

Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek



Bart Mol

Teamleider Facilitair Team

Afdeling Genetica van het UMC Groningen

Sectie Genoomdiagnostiek



Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek

Genetica van het UMCG

Klinische Genetica

Genoomdiagnostiek

O&O

O&I

Genoomdiagnostiek

Facilitair team

Klassieke Cytogenetica (chromosomen onderzoek)

Moleculaire Cytogenetica (QF/ Array/ Fish)

DNA diagnostiek (Sanger/ NGS)



Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek

8000 – 10.000 DNA-isolaties op jaarbasis

bloed

beenmerg

weefsel

vruchtwater

chorion villi

FFPE (paraffine)

celkweken

sputum

wangslimvlies



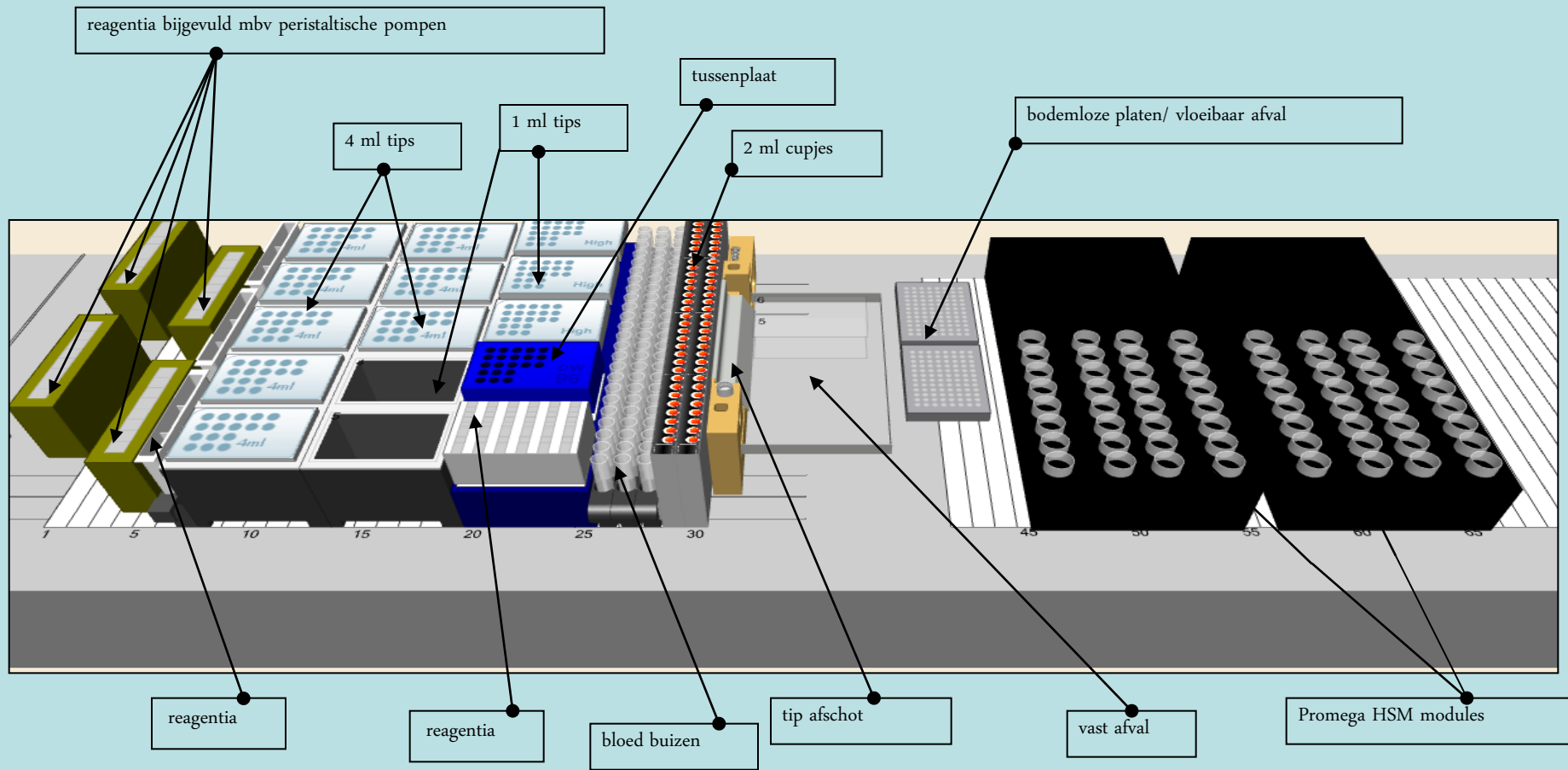
Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek

Eisen aan een geautomatiseerd DNA isolatiesysteem voor bloed

- robuust/ betrouwbaar
- bestaand systeem (geheel of in delen)
- geen verplaatsingen over het deck (gripper)
- geen systeemvloeistof
- controle op basis van barcode
- na start is de “hands-on”- tijd 0
- crosscontaminatie is uitgesloten
- isolatie op basis van beads
- clotdetectie is 100%
- < € 9,- per isolatie
- opbrengst is > 20 ug/ ml bloed
 - kwaliteit voldoet aan onze eisen
 - onafhankelijk van antistollingsmiddel
 - DNA is bruikbaar in downstream toepassingen



Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek



Op basis van een Hamilton Microlab Star-plus systeem en Promega HSM-modules

Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek

- bloedbuizen en cupjes zijn van barcodes voorzien
- chemicaliën en disposables worden op deck geplaatst
- lysisbuffer/ bindingbuffer/ wasbuffer/ ethanol via peristaltischepomp
- bloed wordt overgebracht naar 50 ml buis in HSM-module
- de volumes toegevoegde buffer zijn afhankelijk van het volume bloed
- DNA gebonden aan beads
- tussenplaat = laatste beads wegvangen
- DNA overbrengen naar 2 ml safelock cupjes
- DNA klaar om doorgemeten te worden (kwaliteitsbepaling)



Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek



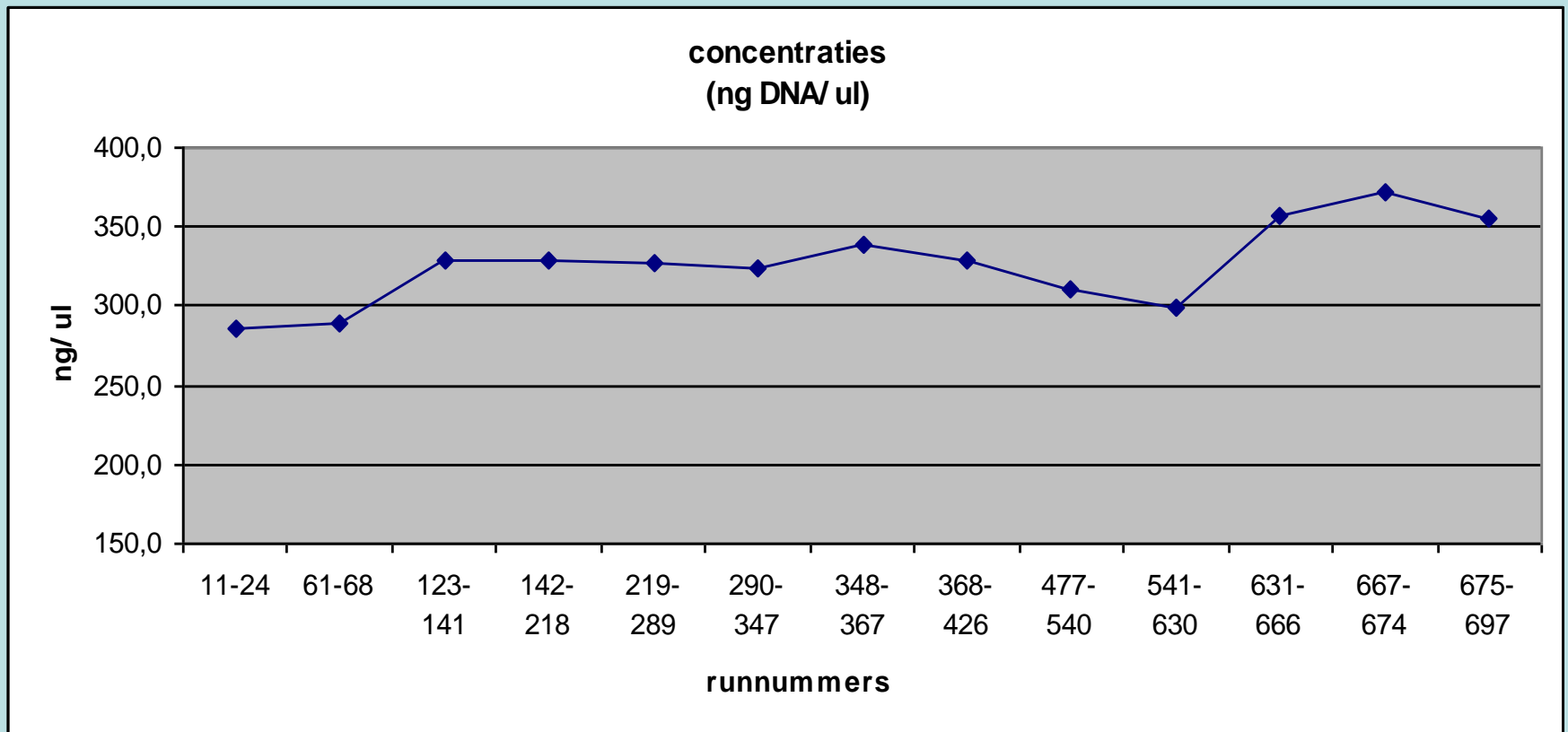
Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek

Validatie van het systeem

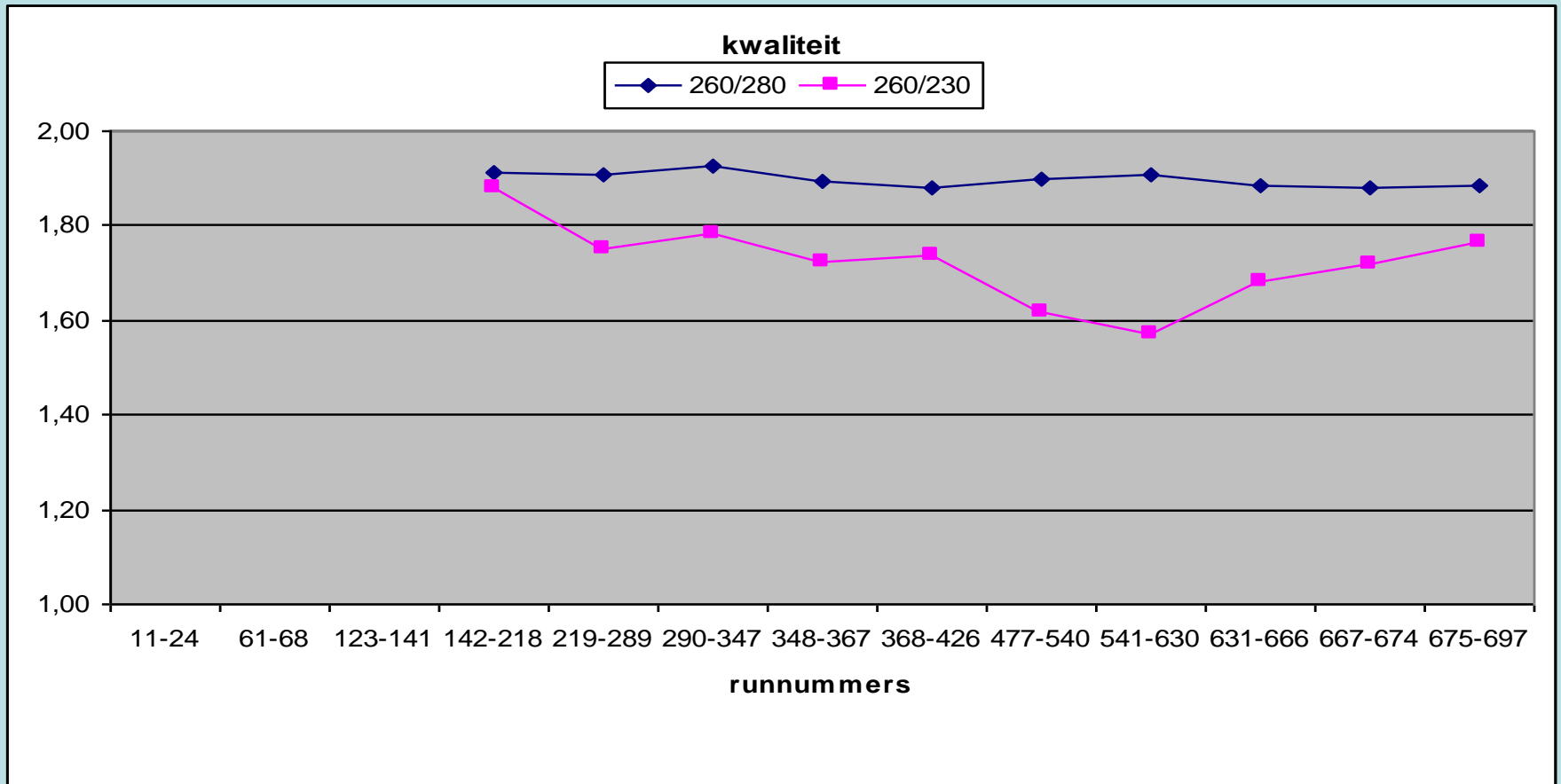
- visuele controle: is contaminatie uitgesloten?
- praktisch controle: is er geen crosscontaminatie?
- wat is de opbrengst? Voldoet het aan de eisen?
 - μg DNA/ ml bloed; kwaliteit
- downstream gebruik van het DNA
- gebruiksvriendelijkheid



Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek

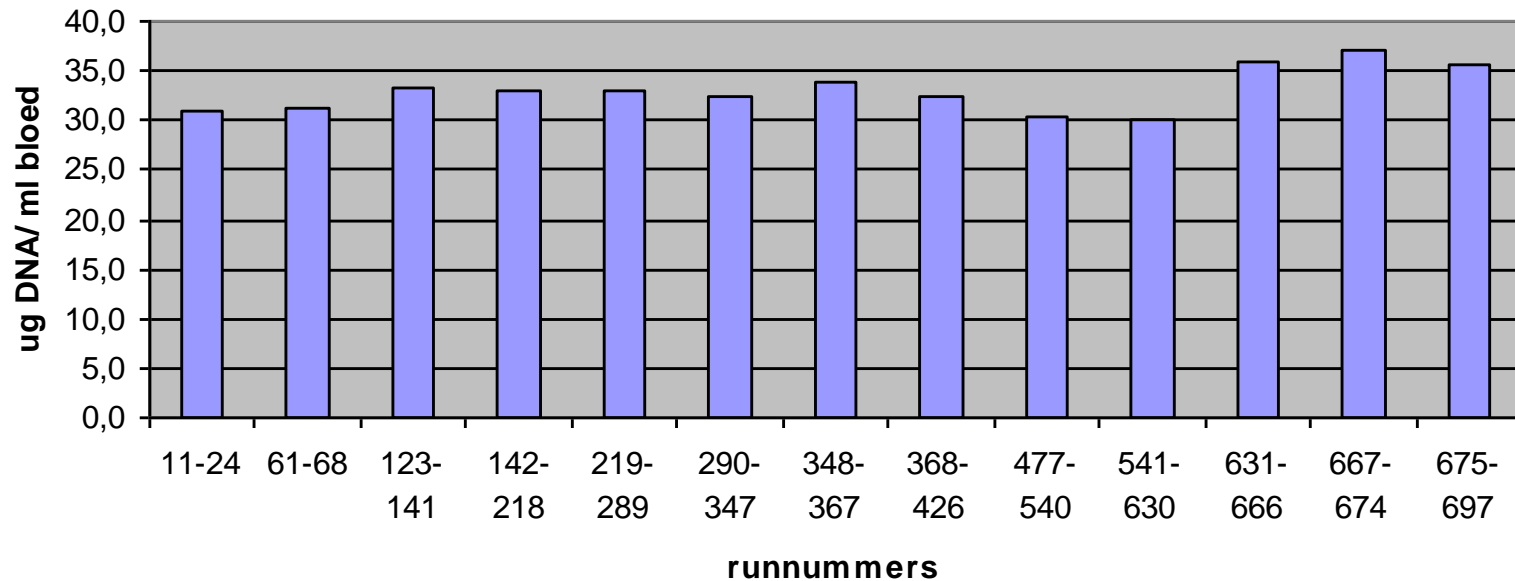


Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek



Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek

opbrengst/ ml bloed
ug DNA/ ml bloed



Geautomatiseerde DNA isolatie in de Genoomdiagnostiek

Combinatie Hamilton Starplus en Promega HSM/ Reliaprep systeem

- de hele DNA-isolatie vindt plaats in 1 50 ml buis
- monster en DNA gekoppeld door barcodes
- na de start geen “hands-on” tijd
- geen systeemvloeistof
- geen verplaatsingen over het deck
- relatief klein oppervlak
- hoge opbrengst en goede kwaliteit DNA

Dit systeem voldoet aan de door ons gestelde eisen

