



Ускорение исследований с автоматизированными станциями Biomek для геномики

Задача: автоматизировать контроль качества и нормализацию образцов на Biomek i-Series

- Пробоподготовка для Agilent TapeStation 2200
- Нормализация и контроль качества библиотек с использованием KAPA Illumina qPCR Quantification and Normalization
- Нормализация и контроль качества библиотек с использованием Quant-IT Picogreen ds DNA Assay

Введение

Качество образцов играет решающую роль в генетике, поскольку от него напрямую зависят результаты трудоёмких и дорогих исследований, таких как NGS. В данной работе мы демонстрируем надёжную автоматизированную процедуру пробоподготовки на станции Biomek с использованием трех распространённых протоколов контроля качества и количественного определения. Эти методы могут быть использованы на этапах пробоподготовки NGS, кПЦР и микрочипов.

Этап контроля качества автоматизирован на всех лабораторных станциях Biomek и позволяет:

- Стандартизировать рабочий процесс для получения более надёжных результатов;
- уменьшить число дорогостоящих ошибок;
- сократить время ручного труда и повысить производительность;
- запустить уже готовые методы с помощью опытной команды поддержки.

Решение: лабораторная станция Biomek i5 Span-8

Система характеризуется надёжностью и эффективностью, что позволяет быть уверенным в результатах и экономить.

- Диапазон дозирования 1-1000 мкл.
- Встроенный гриппер с боковым захватом и вращением на 360°.
- 25 позиций на рабочем столе.
- Орбитальные шейкеры и элементы Пелтье для пробоподготовки.
- Дополнительный корпус.



Рисунок 1. Biomek i5 Span-8 Genomics Workstation Enclosed. Вместительный рабочий стол позволяет экономить время сотрудников.

Интерфейс запуска готовых методов

три простых модуля предоставляют пользователю все инструкции, помогающие безошибочно настроить метод и гарантирующие максимальную гибкость при планировании рабочего дня.

1. Biomek Method launcher (BML) — простой интерфейс для запуска готовых методов.



Рисунок 2. Biomek Method Launcher предлагает удобный интерфейс для запуска метода

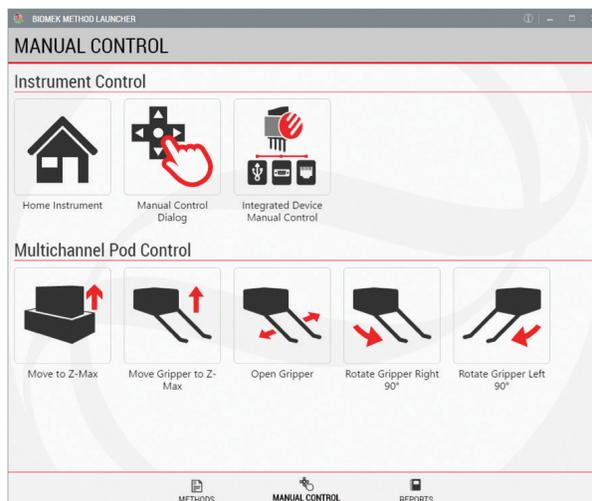


Рисунок 3. Через интерфейс BML можно перейти в режим ручного управления

2. Method Options Selector (MOS) — позволяет настроить метод согласно актуальной задаче. Например, количество и объём образцов, тип пластика.

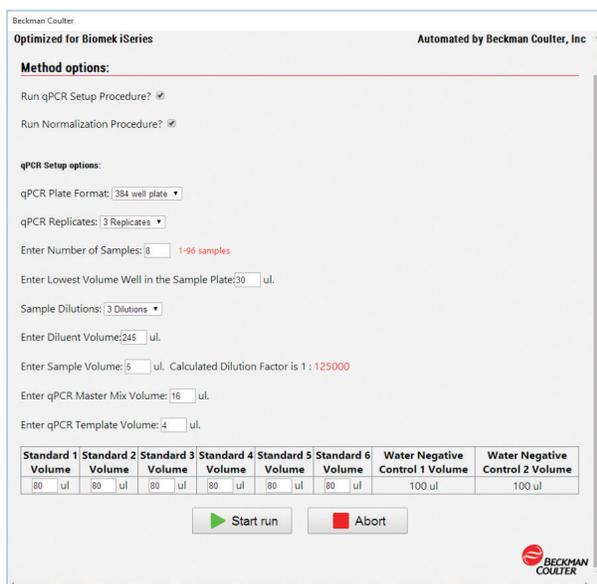


Рисунок 4. Пример настройки запуска протокола КАРА qPCR. Пользователь может выбрать, какую часть метода запустить, а также количество образцов, тип планшета, сколько повторностей и информацию о стандартах.

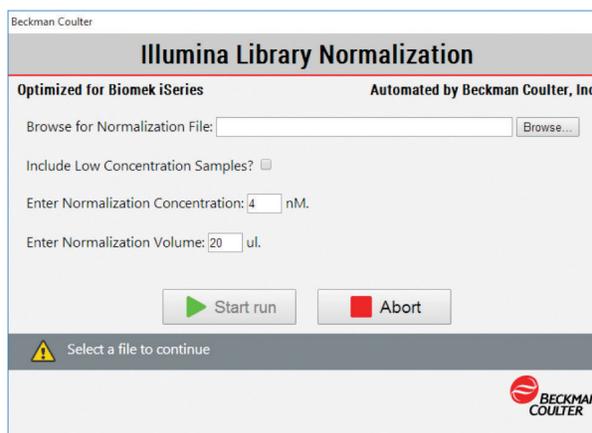


Рисунок 5. Интерфейс метода нормализации. Пользователь предоставляет файл (с исходными концентрациями образцов) и задаёт необходимое значение. Переносимый объём для нормализации образцов рассчитывается в методе автоматически.

3. Guided Labware Setup (GLS) — на основании данных, введённых в MOS рассчитывает необходимые количества пластика и реагентов и предоставляет пошаговую инструкцию для оператора по расстановке рабочего стола.

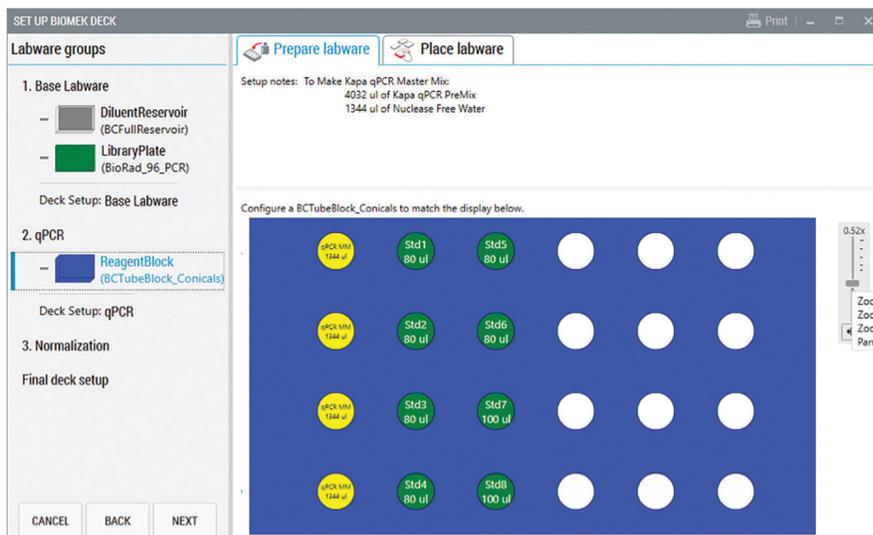


Рисунок 6. Рассчитанные объёмы реагентов и схема расстановки позволяют избежать ошибок.

Автоматизация нормализации и контроля качества на Biomek — гарантия качества ваших исследований.

| Описание основного процесса | 12 образцов | 24 образца | 48 образцов | 96 образцов |
|---|-------------|------------|-------------|-------------|
| Agilent TapeStation | — | — | — | 10 мин |
| КАРА кПЦР и нормализация : 96 лунок (3 повторности, 3 разведения) | 24 мин | 49 мин | | — |
| : 384 лунки (3 повторности, 3 разведения) | 25 мин | 33 мин | 50 мин | 1 ч 26 мин |
| Quant-IT и нормализация | 28 мин | 30 мин | 36 мин | 49 мин |
| Время подготовки станции | 10 мин | 10 мин | 15 мин | 15 мин |
| ** Без учета времени оттаивания реагентов. | | | | |

Таблица 1. Время и производительность методов с использованием лабораторной станции i5 Span-8

План эксперимента

Была продемонстрирована реализация следующих методов на лабораторной станции i-5 Span-8:

- пробоподготовка для Agilent TapeStation 2200 (*Genomic DNA Assay, D1000 DNA Assay, D1000 DNA High Sensitivity Assay, D5000 DNA Assay, D5000 DNA High Sensitivity Assay, RNA Assay and RNA High Sensitivity Assay*);
- Нормализация и контроль качества библиотек с использованием Quant-IT Picogreen ds DNA Assay;
- Нормализация и контроль качества библиотек с использованием KAPA Illumina qPCR kit.

Анализируемые образцы представляли собой готовые очищенные ДНК-библиотеки из института Coriell. Пробоподготовка производилась набором Illumina Nextera Rapid Capture Enrichment. Для получения данных на приборе TapeStation 2200 использовали набор Agilent High Sensitivity D5000 DNA. Измерение флуоресценции при работе с Quant-IT Picogreen ds DNA Assay производили в планшетном ридере Paradigm (флуоресценция при Ex 485 нм и Em 530 нм), кПЦР KAPA Illumina Library Quantification kit проводили в амплификаторе Applied Biosystem 7900Ht.

Результаты, полученные при применении прибора TapeStation:

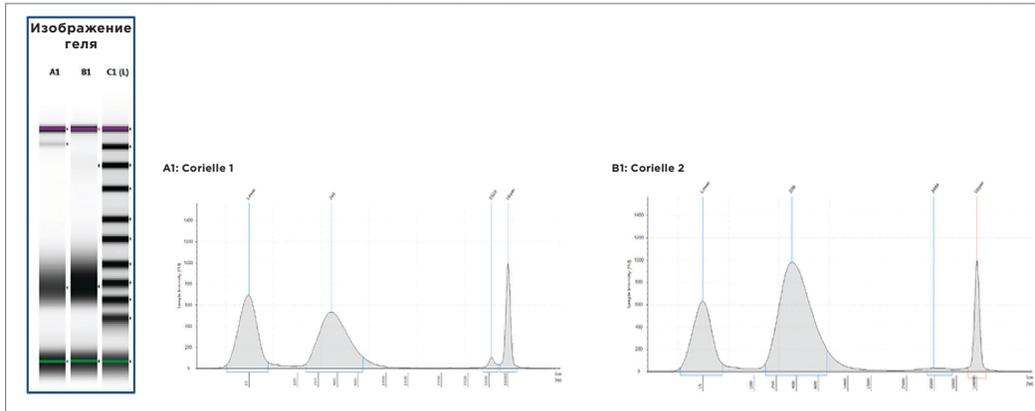


Рисунок 7. Образцы из института Coriell, отображенные на геле-электрофореграмме, после анализа с помощью набора Agilent TapeStation HS D5000, демонстрируют пик ~350 пар оснований, как и ожидалось согласно протоколу Illumina.

Результаты анализа с использованием набора Quant-IT:

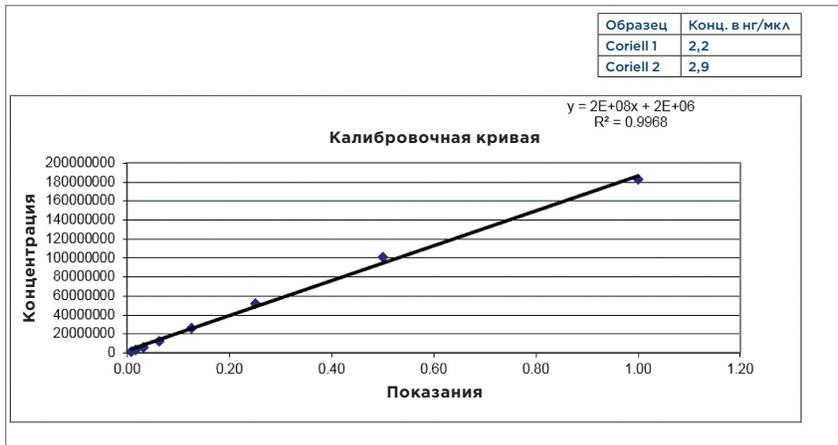


Рисунок 8. Калибровочная кривая для анализа с использованием набора Quant-IT и рассчитанные концентрации образцов Coriell

Результаты количественной ПЦР:

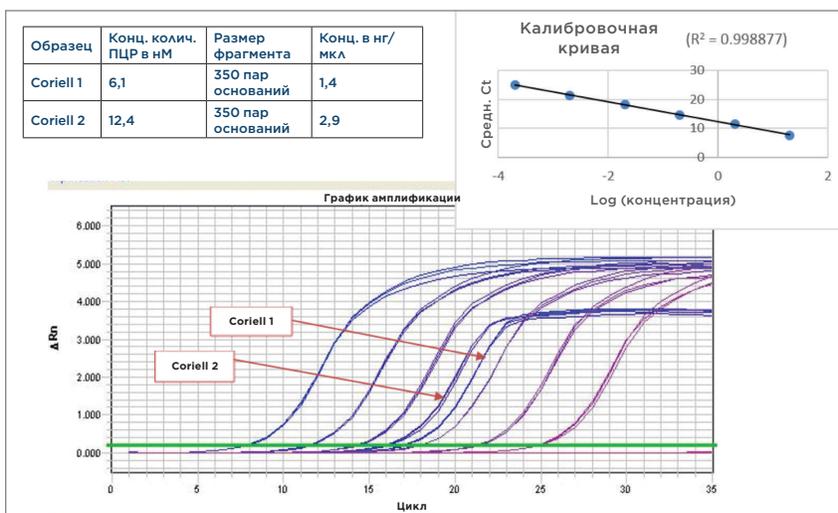


Рисунок 9. График амплификации и калибровочная кривая для КАРА Library Quantification Kit и концентрации ДНК из института Coriell, рассчитанные на основе кривой

Заклучение

Мы продемонстрировали, что очищенные ДНК-библиотеки из института Coriell, показывают сопоставимые концентрации в двух различных методах количественного определения и что данные прибора TapeStation подтверждают приемлемое качество библиотек для дальнейшего анализа.

Автоматизированные лабораторные станции Biomek не предназначены и не утверждены для диагностики заболеваний или других состояний. Данные, представленные в настоящем документе, были получены в процессе разработки.

© 2017 г. Beckman Coulter, Inc. Все права защищены. Название Beckman Coulter, стилизованный логотип, а также знаки продукции и обслуживания Beckman Coulter, упомянутые в настоящем документе, являются товарными знаками или зарегистрированными товарными знаками компании Beckman Coulter, Inc. в США и других странах.



ООО «Бекмен Культер», представительство Beckman Coulter Life Sciences ул. Станиславского, д. 21, стр. 3, Москва, Россия, 109004. тел.: +7 (495) 228 67 00, эл. почта: ls-russia@beckman.com mybeckman.ru

AAG-2339APP02.17RU