



# PyroMark® Q24 MDx

Ref. 9001670



## Descripción general

El sistema **PyroMark Q24 MDx** es un equipo integrado que utiliza la tecnología de la pirosecuenciación (Pyrosequencing®) para obtener datos de secuencia, cuantitativos y a tiempo real en estudios de análisis genéticos y de metilación del DNA. Permite el estudio genético de 24 muestras en tan solo 30 minutos. Permite analizar en la misma carrera, y de forma automática, distintos ensayos: mutaciones, metilación, secuenciación *de novo*. El instrumento se complementa con la PyroMark Q24 MDx Vacuum Workstation, para la preparación de DNA de cadena sencilla, así como con el PyroMark Q24 software v2.0, para la puesta en marcha de la reacción de pirosecuenciación y el análisis de los resultados.

## Principio de la pirosecuenciación

La tecnología de la secuenciación se basa en el principio de la “*secuenciación por síntesis*”. La región del DNA genómico objeto de estudio es amplificada mediante PCR utilizando una pareja de primers, uno de los cuales está biotinilado.



Este producto de PCR es incubado con Sepharose-streptavidina y posteriormente retenido específicamente mediante el uso del accesorio de preparación de muestras del *PyroMark Q24 Vacuum Workstation* por medio de vacío. Finalmente es sometido a sucesivos pasos de desnaturalización, lavados y neutralización, con el fin de obtener DNA de cadena sencilla, que servirá de molde para la reacción de secuenciación.

La cadena sencilla de DNA obtenida en los pasos anteriores es incubada con el primer de secuenciación en presencia de un tampón especial, e introducida en el **PyroMark Q24 MDx** para iniciar la reacción de pirosecuenciación.

El pirosecuenciador inyecta a cada muestra un solo nucleótido en cada paso, según un orden preestablecidos de dispensación, produciéndose en ella una cascada de reacciones enzimáticas que concluyen, solo en caso de producirse la incorporación del deoxinucleótido dispensado, en emisión de luz.

Esta emisión es proporcional al número de nucleótidos incorporados en cada fase de inyección, de forma que no solo se obtiene información de la identidad de la base incorporada, y por lo tanto de la secuencia, sino de la cantidad de ellas que lo han hecho. Secuencialmente, el sistema inyecta un segundo deoxinucleótido, repitiéndose el ciclo, y así sucesivamente hasta el final de la lista de inyección establecida inicialmente en el diseño del experimento.

## Aplicaciones

La pirosecuenciación es una tecnología versátil que permite ser utilizada en un amplio espectro de aplicaciones. El sistema **PyroMark Q24 MDx**, trabaja bajo las instrucciones del programa de análisis **PyroMark Q24 software v2.0**.

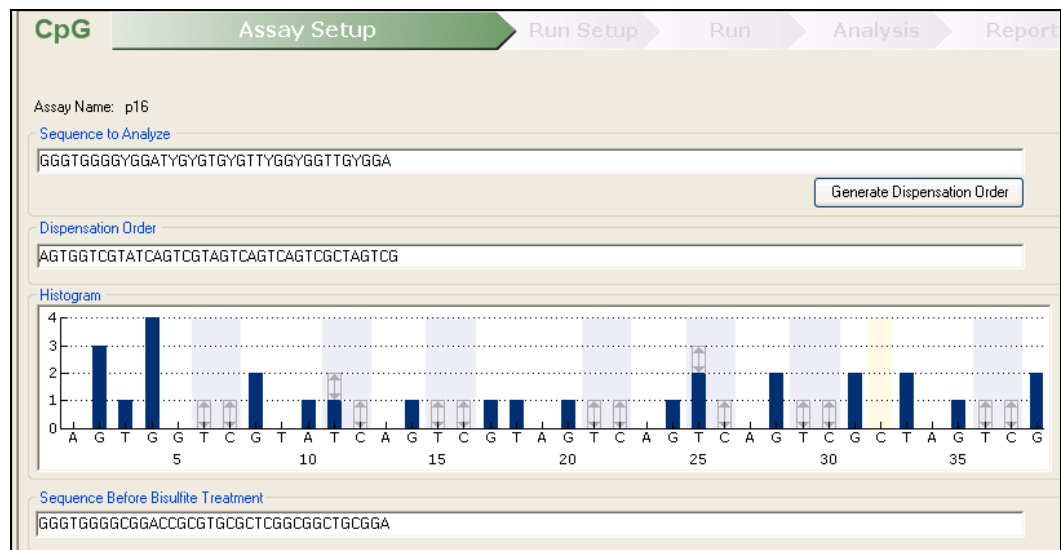
Este software dispone de 3 modos de uso (CpG, AQ y SQA) y permite preparar, realizar y analizar ensayos de:

1. Genotipado (SNPs, mutaciones)
2. Detección de inserciones/delecciones
3. Cuantificación alélica.
4. Cuantificación de frecuencias de metilación de regiones CpG.
5. Secuenciación “de novo”, con asignación automática de bases.

El sistema permite realizar diferentes tipos de ensayos en la misma placa de muestras simultáneamente, con el consiguiente ahorro de tiempo.

El diseño del trabajo o trabajos a realizar en la placa de 24 posicioness se programa en el software de aplicación incluido.

El software, con la información de secuencia introducida por el usuario, y el orden de dispensación de nucleótidos (introducidos manual o automáticamente) genera un resultado teórico esperado, en forma de diagrama de barras.



El software permite introducir controles de inyección, y de secuencia, tanto en experimentos de análisis de mutaciones como de estudios de metilación, para controlar la calidad de los resultados; y puede presentar alertas o mensajes de atención, ante posibles errores en el planteamiento o diseño de un ensayo por parte del usuario con el fin de poder corregirlos antes del comienzo de la reacción.

El archivo con las instrucciones para el ensayo es transferido al PyroMark Q24 MDx utilizando una “memoria USB” que se introduce en un puerto USB (v2.0) que dispone el instrumento para tal efecto. El siguiente paso es ordenar al instrumento el inicio de las reacciones.

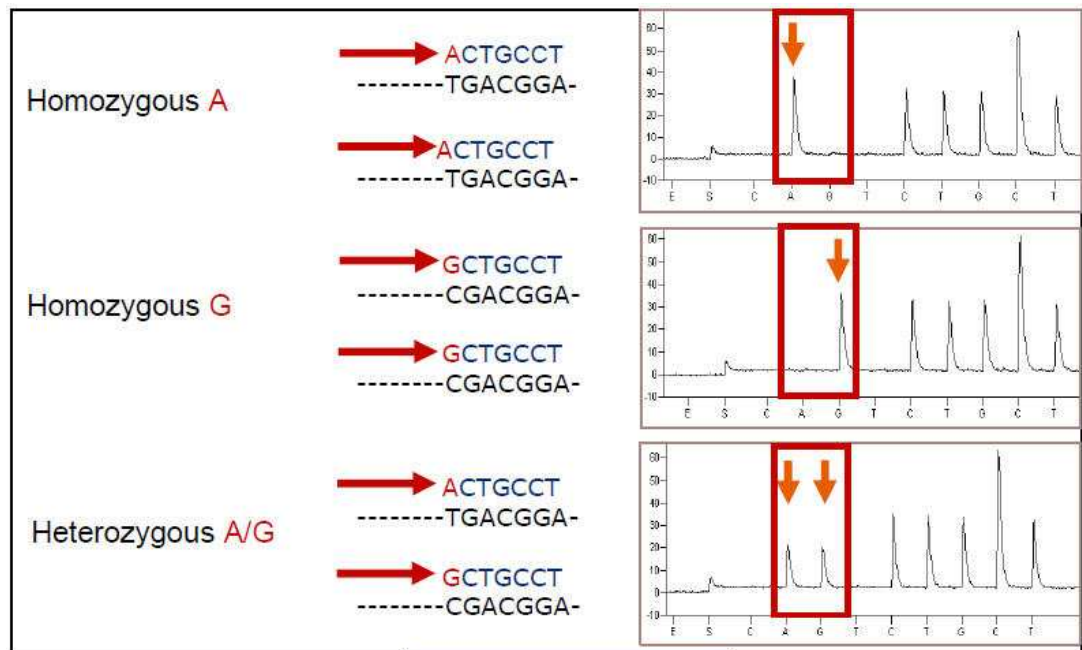
Una vez finalizadas estas, los resultados son descargados de nuevo en la *memoria USB*, para su transferencia nuevamente al PC donde está instalado el software para su análisis.

Una vez analizados los resultados de cada una de las muestras, y presentados como

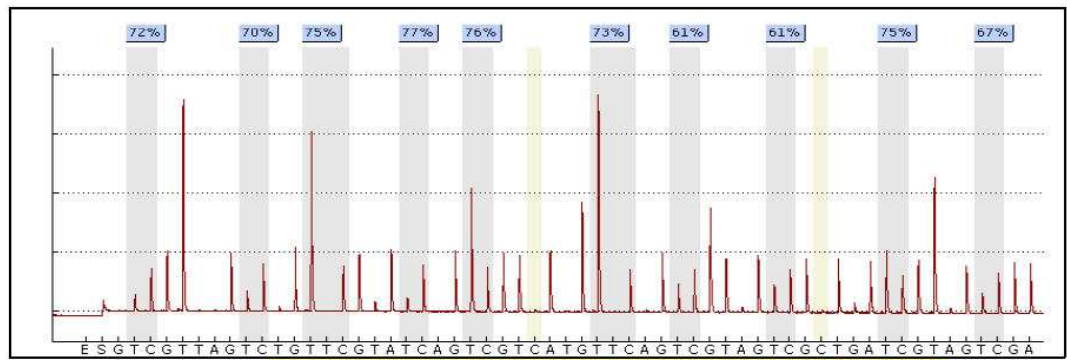
secuencias de picos (“pirograma” o Pyrogram®), el software puede superponerlos al histograma esperado, muestra a muestra, permitiendo una comprobación visual muy sencilla de los resultados.

El software emite automáticamente asigna niveles de calidad del resultado para cada muestra, e incluso regiones de diferente calidad dentro de la secuencia de una misma muestra.

Finalmente, el usuario puede obtener diferentes tipos de informes, para todas o para un grupo de muestras seleccionadas (análisis estadístico, informe del análisis, informe con “pirograma”, o informe completo) y exportarlo en formato Excel o formato texto.



**Análisis SNPs**



**Estudios de niveles de metilación CpG**

Todos estos estudios y la calidad de los resultados son también posibles gracias a un especial cuidado en el diseño y controles de calidad de consumibles, kits y reactivos específicos para este instrumento y sus aplicaciones.

**Especificaciones técnicas****Instrumento PyroMark Q24 MDx**

<i>Capacidad</i>	1 – 24 muestras/carrera
<i>Formato muestras</i>	Placa de 24 pocillos especial ( <i>PyroMark Q24 plate</i> )
<i>Conexiones</i>	Un puerto USB (2.0)
<i>Dimensiones</i>	42 cm.(alto) x 39 cm. (ancho) x 52,5 cm. (fondo)
<i>Peso neto</i>	27,5 Kg.
<i>Requerimientos eléctricos</i>	100 – 240 V AC; 47-6360 Hz., 800 VA
<i>Temperatura ambiental</i>	15 – 32 °C
<i>Humedad ambiental</i>	20 - 90 %
<i>Temperatura de trabajo</i>	28 °C
<i>Tiempo de procesamiento</i>	Depende del número de dispensaciones (20 dispensaciones a 24 muestras, en 24 minutos)

De forma accesoria, y para la preparación de muestras para su procesamiento en el PyroMark Q24 MDx, se requiere la estación por vacío PyroMark Q24 MDx Vacuum Workstation (*ref. QIAGEN: 9001515*)

<i>Dimensiones</i>	6,8 cm.(alto) x 27 cm. (ancho) x 35 cm. (fondo)
<i>Peso</i>	2,1 Kg.
<i>Tiempo de procesamiento</i>	Aproximadamente 13 minutos para 24 muestras, en paralelo.