

## Nová generace PCR na mikrofluidním čipu

Společnost Fluidigm, náš americký partner, představuje evoluci svého vysokokapacitního automatizovaného Real-Time PCR cycleru Biomark. Seznamte se s novinkou Biomark X a jejími přínosy pro Vás.



### Princip a výhody mikrofluidní technologie

Srdcem technologie je mikrofluidní čip označovaný jako Integrated Fluidic Circuit (zkráceně IFC; obr. 2). Jedná se o jednorázovou plastovou destičku s jamkami zvlášť pro vzorky a pro eseje (PCR mixy s různými primery). Uprostřed čipu se nachází mikrokanálky, které propojí vzorky s esejemi ve všech mož-

ných kombinacích. Do jedné části IFC tedy uživatel napipetuje vzorky, do druhé eseje, poté už jen vloží destičku do Biomarku X a přístroj sám namíchá nanolitrové reakce pomocí mikrofluidní technologie a provede Real-Time PCR.

Rozdíl oproti staré verzi je vskutku markantní. Přístroj je výrazně menší, je vybavený velkou dotykovou obrazovkou a největším uživatelským prostředím. Díky technologickému přepracování se značně zefektivnila přípravná fáze. Skvělý design nového Biomarku X je už jen pomyslnou třešničkou na dortu tohoto high tech Real-Time PCR nástroje.

**Rychlostí a úsporou času** – v rámci jednoho běhu, během pár hodin, lze získat obrovské množství dat (až 9 216 PCR reakcí), jejichž získání by pomocí konvenčních metod zabralo dny až týdny.

Tento přístroj najde uplatnění při studiu genové exprese, genotypizaci, ale i detekci patogenů, SNPs nebo v biobankách. Ať už Vás zaujal z jakéhokoliv důvodu, rádi Vás pozveme na webinář Fluidigm zaměřený právě na Vaši aplikaci. Přihlaste se, prosím, e-mailem na [jpolak@dynex.cz](mailto:jpolak@dynex.cz).

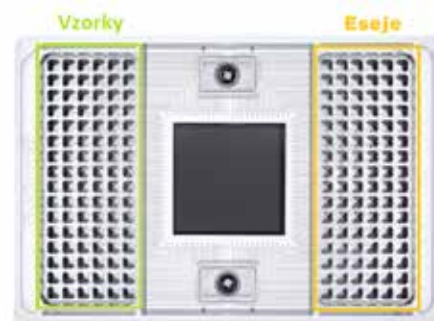


Obrázek 1 - Biomark X

### V čem se Biomark X tolik liší od konvenčních Real-Time PCR cyclerů?

**Spotřebou reagentů** – přístroj využívá pouze nanolitrové objemy, čímž výrazně snižuje náklady na reakci, ať už je to spotřeba vzorku nebo mastermixu.

**Automatizací** – přístroj reakci namíchá sám. Do IFC stačí jen napipetovat vzorek a jednotlivé eseje. Manipulace s těmito kapalinami je řešena mikrofluidní technologií bez nutnosti zásahu obsluhy. Také vlastní PCR reakce začne automaticky bez nutnosti další manipulace s čipem ze strany uživatele. Jedná se o tzv. walk-away platformu.



Obrázek 2 - IFC

[jpolak@dynex.cz](mailto:jpolak@dynex.cz)

## Chemiluminiscenční řešení od společnosti IDS

Naše metodické portfolio, které doposud zahrnovalo především nepřímou fluorescenci, enzymatickou imunoassay (ELISA) a blotovací techniky, se nově rozrůstá o další metodu a k ní přidružené přístroje, chemiluminiscenci.



Chemiluminiscenční assay využívá magnetické partikule s vázanými specifickými antigeny/protilátkami umožňující detekci specifických protilátek/antigenů v patientském vzorku prostřednictvím emise chemiluminiscenčního záření. Zpracování vzorků je až po samotné vyhodnocení vzorků prováděno dvěma dostupnými přístroji, jmenovitě i10 nebo dvojnásobnou kapacitu nabízejícím iSYS. Oba přístroje jsou ‚random access‘ platformy umožňující kontinuální zpracovávání vzorků séra, plazmy nebo moči tak, jak jsou do laboratoře doručovány. Zpracováním vzorků pod 30 min nabízejí oba přístroje vysokou průchodnost, kterou ocení střední i větší laboratoře. Kromě infekčních

a autoimunitních markerů je k dispozici rozsáhlé portfolio alergenů, dále endokrinní parametry či soupravy pro monitoring koncentrace speciálních léčiv při aplikované terapeutické léčbě. Pro více informací o přístrojích i aktuálním portfolio kontaktujte Vašeho aplikačního specialistu.

DYNEX je pyšný na to, že Vám tento nový přírůstek může představit díky spolupráci s našimi evropskými partnery.

[mkucera@dynex.cz](mailto:mkucera@dynex.cz)

## DYNABLOT Automatic V4

Již celou dekádu je v provozu DYNABLOT Automatic na zpracování westernblotů a blotových technik obecně. Propojení se softwarem EUROLinescan společnosti EUROIMMUN umožnilo komfortní zpracování blotů, jejich snímání a vyhodnocování výsledků, včetně možného importu požadavků a exportu výsledků do LIS. Je samozřejmé, že se tak v průběhu let nashromáždily mnohé náměty na vylepšení celkového systému. To se ovšem netýká vnějšího designu, který je svým způsobem nadčasový a zůstává zachován.



Zásadní změny se však objevují v modernizaci obslužných komponent.

V první řadě určitě zaujme zvýšená kapacita držáku zkumavek a plata na stripy, které se zvyšuje na 60 pozic. Přitom držák lze použít jak na 44, tak i pro 60 zkumavek (průměr 8-16 mm) a stejně tak je možné použít oba typy plat.

Vylepšení pipetovacího systému vzorků jednak pomůže k detekci sraženin a umožní použití zkumavek se separačním gelem. Také pohyby jehly do vzorku jsou rychlejší a tišší.

Vítanou novinkou bude určitě i detekce nedostatku reagensů, kdy senzory na hadičkách před každým kanálem kontrolují případné bublinky během plnění a při objevení bublin je spuštěn alarm a přerušeno běh. Po doplnění kapaliny pak běh pokračuje. Nový typ peristaltického čerpadla umožňuje dávkování nižších

objemů kapalin, rozlišení volitelné 0,1 / 0,01 ml je tak možné použít pro objemy reagensů nižší než 0,5 ml na strip.

Jsou přidány i některé mechanické změny jako volitelná poloha držáku plata během pipetování vzorku nebo nastavitelný úhel a rychlost kvívání držáku plata. Sušení stripů je urychleno vyhříváním ventilátorem, jehož otáčky lze regulovat, a tak snížit pravděpodobnost vylétnutí stripů z jamek. Pro rychlejší sušení se může vyhřívát i deska pod platem. Byl přidán bezpečnostní prvek přerušení chodu protokolu otevřením krytu, tato funkce je volitelná.

Ke správnému vyhodnocení výsledků pak patří i detekce obrázků, lze využít kameru s výsledným rozlišením 10 megapixelů (původně 5) s výsledkem rozlišení 670 DPI. Také osvětlení bylo dílnou DYNEXU změněno použitím nové LED

součástky, nyní je rovnoměrnější a stabilnější.

Kromě toho byly provedeny i změny algoritmů, např. dříve se celé plato nejdříve naplnilo v pevné poloze vzorkem a teprve potom začala inkubace. Nová verze umožňuje plnit stripy vždy po třech vzorcích, potom se plato zhoupne a pokračuje v plnění vzorků. Inkubační doba začíná po první sérii, takže inkubace a dávkování reagensie probíhá současně a bez prodlev.

Celý elektronický systém byl upraven s použitím nejnovějších typů komponent, mikročipů a nových obvodů, které umožňují řízení nových funkcí.

Věříme, že všechny změny a úpravy nové verze DYNABLOT Automatic V4 budou jen ku prospěchu a ke spokojenosti uživatelů v laboratořích.

◆ vkrauz@dynex.cz



## Sa2Res: trendy automatizace pro Vaši PCR laboratoř

Ruku v ruce s obrovským množstvím vzorků přišla do diagnostických molekulárně-biologických laboratoří také potřeba automatizace, na kterou reagují výrobci napříč trhem s přístrojovým vybavením. Je nám ctí, že Vám můžeme představit nový systém Sa2Res z dílny našeho dlouholetého partnera, italské společnosti Sacace Biotechnologies, pro plnou automatizaci od vzorku po výsledek, který je vhodný i pro menší PCR laboratoře.



Tým Sacace vytvořil automat pro zpracování vzorků z primárních zkumavek, který umožňuje extrakci DNA/RNA z řady materiálů, následnou přípravu PCR reakce dle preferencí uživatele a konečně provedení Real-Time PCR včetně analýzy výsledků. Extrakce nukleových kyselin funguje na principu separace pomocí magnetických kuliček, pipetovací část přístroje je pak založená

na kvalitní a spolehlivé technologii TECAN. Přístroj umožňuje zpracování až 48 vzorků v jednom běhu, využívá pětikanálový Real-Time PCR cykler a samozřejmě umožňuje napojení do LIS.

Sa2Res vystihuje to, jakým směrem se ubírá PCR diagnostika. I menší laboratoře chtějí své metody automatizovat, přičemž diagnostika SARS-CoV-2 tento trend ještě umocnila. A také díky

ni zavedly PCR i laboratoře, které dříve o PCR jen uvažovaly. Právě kombinace širokého portfolia PCR kitů Sacace a nového automatu Sa2Res je ideální volbou v rámci kontinuity menších PCR laboratoří „po covidu“. Zjistěte, jak by mohla platforma Sa2Res pomoci právě Vám. Budeme se těšit na Váš kontakt.

◆ hvocerikova@dynex.cz



## Má ženské jméno – je to tedy PCR cyklerka?

Firmy se nyní možná ještě více než dříve předhánějí v tom, kdo má více kompletní portfolio pro PCR.



Na jedné straně pro výrobce není snadné kombinovat technologie z oblasti výroby reagensů a elektroniky, aby mohli nabízet diagnostické kity i přístroje, na druhé straně laboratoře chtějí plné garance vzájemné kompatibility a funkčnosti mezi diagnostikou a přístroji. Toho lze nejlépe dosáhnout právě tím, že obojí bude od jediného dodavatele. Česká společnost Ecoli jde právě tímto směrem a postupně doplňuje své portfolio diagnostických kitů a přístrojů. V nabídce již máme izolátor ePure. Nyní představujeme Real-

Time PCR cykler **eQuantia 48**, který spolu s ePure vytváří klasický harmonický pár v oblasti přístrojového vybavení. Ecoli tak zkompletovalo svou nabídku pro PCR od vzorku po výsledek ve smyslu „vše od Ecoli“.

Jedná se o přístroj, který na vašem stole nezabere moc místa. Zvládne zpracovat PCR zkumavky i stripy (kapacita 48 x 0,2 ml). Pětikanálová optika (FAM, HEX, ROX, Cy5, Cy5.5) založená na LED technologii je dnes samozřejmostí, stejně jako možnost HRM analýz (high-resolution melting). Přístroj se ovládá přes

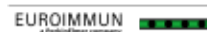
počítač pomocí přehledného softwaru s možností připojení do laboratorního informačního systému (LIS). Hlavním smyslem přístroje však je jeho plná a zejména garantovaná kompatibilita s PCR kity od Ecoli, ovšem stejně dobře bude fungovat i s kity jiných výrobců.

Nyní tedy i s produkty Ecoli získáte výhodu kompletního řešení pro Vaši laboratoř. Nechte si jej představit, včetně nové eQuantie, našim obchodním zástupcem při příští návštěvě u Vás.

◆ tvydareny@dynex.cz

# Použití alternativních substrátů pro diagnostiku protilátek proti endomysiu

V laboratorní diagnostice celiakie jsou základními typy vyšetření: test protilátek proti tkáňové transglutamináze, proti deamidovanému gliadinu a test nepřímé imunofluorescence proti endomysiu - EMA. Výchozím substrátem, a do nedávna i zlatým standardem, pro test EMA byl řez opičího jícnu. V minulosti jako alternativa byly používány i tkáňové řezy opičího střeva nebo pupečníku. Všechny tyto substráty musí být hodnoceny se znalostí struktury řezu a vědomím možných komplikací, především při současné pozitivitě protilátek proti hladkému svaly.



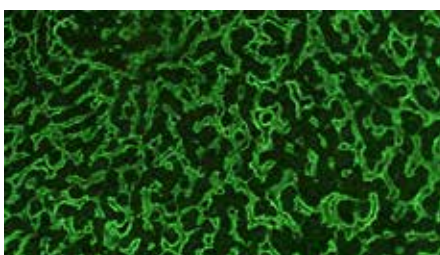
Zvýšenými požadavky na autoimunitní vyšetření se snižuje dostupnost opičích substrátů navíc komplikovaná omezením zdrojů opic. Vhodnou náhradou za opičí jícen jsou řezy opičích jater. Není to žádná novinka, tento substrát je používán už více jak 15 let. Řezy jater jsou výrazně dostupnější a jaterní tkáň i více homogenní, navíc zcela odpadají komplikace u vzorků s pozitivitou proti hladkému svaly.

Odečítání protilátek proti endomysiu na játrech je poměrně komfortní, rychlé a bez výrazných problémů s možností falešné negativity. Poměrně vysoká citlivost je schopna detekce stopových hladin protilátek po dietě pacienta, kdy také protilátky proti tkáňové transglutamináze klesají pod hranici positivity. Jako

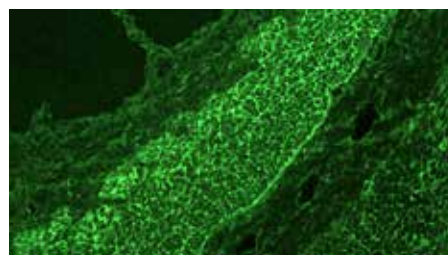
pozitivita EMA jsou určující struktury stěny jaterních sinusoidů, které jsou nezaměnitelné, viz foto. Substrát jater lze úspěšně

použít pro testy jak ve třídě IgA, tak IgG.

[jlupac@dynex.cz](mailto:jlupac@dynex.cz)



EMA IgA pozitivní na řezu opičích jater



EMA IgA pozitivní na řezu opičího jícnu

## NeutraLISA

Dovolujeme si Vám tímto představit soupravu společnosti EUROIMMUN, která doplňuje diagnostiku a sledování infekce novým typem koronaviru, konkrétně soupravu, která nese název NeutraLISA - EI 2606-9601-4, SARS-CoV-2 a je určena pro stanovení přítomnosti neutralizačních protilátek anti-SARS-CoV-2 S1/RBD.



Přímá imunitní odpověď proti viru SARS-CoV-2 zahrnuje humorální imunitní odpověď (tvorba imunoglobulinů různých tříd protilátek) a buněčnou odpověď (tvorba zánětlivých molekul). Humorální odpověď začíná asi 5 dní po kontaktu s virem a postupem času se zvyšuje, ale protilátky mají omezený poločas rozpadu a zůstávají v těle zhruba 6 měsíců. Protilátky jsou namířeny proti různým proteinovým strukturám viru SARS-CoV-2, zejména protilátky namířené proti části RDB (receptor binding domain) S1 proteinu mají neutralizační schopnost, neboť zabírají vazbu na receptor ACE2, a tím invazí do hostitelské buňky a vzniku infekce.

Pro detekci přítomnosti neutralizačních protilátek se standardně využívá virus neutralizační test (VNT), jehož provedení je však zdlouhavé, vyžaduje BSL-3 pracoviště a velké množství zkušeností pro správnou interpretaci dat. Nejen ve srovnání s VNT nabízí souprava EI 2606-9601-4, SARS-CoV-2 NeutraLISA několik benefitů:

- princip kompetitivní ELISY, kdy patientský vzorek smíchaný s puřem obohaceným o ACE2 konkuruje o vazbu s coatovaným S1/RBD antigenem je systém napodobující proces infekce

SARS-CoV-2 in vivo

- velmi vysoká shoda se standardně využívaným VNT testem
- vysoká korelace s WHO standardy
- provedení nevyžaduje BSL-3 laboratoř
- standardizace provedení testu, možnost automatizace na ELISA automatech
- výsledky do 2 h (namísto dní v případě použití VNT)

Pokud již pacient přišel do kontaktu s virem, pak se neutralizační protilátky budou vázat na doménu S1 v jamkách. Pokud pacient

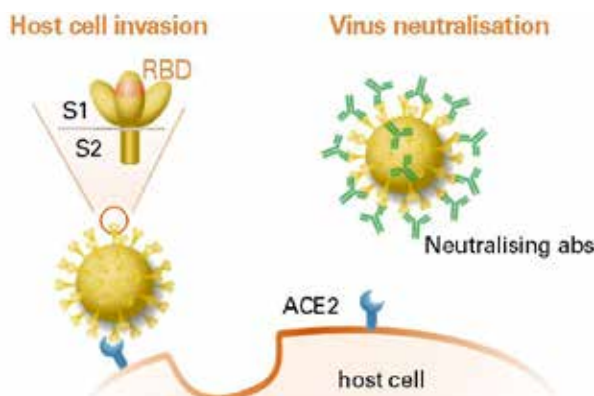
nemá neutralizační protilátky, naváže se biotinylovaný ACE2. Na konci testu bude zbarvení nepřímo úměrné množství neutralizačních protilátek přítomných ve vzorku. Procento inhibice se měří podle následujícího vzorce:

$\% HI = 100\% - (OD \text{ pacienta} * 100\% / \text{průměrná OD prázdného vzorku})$

Mezní hodnota byla stanovena na základě interního referenčního materiálu. Hodnota vyšší nebo rovna 35% inhibice je interpretována jako pozitivní. Kromě toho, protože byl k dispozici první mezinárodní standard WHO pro imunoglobulin anti-SARS-CoV-2 NIBSC kód 20/136, byla provedena jeho sériová ředění a porovnána s procenty inhibice.

Test prokázal citlivost 95,9% a specifitost 99,7%.

V případě jakýkoliv dotazů se neváhejte kdykoliv obrátit na naše aplikační specialisty.



[lpolsanka@dynex.cz](mailto:lpolsanka@dynex.cz)

# EUROLabOffice 4.0 a automatický mikroskop EUROPattern Microscope Live

Představujeme vám nový software, který zjednodušuje a urychluje rutinní práci v laboratoři a zvyšuje její bezpečnost a efektivitu díky organizaci celého laboratorního postupu a sledovatelnosti všech dat a procesů. EUROLabOffice 4.0 nabízí mnoho výhod jak pro menší laboratoře s převážně manuálními pracovními postupy, tak i pro vysoce výkonné laboratoře s mnoha propojenými automatizovanými systémy a pracovními stanicemi.

EUROIMMUN  
A PathLine company

EUROLabOffice 4.0 je centrální rozhraní, které propojuje laboratorní informační systém (LIS) a přístroje od firmy EUROIMMUN. Tento systém podporuje všechny produkty společnosti EUROIMMUN pro autoimunitní, infekční, alergologickou a molekulárně biologickou diagnostiku a detekci antigenů.

EUROLabOffice 4.0 se vyznačuje uživatelsky příjemným prostředím a intuitivním ovládním. Software nabízí kompletní zajištění procesu vzorku od jeho registrace, přes dání pokynu analyzátoru pro provedení testu, až po archivaci výsledku. Veškerá data jsou obousměrně posílána (mezi LIS, EUROLabOffice 4.0 a analyzátořem) v reálném čase, nedochází tedy k žádnému zpoždění.

V návaznosti na představení softwaru EUROLabOffice 4.0, bychom vám rádi představili i nový plně automatický mikroskop EUROPattern Microscope Live. Jedná se o mikroskop, který je schopen pořídit jeden imunofluorescenční snímek za pouhé 2 vteřiny. Enormní rychlost snímání doplňuje vysoký komfort uživatelského softwaru EUROLabOffice 4.0 pro vyhodnocování imunofluorescenčních obrazů přímo na dotykové obrazovce



počítače. Intuitivní dotykové uživatelské rozhraní umožňuje uživateli přímo přibližovat obraz nebo měnit polohu během živé mikroskopie. Navíc je možné, aby obrázky na obrazovce počítače prohlíželo několik uživatelů současně.

Do mikroskopu je najednou možno načíst až 50 polí. Pomocí objektivu s 20násobným zvětšením, kamery s vysokým rozlišením a vysoce kvalitních optických komponent lze pod

mikroskopem automaticky prohlížet velké množství substrátů. Jedná se například o tkáně, HEP-2 buňky, Crithidie, granulocyty, buňky exprimující antigeny a další. Ostření probíhá v plně automatickém režimu pomocí technologie laserového ostření. Samoregulační LED s dlouhou životností slouží jako zdroj excitace a automatická kalibrace mikroskopu, založená na integrovaném fluorescenčním standardu, zajišťují konzistentní intenzitu imunofluorescenčního signálu. Díky svému kompaktnímu designu a neprůhlednému krytu lze EUROPattern Microscope Live používat v jakékoli místnosti a zcela nezávisle na světelných podmínkách. Není tedy třeba temné místnosti.

Klíčovou funkcí automatického mikroskopu EUROPattern Microscope Live je analýza nasnímaných fluorescenčních obrazů pomocí konvolučních neuronových sítí. Tato analýza slouží pro generování návrhů výsledků, včetně výpočtu příslušných titrů. Tato unikátní funkce zjednodušuje a zpřjemňuje vyhodnocování imunofluorescenčních obrazů.

◆ mrenner@dynex.cz

## 7 typů homogenizačních kuliček – jak se v nich vyznat?

Homogenizace pomocí kuliček je základní krok mechanické přípravy komplexních vzorků před vlastní izolací nukleových kyselin. Typickými příklady komplexních vzorků jsou půda, stolice, části rostlin, či environmentální vzorky po filtraci vody nebo vzduchu.



MN MACHEREY-NAGEL

Náš německý partner, společnost MACHEREY-NAGEL, vyvinul 7 různých typů kuliček, aby pokryl široké spektrum aplikací z různých odvětví a pro různé velké série vzorků. Kuličky lze používat jak v samostatných zkumavkách, tak v 96jamkových stojancích. A jak tedy vybrat ty správné kuličky? Tým MACHEREY-NAGEL nově vytvořil přehledného průvodce, který Vám může ušetřit spoustu času a rychle Vás nasměrovat správným směrem.

• kuličky A: 0,6-0,8 mm keramické – vhodné zejména pro **mikrobiomové studie z půdy či stolice**

• kuličky B: 40-400 μm skleněné – vhodné zejména na **kultivované mikroorganismy**

• kuličky C: 1-3 mm korund – vhodné zejména na **kvasinky a houby**

• kuličky D: 3 mm ocelové – vhodné zejména na **tkáně včetně hmyzích**

• kuličky E: směs 3 mm ocelové + 40-400 μm skleněné – vhodné zejména na **mikroby obsažené v tkáních**

• kuličky F: směs 3 mm korund + ocel – vhodné zejména na **obtížné homogenizovatelné tkáně jako slezina či plíce**

• kuličky G: 5 mm ocelové – vhodné zejména pro **vzorky rostlin**  
Mnohem více detailů o kuličkách a možných aplikacích se můžete dozvědět na webu společnosti MACHEREY-NAGEL. A právě tímto článkem Vás chceme na něj pozvat, zejména do sekce "Our latest highlights", kde nově naleznete i zajímavé články o možnostech molekulárně biologického testování potravin, či o extrakci RNA SARS-CoV-2 z odpadních vod.

[www.mn-net.com/beadtubeoverview](http://www.mn-net.com/beadtubeoverview)

◆ tvydareny@dynex.cz



DYNEX  
ČR: Lidická 977, 273 43 Buštěhrad, Česká republika  
Tel.: +420 220 303 600, e-mail: office@dynex.cz  
SR: Nové Kalište 17, 974 04 Banská Bystrica, Slovenská republika  
Tel.: +421 484 155 045, e-mail: dynex@isternet.sk  
[www.dynex.cz](http://www.dynex.cz)

Informační bulletin firmy DYNEX

◆ DYNEX