

Amplification par Recombinase et Polymérase : une option révolutionnaire à la PCR

Pour en savoir plus : www.twistdx.co.uk/

Contact : Helen, Tél : +44 1223 496700 – info@twistdx.co.uk

La RPA (Amplification par Recombinase et Polymérase), technologie exclusive de TwistDx combine vitesse, facilité de transport et d'utilisation avec une sensibilité et une spécificité supérieures comparées aux autres méthodes de détection disponibles sur le marché. Elle représente une révolution complète dans le diagnostic ADN. Elle peut être utilisée presque n'importe où, supprimant ainsi le besoin d'avoir un laboratoire ou un technicien qualifié.

Le processus de RPA de TwistDx utilise des enzymes, appelées recombinases, capables de lier des amorces oligonucléotidiques avec leurs séquences complémentaires dans l'ADN duplex. Grâce à cette méthode, la synthèse d'ADN est dirigée sur des séquences précises dans un échantillon d'ADN. Si la séquence cible est présente, la réaction d'amplification d'ADN est initiée ; aucune autre manipulation de l'échantillon, telle que la fusion thermique ou chimique, n'est nécessaire. La réaction progresse rapidement et, en 5 à 10 minutes, donne des résultats détectables à partir de quelques copies de la séquence cible.

La réaction complète est stable sous forme lyophilisée et peut être transportée en toute sécurité sans réfrigération. La RPA peut remplacer la PCR (Polymerase Chain Reaction) dans de nombreuses applications de laboratoire. Ses utilisateurs peuvent concevoir leurs propres tests ultra-sensibles, sans avoir recours à un thermocycleur, contrairement à la plupart des systèmes d'amplifications.

Les avantages de la technologie RPA

La technologie RPA présente certaines caractéristiques qui la rendent transportable et utilisable sur le terrain pour de nombreuses applications. Parmi ces caractéristiques :

- Températures de fonctionnement peu élevées et constantes

La RPA fonctionne à des températures constantes et peu élevées (température optimale de 37°C) car elle ne nécessite pas la fusion initiale de l'échantillon d'ADN. En fait, la chaleur du corps peut soutenir le processus si nécessaire. Elle est aussi résistante à des températures basses ou hors normes. A des températures ambiantes typiques (25°C) le processus fonctionne toujours, bien que plus lentement, et les résultats peuvent être obtenus en une heure si la biochimie est configurée de manière appropriée. (N.B. Les kits standards TwistAmp® ne sont pas configurés pour fonctionner en dessous de 37°C. Des tests jetables sont prévus très prochainement.)

- Limites de tolérance de l'échantillon

Il a été démontré que la RPA fonctionne à partir d'échantillons n'ayant subi aucun procédé classique de purification de

l'acide nucléique, tel que la méthode de Boom. La matrice d'ADN pour RPA a été préparée avec succès à partir de sang, prélèvement nasal et milieu de culture, simplement avec des procédés de lyse du pathogène (traitement par chaleur ou en milieu faiblement alcalin) ne nécessitant ni isolation, ni purification des acides nucléiques. La meilleure approche doit être déterminée pour chaque type d'application et dépend de facteurs tels que le titre du pathogène, la présence d'inhibiteurs et les exigences de la lyse. La fiabilité de la RPA vis-à-vis de ces matrices complexes d'échantillon rend cette méthode idéale pour des utilisations sur le terrain et sur le lieu des soins.

- Rapidité

La RPA est capable d'amplifier jusqu'à des niveaux détectables, généralement en 5 à 10 minutes à 37°C, à partir d'une faible quantité de molécules.

- Sensibilité

La RPA est capable de détecter des copies simples d'ADN et quelques dizaines de copies d'ARN.

- Spécificité

La spécificité est telle, qu'elle peut amplifier une seule molécule cible en présence de plusieurs centaines de nanogrammes d'ADN génomique complexe non apparenté, comme ceux des plantes et des mammifères. Ceci permet de détecter des niveaux traces de séquences cibles, même dans des échantillons d'acides nucléiques extrêmement complexes.

- Large gamme d'applications

La RPA a de très nombreuses applications, car elle fonctionne avec n'importe quelle cible d'ADN ou d'ARN. La détection de l'ARN ultra-haute sensibilité est possible si la transcriptase inverse est incluse dans la réaction RPA.

- Détection simultanée de cibles multiples

Il est possible de détecter plusieurs cibles simultanément en combinant plusieurs amorces de détections dans une même réaction RPA.

- Faible coût d'investissement

La RPA, comparée aux autres tests de diagnostics sur le marché, n'exige pas d'investissements coûteux et permet donc l'accès à un grand nombre d'utilisateurs.

- Nombreuses formes de détection

TwistDx propose une grande variété d'instruments et de systèmes de détection y compris la fluorescence, des sondes en temps réel, et des tests « type sandwich ».

Enrichissement de marques épigénétiques très abondantes à partir de cellules stromales endométriales

Contact : Porvair Sciences - Tél. : +44-1978-666239

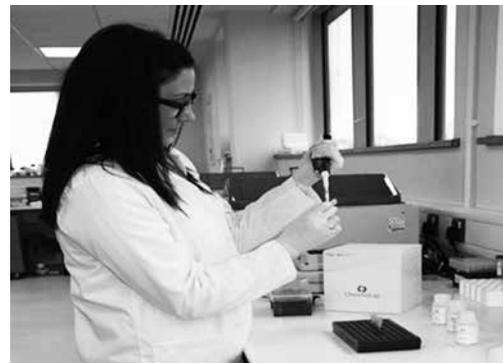
int.sales@porvairsciences.com - www.chromatrap.com

Chromatrap®, la nouvelle matrice solide pour dosage par immunoprécipitation de chromatine (ChIP), mise au point par Porvair Sciences, a été utilisée avec succès pour isoler la chromatine de haute qualité d'un matériau de biopsie difficile.

En se concentrant sur la précipitation de marques épigénétiques de cellules stromales endométriales primaires, les chercheurs ont produit des marques épigénétiques très abondantes sur un million de cellules isolées à partir d'une biopsie de tissu, avec une amplification sélective des gènes cibles positifs par rapport aux IgG négatifs et aux loci génétiques négatifs. Les travaux décrits montrent par ailleurs comment le kit de dosage par ChIP ChromaTrap permet d'obtenir une amplification positive des marques de régulation des histones sur des loci spécifiques, ainsi que sa compatibilité avec les tissus humains.

Ce protocole d'enrichissement des marques épigénétiques à partir de cellules primaires de tissus humains est détaillé dans une note d'application pouvant être téléchargée sur la page www.chromatrap.com/downloads/.

Chromatrap® utilise un polymère poreux en phase solide fonctionnalisé avec de la protéine A, rendant la capture de la chromatine plus efficace qu'avec les procédés ayant recours aux billes. Le système de centrifugation ChromaTrap par rotation des colonnes offre des avantages significatifs



par rapport aux méthodes ayant recours aux billes de sépharose ou aux billes magnétiques, qui nécessitent de nombreuses étapes de séparation, de pipetage et de remise en suspension. Des tests indépendants effectués avec ChromaTrap démontrent un pull-down d'ADN jusqu'à 25 fois plus élevés qu'avec les procédures traditionnelles ayant recours aux billes, une excellente qualité d'enrichissement de l'ADN avec un rapport signal-bruit généralement de 2 à 3 supérieur par rapport aux procédures concurrentes, et une performance optimale avec des échantillons de toutes tailles (de 50 à 3000 ng de chromatine par immunoprécipitation).

SYNERGYneo2
multi-mode reader



- Technologie hybride
- Bande passante variable
- Lecture de plaque ultra-rapide
- Options pour cellules vivantes

Il ne peut y avoir qu'un seul meilleur lecteur

Le Synergy Neo2 de BioTek est le lecteur de plaque ultra-rapide le plus avancé du marché.

Think Possible

BioTek

BioTek France

BioTek Instruments SAS
50 avenue d'Alsace, 68025 Colmar Cedex
Tel: 03 89 20 63 29, Fax: 03 89 20 43 79
info@biotek.fr, www.biotek.fr

BioTek Switzerland

BioTek Instruments GmbH
Zentrum Fanghöfli 8, 6014 Luzern
Tel: 041 250 40 60, Fax: 041 250 50 64
info@biotek.ch, www.biotek.ch