX 200 AutoDG ddPCR, Bio-Rad), amely a DNS és RNS molekulák abszolút mennyiségi meghatározását teszi lehetővé;
- real-time PCR készülékek (CFX96 és CFX384, Bio-Rad; Applied Biosystems QuantStudio5, ThermoFisher Scientific), amelyek elengedhetetlenek a nagy-áteresztő képességű vizsgálati módszerek kidolgozásához, rögzített és folytonosan állítható hullámhosszon is alkalmazhatók, valamint 96 és 384 minta mérésére is alkalmasak,
- nukleinsav fragmens analízáló rendszer (TapeStation 4200, Agilent) egy kompakt, teljesen automatizált mikrokapilláris gélelektroforézis készülék, mely az előző pontokban említett készülékeket szolgálja ki.

A Génanalitikai Laboratóriumban megvalósuló kutatások súlyos, népegészségügyi jelentőségű kórképekhez (onkológiai és szülészeti kórképekhez, metabolikus és hematológiai betegségekhez) kapcsolható biomarkerek azonosítását célozzák, valamint a gyógyszer-metabolizáló képességhez igazított terápiás lehetőségeket tárják fel. Az egyik legfontosabb cél olyan új diagnosztikus metodikák kifejlesztése, amelyek alkalmasak lehetnek nagyszámú beteg szűrésére és differenciál-diagnózisára.

A modern laboratórium nemcsak a Természettudományi Kutatóközpont kutatócsoportjai számára elérhető, de a velük együttműködő felsőoktatási intézmények, kutatóintézetek és ipari partnerek számára is. A hazai téren egyedülálló és nemzetközileg is kiemelkedő laboratórium létrehozásának stratégiai célja a kiválósági csoportok pályázási erejének növelése, a diagnosztikai fejlesztő tevékenységben való részvétel, valamint a graduális és posztgraduális képzésében és ezáltal a kutatói utánpótlás kinevelésében való aktív szerepvállalás.

A Génanalitikai Laboratórium vezetője: Monostory Katalin

Részletes műszerismertetés

### **1. Biomark HD + Juno (Fluidigm)**

A **Biomark HD** mikrofluidikai 'chip'-ekkel működő valós-idejű és végpont PCR elemzésre alkalmas készülék, amely rendelkezik egy Peltier-elem alapú hő-átadó és -keringető rendszerrel, valamint fluoreszcens detektorral (FAM, VIC, ROX tartományokban). A műszer alkalmas valós idejű, végpont és valós idejű digitális PCR 'chip'-ek (Fluidigm IFC – integrated fluidic circuit) futtatására, segítségével több ezer PCR reakció futtatható le egyetlen 'chip'-en, nanoliter tartományú térfogatban (7-50 nl). A reakciókat szekvencia elő-dúsítás előzi meg. A rendszer képes akár 96 minta 96 célterületre történő vizsgálatára (9 216 reakció/futás). A készülék alkalmazási területei: genotipizálás, génexpresszió analízis, digitális real-time PCR.

A **Juno** univerzális IFC (integrated fluidic circuit) kontroller Fluidigm rendszerekhez. A műszer képes kezelni az összes Fluidigm mikrofluidikai PCR alapú IFC 'chip'-et, azok feltöltését és új-generációs szekvenálási alkalmazás esetén a végtermék kinyerését a 'chip'-ekből. A műszer részeként a Peltier-elem lehetővé teszi új generációs szekvenálás előtt nagy mennyiségű minta specifikus dúsítását. A készülék alkalmazási területei: új-generációs szekvenáláshoz, szekvencia dúsítás, dúsított termék kinyerése.

### **2. QX 200 AutoDG ddPCR (Bio-Rad)**

A 'droplet' digitális PCR rendszer a víz-olaj emulzió cseppképző technológiát egyesíti a mikrofluidika technológiával. A rendszer három készülékből áll, egy automatizált cseppgenerátorból, egy hagyományos PCR készülékből és egy cseppleolvasóból. A cseppgenerátor minden PCR elegyet ~20 000 egyforma, nanoliter méretű cseppecskére bont, amelyekben a nukleinsav molekulák véletlenszerűen oszlanak el. A PCR a cseppecskékben zajlik, amelyet a cseppleolvasás követ. A cseppleolvasóban a cseppek fluoreszcencia elemzése egyesével történik, a pozitív és negatív cseppek megszámlálásra kerülnek és ezzel digitális formában szolgáltatnak abszolút mennyiségi adatot a cél DNS/cDNS-ről. A rendszer alkalmazási területei: genotipizálás, ritka mutáció/szekvencia kimutatása, kópia-szám meghatározás, génexpresszió vizsgálat, miRNS analízis.

### **3. CFX96 és CFX384 real-time PCR készülékek (Bio-Rad)**

A CFX készülékek 96 illetve 384 PCR elegyben valós-időben követik a reakció előrehaladását. A PCR készülékek pontos hőmérséklettartása és hat csatornás optikai rendszere 'singleplex' és 'multiplex' reakciók érzékeny és megbízható detektálását teszi lehetővé, az eredmények kiértékelését, különböző futtatások összehasonlítását a CFX Maestro szoftver segíti. A készülékek alkalmazási területei: genotípus meghatározás, génexpresszió vizsgálat, nagy-felbontású olvadáspont analízis, PCR módszer-kidolgozás a Biomark HD rendszerhez.

### **4. Applied Biosystems QuantStudio5 real-time PCR készülék (ThermoFisher Scientific)**

A készülékben valós-időben történik 96 PCR elegy analízise. A függetlenített filter-kombinációknak köszönhetően folytonosan állítható hullámhosszon történő fluoreszcencia jel detektálása az általánosan használt festékeken túl speciális fluoreszcens festékek alkalmazását is lehetővé teszi. A készülék alkalmazási területei: genotípus meghatározás, génextpresszió vizsgálat, nagy-felbontású olvadáspont analízis, PCR módszer-kidolgozás a Biomark HD rendszerhez.

### **5. TapeStation 4200 (Agilent)**

A TapeStation 4200 nagy-áteresztő képességű elektroforézis készülék, amely alkalmas DNS és RNS minták méret szerinti elválasztására és mennyiségi meghatározására. A nukleinsav minták futtatása a ScreenTape gélben történik a keresztszennyeződés lehetőségének teljes kizárásával.

Fotók

Biomark HD + Juno



QX 200 AutoDG ddPCR



## CFX készülék



## QuantStudio5



**TapeStation 4200**

