Life Technologies Italia
Fil. Life Technologies Europe BV
Via G.B. Tiepolo, 18
I-20900 MONZA MB
T +39 039 8389 1
F +39 039 8389 492
www.thermofisher.com

Relazione tecnica Absolute Q Digital PCR System - SKU A53267

Panoramica della tecnologia digital PCR
La digital PCR (dPCR) è un approccio al rilevamento e alla quantificazione di acidi nucleici che offre un'alternativa alla convenzionale PCR quantitativa in tempo reale per la quantificazione assoluta e il rilevamento di alleli rari. La dPCR funziona diluendo e compartimentalizzando un campione di DNA o RNA in molte microreazioni indipendenti e parallele; alcune di queste microreazioni conterranno la molecola bersaglio (pozzetti positivi) mentre altre no (pozzetti negativi).
Dopo l'analisi PCR, la frazione di reazioni negative viene utilizzata per generare un conteggio assoluto del numero di target molecolari nel campione, senza la necessità di curve standard.

Applicazioni della dPCR
La dPCR è una tecnologia molto flessibile e può essere utilizzata per le seguenti applicazioni:
• Quantificazione assoluta dei target di DNA e RNA
• Genotipizzazione
• Analisi della variazione del numero di copie (CNV)
• Rilevamento di mutazioni rare
• Rilevamento dei patogeni, tipizzazione dei ceppi e quantificazione della carica virale
• Controllo qualità per il rilevamento di contaminanti ambientali
• Sviluppo di biocarburanti
• Analisi delle proteine con saggi di ligazione di prossimità

Il sistema dPCR QuantStudio Absolute Q presenta le seguenti caratteristiche e vantaggi:

1. Il sistema dPCR QuantStudio Absolute Q è costituito da uno strumento unico ed integrato che consente di automatizzare l'intero processo di lavoro dopo la preparazione della piastra.

2. Il flusso di lavoro richiede una manualità limitata al solo allestimento della piastra che dovrà essere preparata pipettando soltanto campioni e reagenti e che non prevede l'uso di fogli adesivi o rulli.
   Tale operazione di allestimento della piastra richiede pertanto un intervento minimo e molto rapido da parte dell'operatore, indicativamente di 5 minuti.

Life Technologies Italia
Fil. Life Technologies Europe BV
Via G.B. Tiepolo, 18
I-20900 MONZA MB
T +39 039 8389 1
F +39 039 8389 492
www.thermofisher.com

3. Lo strumento, una volta caricata la piastra, completa in modo automatico tutti i successivi passaggi: compartimentalizzazione del campione, amplificazione PCR, rilevazione delle fluorescenze e analisi dei dati.

4. Il sistema dPCR QuantStudio Absolute Q include funzioni di sicurezza, controllo e firma elettronica progettate per assistere nella conformità 21 CFR Parte 11.

5. Il blocco termico dello strumento è accessibile dalla parte anteriore dello strumento per massimizzare lo spazio sul banco ed è completamente motorizzato.

6. Lo strumento prevede l'utilizzo di nanopiastre a partizione predefinita. Le partizioni sono costituite da nanopozzetti fisici stampati a microiniezione e fisicamente definiti. Pertanto non possono andare incontro a fenomeni di variazioni nelle dimensioni o di coalescenza.

7. La consistenza e riproducibilità di produzione delle nanopiastre permette di non dover impiegare un fattore di correzione per normalizzare la variabilità tra diversi lotti di produzione di piastre.

8. Lo strumento consente di poter scegliere il numero di partizioni da impiegare per l'analisi di ciascun campione grazie alla funzione Digitally Pool Arrays.

9. Lo strumento è progettato per rendere flessibile il numero di campioni da poter analizzare: è infatti possibile analizzare da 1 fino a 16 campioni contemporaneamente.

10. Le piastre impiegate sono flessibili nell'utilizzo: possono essere infatti riempite anche solo parzialmente e quindi utilizzate in più volte.

11. Lo strumento è dotato di 5 canali di fluorescenza ed è in grado di multiplexare target fino a 4 canali ottici. Il 5° canale è dedicato al fluorocromo Applied Biosystems™ ROX™.

12. La piastra non può essere mobilizzata una volta caricata nello strumento, consentendo di eseguire una sottrazione dell'immagine pre-amplificazione, da sottrarre all'immagine post-amplificazione, per migliorare la precisione del dato (eliminazione automatica dei falsi positivi).

13. Lo strumento prevede la calibrazione dei fluorocromi direttamente in fabbrica.

14. Il blocco dello strumento ha un'uniformità di temperatura di 0,5°C.

15. Lo strumento include 3 sorgenti LED ad alta potenza.

16. Lo strumento utilizza un imager CMOS per l'acquisizione dei dati e raccoglie i dati per ciascuna combinazione di filtri in <2 secondi. L'acquisizione del segnale per ciascun canale di fluorescenza avviene simultaneamente su tutte le partizioni.

Sede Legale: Life Technologies Europe BV Kwartsweg, 2, Bleiswijk 2665, The Netherlands. Capitale sociale: 32.544,48 Euro interamente versato
Iscritta al n. 29040249 nel Registro del Commercio presso la Camera di Commercio di l'Aia, Paesi Bassi

Filiale in Italia:
Domicilio Fiscale: 20124 Milano - Via V. Pisani, 20 - Cod. Fiscale e Partita IVA 12792100153 - Registro Imprese Tribunale di Milano n. 91763/99/MI – R.E.A. 1584001
Uffici Amministrativi in Italia: 20900 Monza - Via Tiepolo, 18 - Tel 039/8389.1 - Fax 039/8389492 (vend.) - 039/8389498 (amm.ne) 039/8389499 (servizio)

Life Technologies Italia
Fil. Life Technologies Europe BV
Via G.B. Tiepolo, 18
I-20900 MONZA MB
T +39 039 8389 1
F +39 039 8389 492
www.thermofisher.com

17. Lo strumento è progettato per completare la corsa (40 cicli di PCR) e l'acquisizione dei segnali in meno di 90 minuti.

18. Lo strumento è compatibile con l'uso di sonde fluorescenti ad idrolisi (es. sonde TaqMan™) e di intercalanti (es. SYBR Green).

19. Lo strumento ha specifiche di installazione dPCR che dimostrano la capacità di rilevare fino allo 0,1% di frequenza allelica con un background di almeno 10.000 copie di target wild type.

20. Lo strumento dispone di specifiche dPCR che dimostrano la capacità di rilevare fino a 0,5 copie del target/µL con una confidenza del 95% rispetto a un controllo senza target.

21. Lo strumento ha una sensibilità in grado di rilevare fino alla singola copia della molecola target d'interesse.

22. Lo strumento è dotato di un ampio range dinamico: 5 log (1-100.000).

23. Lo strumento consente di processare anche volumi di campioni molto piccoli, fino a 9 microlitri totali.

24. Lo strumento utilizza >95% di un campione caricato su >99% delle microcamere disponibili.

25. L'utilizzo del campione supera il 95% (calcolato come numero di microcamere utilizzate x volume medio della microcamera/volume di reazione iniziale).

26. Lo strumento viene fornito con un software per acquisizione e analisi dei dati completamente gratuito.