RISE

Infrastruttura Strategica della Ricerca

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BARI ALDO MORO

Droplet Digital PCR System (BIO-RAD QX200)



Per informazioni rivolgersi al responsabile scientifico:

Prof. Domenico Otranto

domenico.otranto@uniba.it

Polo Agraria Veterinaria

Dipartimento di Medicina Veterinaria (DiMeV)

Valenzano (BA), 70010

ENG: Within the framework of the National Recovery and Resilience Plan (PNRR), the Department of Veterinary Medicine (DiMeV) of the University of Bari Aldo Moro contributes to the INF-ACT extended partnership (PE00000007), dedicated to emerging infectious diseases through an integrated One Health approach. DiMeV contributes particularly to Research Node 2, 'Arthropod Vectors and Vector-Borne Pathogens', which aims to deepen knowledge of vector bionomics and vector-host-pathogen interactions and to develop innovative approaches for surveillance and eco-friendly vector control.

What is this technique?

The QX200 Droplet Digital PCR System is a PCR platform designed for the absolute quantification of DNA or RNA molecules. The QX200 technology provides high sensitivity and precision and is suitable for a wide range of molecular biology applications. The system supports assays based on TaqMan probes and intercalating dyes such as EvaGreen.

How it works?

The workflow is simple and allows up to 96 samples to be processed simultaneously.
Partitioning the reaction mixture into thousands of droplets using Droplet Digital PCR technology reduces the impact of amplification efficiency and PCR inhibitors on the final quantification. It also enables absolute quantification without the need for standard curves.
The QX200 Droplet Digital PCR System consists of two main instruments: the QX200 Droplet Generator and the QX200 Droplet Reader.
The QX200 Droplet Generator partitions the ddPCR reaction mixture into thousands of nanoliter-sized droplets. Following PCR amplification in a thermal cycler, the droplets from each sample are transferred to the QX200 Droplet Reader for subsequent analysis.
The Droplet Reader analyzes the droplets individually as they sequentially pass through a two-color optical detection system. The analysis identifies and counts ddPCR-positive and ddPCR-negative droplets. The ratio between these populations is used to determine the absolute quantity of target DNA or RNA present in the sample.
Following PCR amplification, the amplified products can also be recovered from the droplets and used for downstream applications. This allows the recovered material to be further analyzed in applications such as sequencing or cloning.

ITA: Nell'ambito del Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza (PNRR), il Dipartimento di Medicina Veterinaria (DiMeV) dell'Università degli Studi di Bari Aldo Moro partecipa al partenariato esteso INF-ACT (PE00000007), dedicato alle malattie infettive emergenti secondo un approccio integrato One Health. Il DiMeV contribuisce in particolare al Research Node 2, 'Arthropod Vectors and Vector-Borne Pathogens', finalizzato ad approfondire la conoscenza della bionomia dei vettori e delle interazioni vettore-ospite-patogeno, nonché a sviluppare approcci innovativi per la sorveglianza e il controllo eco-sostenibile dei vettori.

Cos'è questa tecnica?

Il sistema QX200 Droplet Digital PCR è una piattaforma di PCR progettata per la quantificazione assoluta di molecole di DNA o RNA.
La tecnologia QX200 offre elevata sensibilità e precisione ed è adatta a un'ampia varietà di applicazioni di biologia molecolare e permette di effettuare saggi con sonde TaqMan ed intercalanti, quali l'EvaGreen.

Come funziona?

Il workflow è semplice e consente di processare fino a 96 campioni contemporaneamente.
La suddivisione della miscela di reazione in migliaia di goccioline mediante la tecnologia Droplet Digital PCR riduce l'influenza dell'efficienza di amplificazione e degli inibitori della PCR sulla quantificazione finale e permette inoltre di ottenere una quantificazione assoluta senza la necessità di utilizzare rette di taratura.

Il QX200 Droplet Digital PCR System è composto da due strumenti principali: il QX200 Droplet Generator e il QX200 Droplet Reader.
Il QX200 Droplet Generator suddivide la miscela di reazione ddPCR in migliaia di goccioline di dimensioni nanolitriche. Dopo l'amplificazione mediante PCR in un termociclatore, le goccioline di ogni campione vengono trasferite al QX200 Droplet Reader per la successiva analisi.
Il Droplet Reader analizza le goccioline singolarmente mentre attraversano in sequenza il sistema ottico di rilevazione a due colori. L'analisi permette di identificare e contare le goccioline positive e negative alla ddPCR. Il rapporto tra queste popolazioni viene utilizzato per determinare la quantità assoluta di DNA o RNA target presente nel campione.
Dopo la PCR, i prodotti amplificati possono inoltre essere recuperati dalle goccioline e utilizzati per applicazioni successive. Questa possibilità permette di impiegare il materiale ottenuto per ulteriori analisi, come quali sequenziamento o il clonaggio.

References

Latrofa MS, Cafferati-Beltrame L, D'Addabbo P, Cereda M, Louzada-Flores VN, Boccazzi IV, Epis S, Mendoza-Roldan JA, Otranto D. Performance assessment of a duplex quantitative PCR assay for detecting *Leishmania infantum* and *Leishmania tarentolae* using three qPCR devices. Microbiol Spectr. 2026 Jul 7;14(7):e0385425. doi: 10.1128/spectrum.03854-25.