

传染病核酸检测自动化 平台的选择

方兴旺 博士

亚太区业商务发展资深经理

美国应用生物系统公司分子检测应用部

2009-10-15, 青岛



人畜共患病导致新发传染病；病原体检测需求不断增长



为什么要做传染病核酸检测自动化？

目的

- 结果可靠
- 及时完成任务
- 应对突发事件
- 安全
- 降低成本

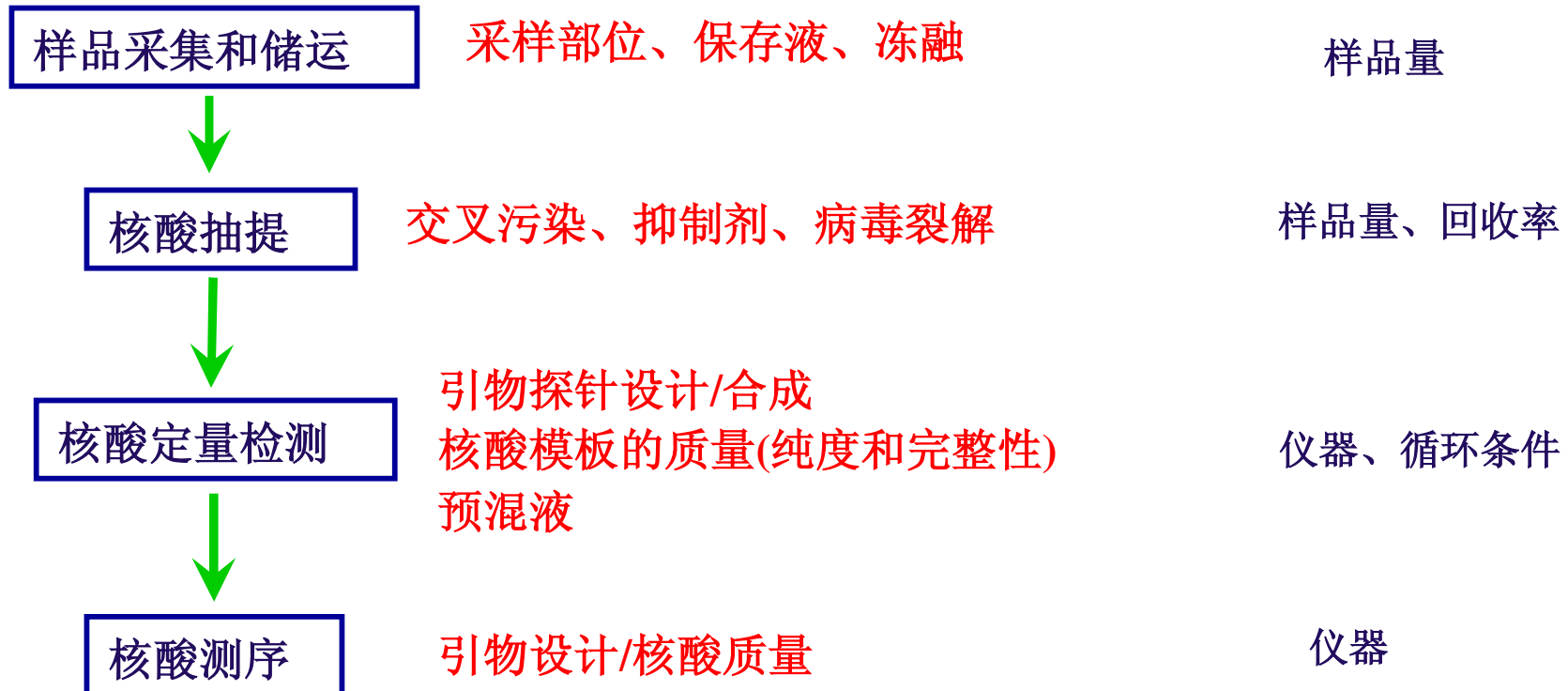
主要考虑因素

- 重复性、交叉污染的控制
- 仪器稳定、操作简便、维护容易
- 快速、容易扩容、便于推广
- 自动化程度高
- 开放平台

病原体核酸检测与鉴定 – 实验流程及主要影响因素

导致巨大差别的因素

导致一般差别的因素



影响实验结果准确性的主要因素：核酸抽提；PCR反应设置(交叉污染)

影响实验完成速度的主要因素：样品规范、核酸抽提

最有必要自动化的步骤：核酸抽提

平台的选择与构建决定检测能力与容量

2003年 >400 样品/人/天



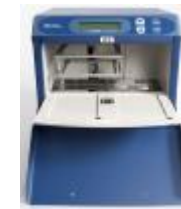
2007年 >1000 样品/人/天



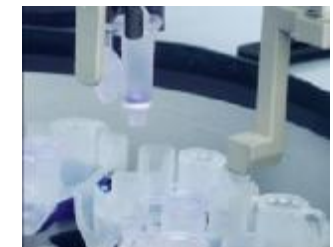
2009年 ?? 样品/人/天

24 样品/12 分钟

96 样品/15 分钟



12 样品/40 分钟



part of *life* technologies

ABI甲型H1N1流感监测系统方案



核酸抽提自动化的优越性:

- 1) 操作简单
- 2) 结果可靠
- 3) 快速
- 4) 处理大量样品



耐药分析



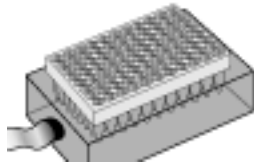
测序



核酸抽提技术

有机萃取分离
Tri Reagents

自动化
高通量



滤膜分离
RNAqueous

固相分离



磁珠分离
MagMAX

MagMAX的主要优势

- 无滤膜或枪头堵塞之忧；无交叉污染
- 小体积洗脱，核酸更为浓缩
- 很容易自动化
- 大量成功经验，已成为许多国家机构的首选

滤膜法核酸抽提常见液体工作站

“大型”
工作站



主要问题: 交叉污染; 滤膜堵塞、真空问题

Bench
Top



主要问题: 专用试剂、每批处理样品量少、慢

磁珠法核酸抽提常见自动化平台

工欲善其事
必先利其器

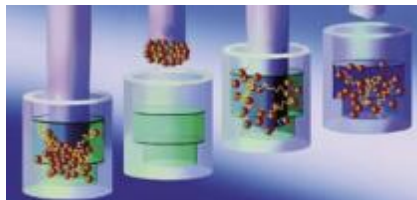
只移动液体



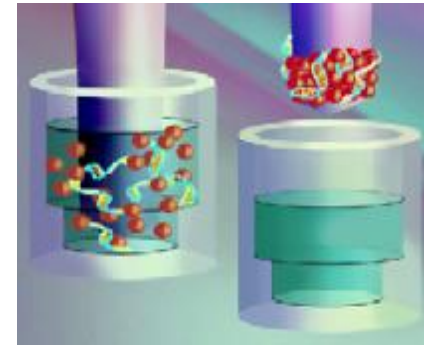
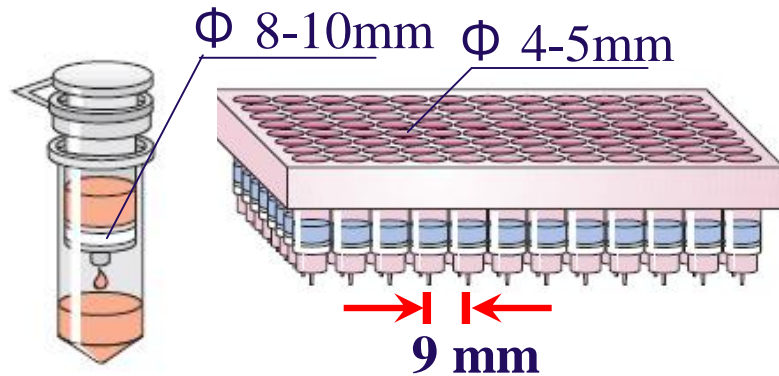
移动液体和磁珠



只移动磁珠



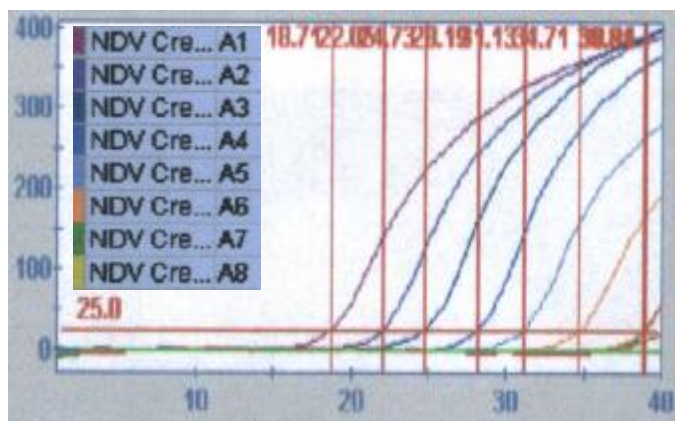
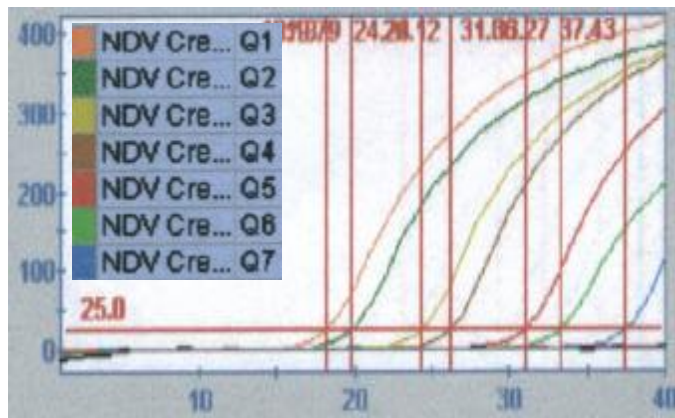
为什么滤膜法正逐渐被磁珠法取代？



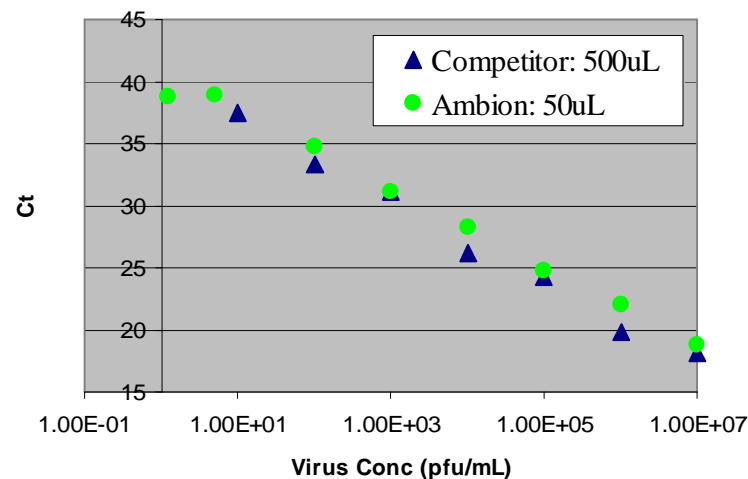
- **滤膜固定**
核酸/抑制剂**被动**结合/洗脱
抑制剂难以去除干净；
回收率、重复性稍差
- **磁珠分散于溶液中**
核酸/抑制剂**主动**结合/洗脱
抑制剂去除彻底；
回收率稍高、重复性更好
- **固体污染物残留滤膜上**
- **固体污染物被清除**
- **难以自动化**
膜堵塞、交叉污染、真空
- **很容易自动化**

美国农业部国家兽医服务中心评估结果 – 标准品

NDV in VTM, 10x serial dilution

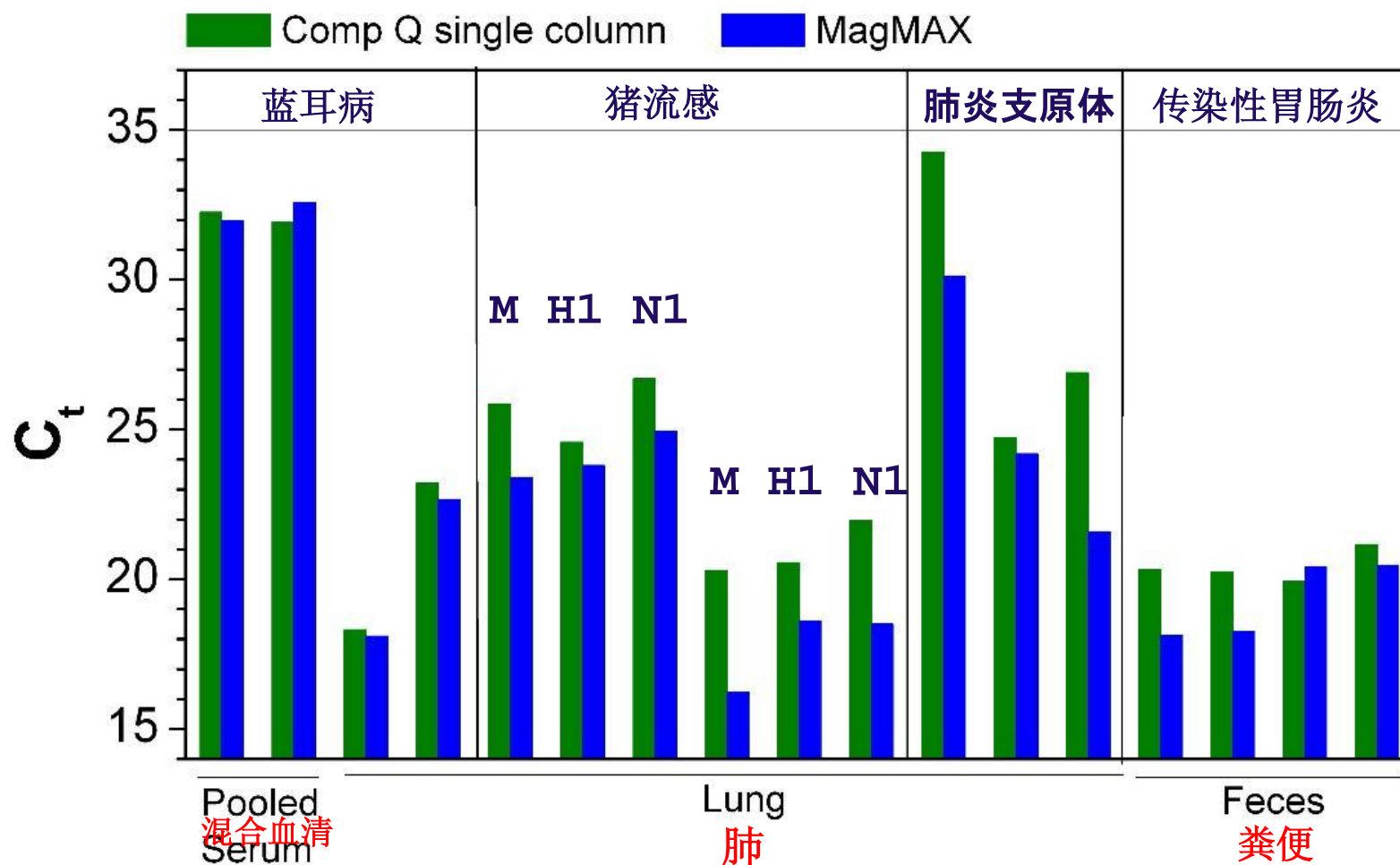


	Qiagen RNeasy	MagMAX
Input	500ul	50ul
Elution	50ul	50ul



1/10的样品量，同样的检测灵敏度，更好的重复性

Iowa州立大学兽医诊断中心评估结果



用更少的样品量，得到更高的灵敏度

磁珠法核酸抽提常见自动化平台

工欲善其事
必先利其器

只移动液体



优势：试剂开放、自动化程度高

缺点：专业编程、专业维护

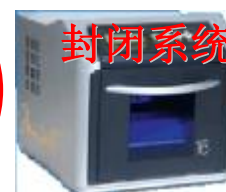
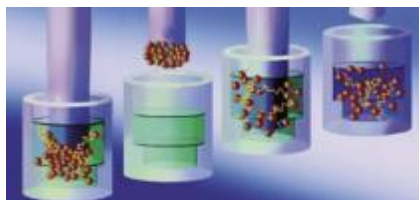
移动液体和磁珠



优势：自动化程度高

缺点：专用试剂、专业编程、专业维护

只移动磁珠



优势：试剂开放、编程简单、容易维护

缺点：手工加试剂



Canadian Pandemic Preparedness Meeting: H1N1 Outbreak Research Response



July 8, 2009

Tang, Patrick

Medical Microbiologist

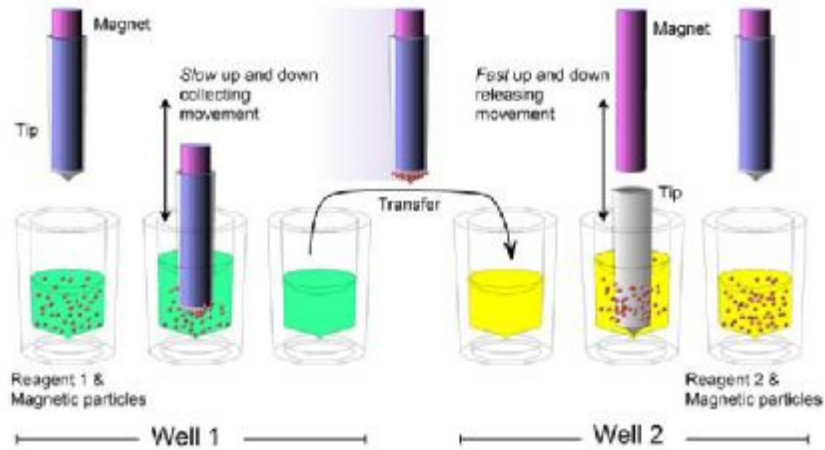
BC Centre for Disease Control

Results: The RNA extraction efficiency of the ABI MagMAX Express was equivalent to the BioMerieux EasyMAG for the detection of influenza A by RT-PCR. However, the ABI MagMax Express had higher sample throughput, lower cost per sample and easier integration with downstream 96-well PCR systems.

MME的优势:

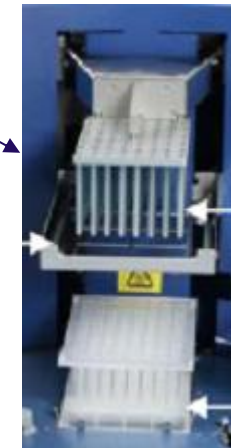
- 结果可靠
- 能处理更多样品
- 可与下游96孔PCR无缝对接
- 成本更低

MME工作原理



New Step Plate Editor

- Collect Beads
- Bind
- Wash
- Mix
- Dry
- Elution
- Pause



MME-24的安装与使用



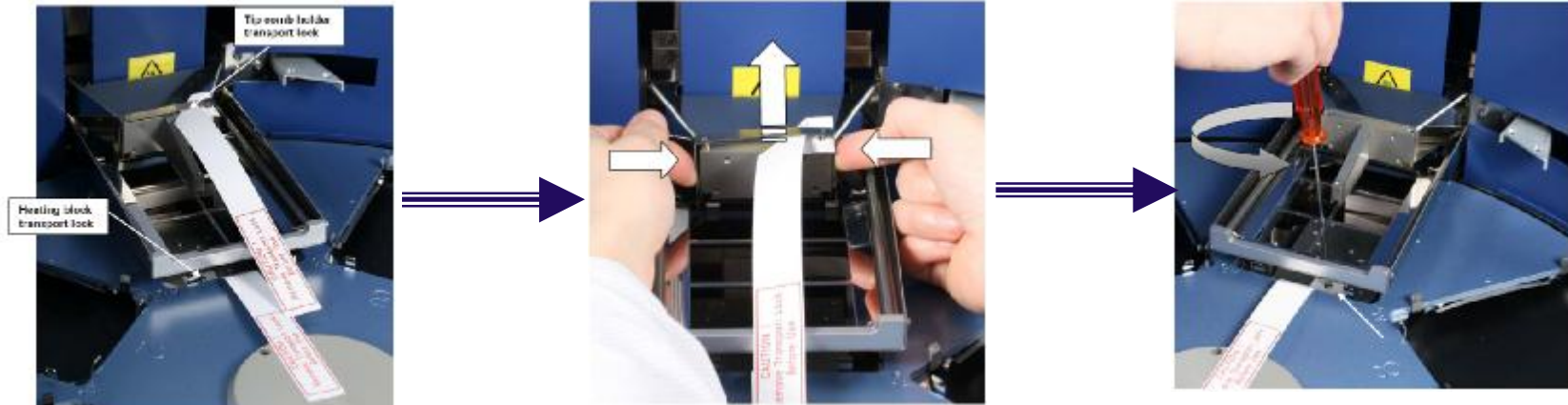
取掉磁头固定螺钉、接通电源



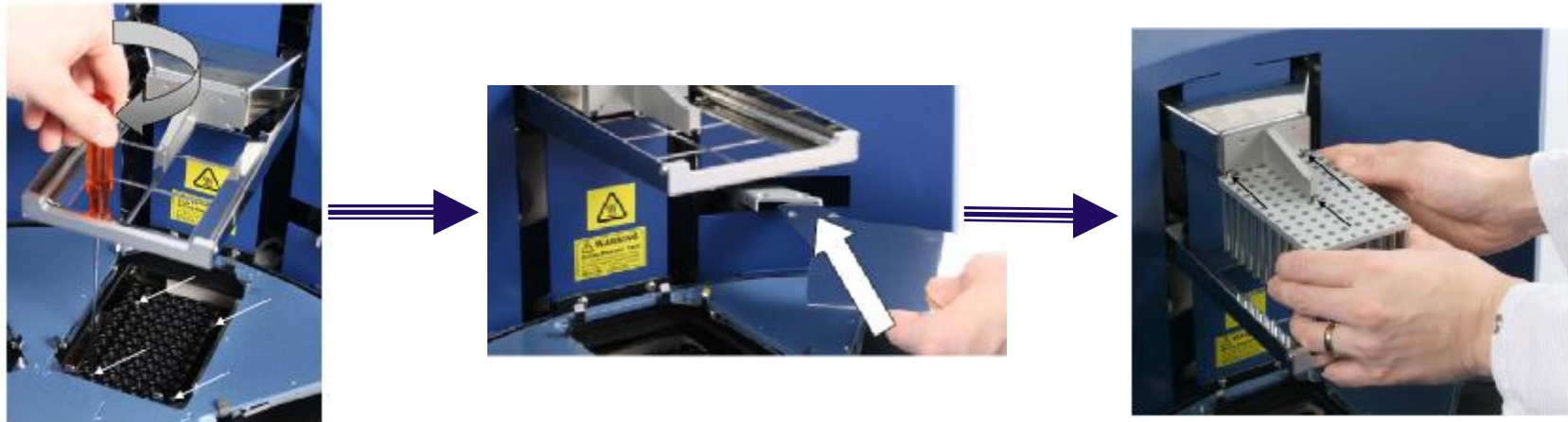
- 样品板中加入试剂、样品
- 插入样品板和磁头套
- 运行程序，12分钟完成

Fig. 6.2 Loading the plate carrier

MME-96的安装



取掉磁头套固定卡、加热板底座固定螺钉



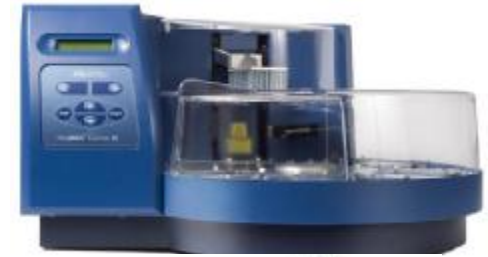
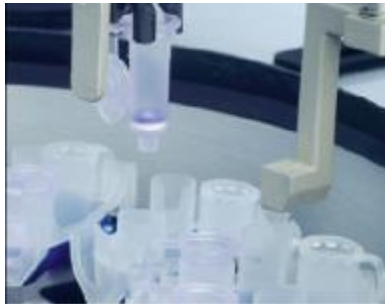
安装加热板、防污挡板、磁头

MME-96的使用



- 样品板中加入试剂、样品
- 插入样品板和磁头套
- 运行程序，15分钟完成

MagMAX Express 磁珠处理仪和QIAcube的比较-工作原理



- 专业试剂
- 需要手工加样品
- 需要手工插入离心管、滤膜柱、枪头
- 专业编程
- 专业维护

- 试剂开放
- 需要手工加样品和试剂
- 编程简单
- 维护容易



危机是挑战，更是机遇

ABI为您提供准确、快速、可靠的手段和工具



谢谢大家!!!