

# TETHIS

*Nanotecnologie in ambito diagnostico:  
Dalla ricerca al lancio sul mercato di un  
prodotto per citogenetica e biologia molecolare*

Massimo Gatelli - General Manager

**Tethis SpA**  
[www.tethis-lab.com](http://www.tethis-lab.com)

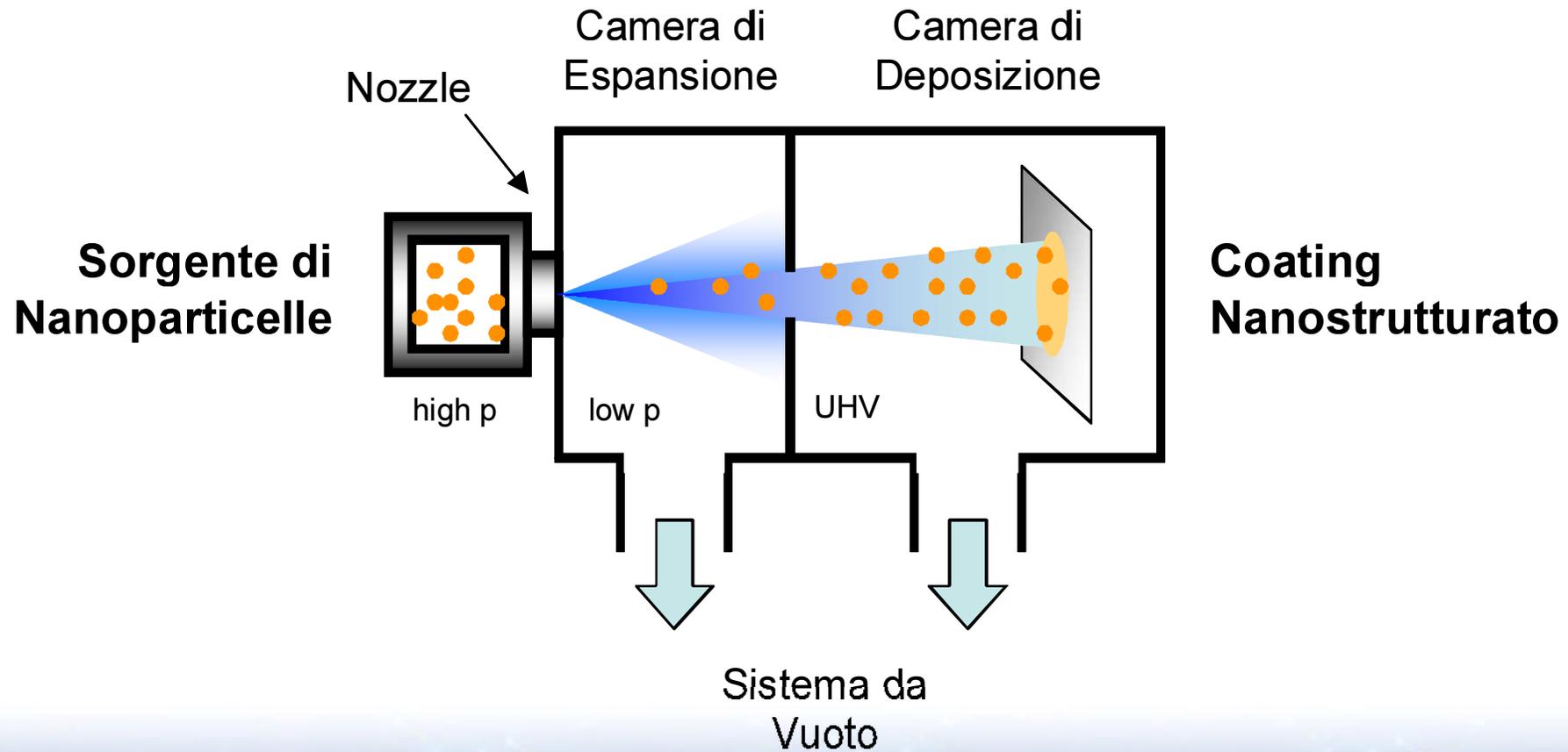
Milano, 14 Novembre 2011



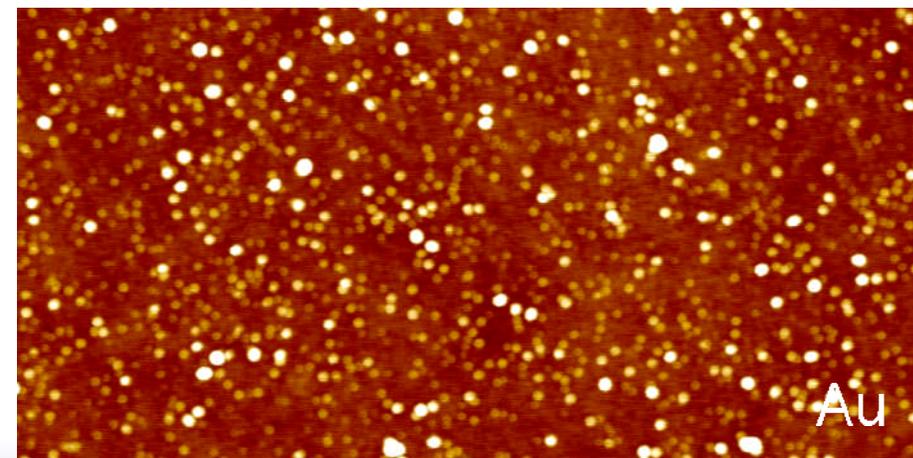
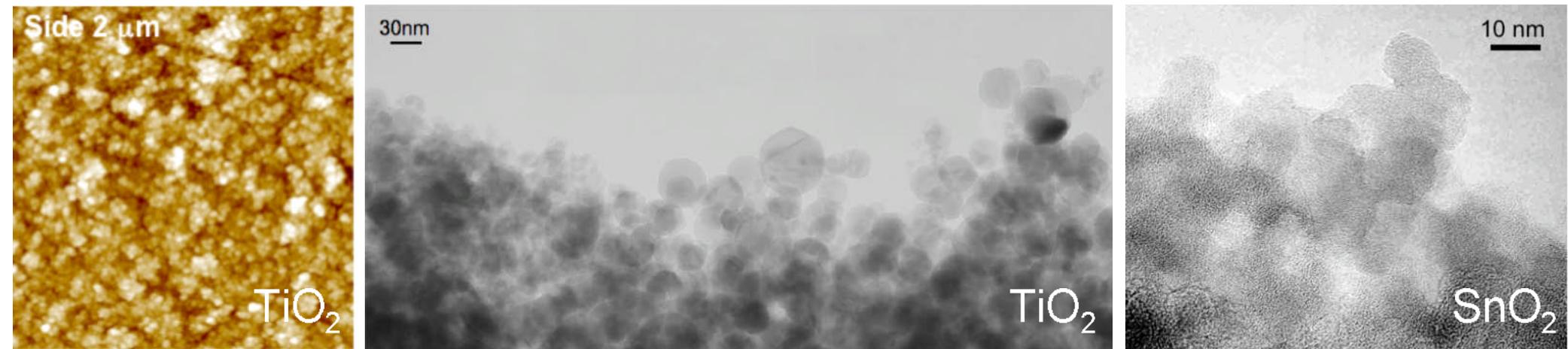
- Nanotechnology@Tethis: produzione di nanomateriali
- Applicazioni dei materiali Tethis nell'ambito delle biotecnologie
- Approccio Tethis alla microfluidica
- microFIND per il protocollo FISH



# Nanoparticle Beam Deposition



# Nanomateriali Tethis



- Ossidi, Metalli Nobili, Carbonio, Nanocompositi
- Dimensioni delle nanoparticelle  $\leq 10$  nm
- Alta porosità su scale nanometriche
- Grande area superficiale
- Caratteristiche omogenee tra i differenti materiali

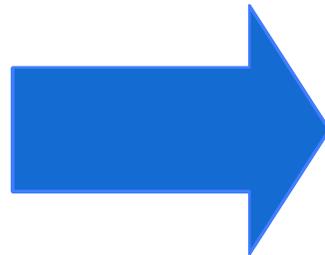
# Tethis know-how

## Caratteristiche principali dei nanocoating Tethis

- Bio-compatibilità
- Bio-affinità
- Incremento dell'adesione di biomolecole
- Trasparenza
- Nessun background autofluorescente
- Facilità di integrazione in dispositivi microfluidici e/o microlavorati

## Interazioni specifiche con differenti entità biologiche

- Cellule
- Proteine
- Anticorpi
- DNA
- Virus
- Batteri
- Peptidi
- CTC



Sviluppo di nuovi metodi, dispositivi Diagnostici e tecnologie attraverso:

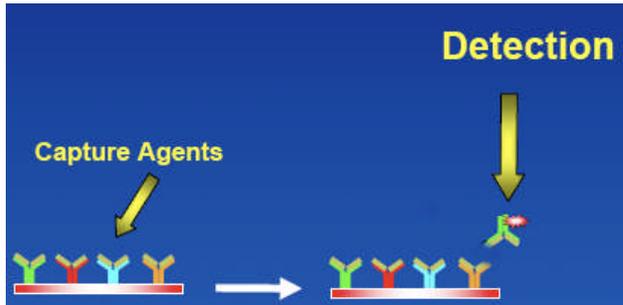
**MINIATURIZZAZIONE**  
e  
**AUTOMAZIONE**

*Carbone R., et al. Methods Mol Biol. 2009;*  
*Carbone R., et al. Anal Biochem. 2009;*

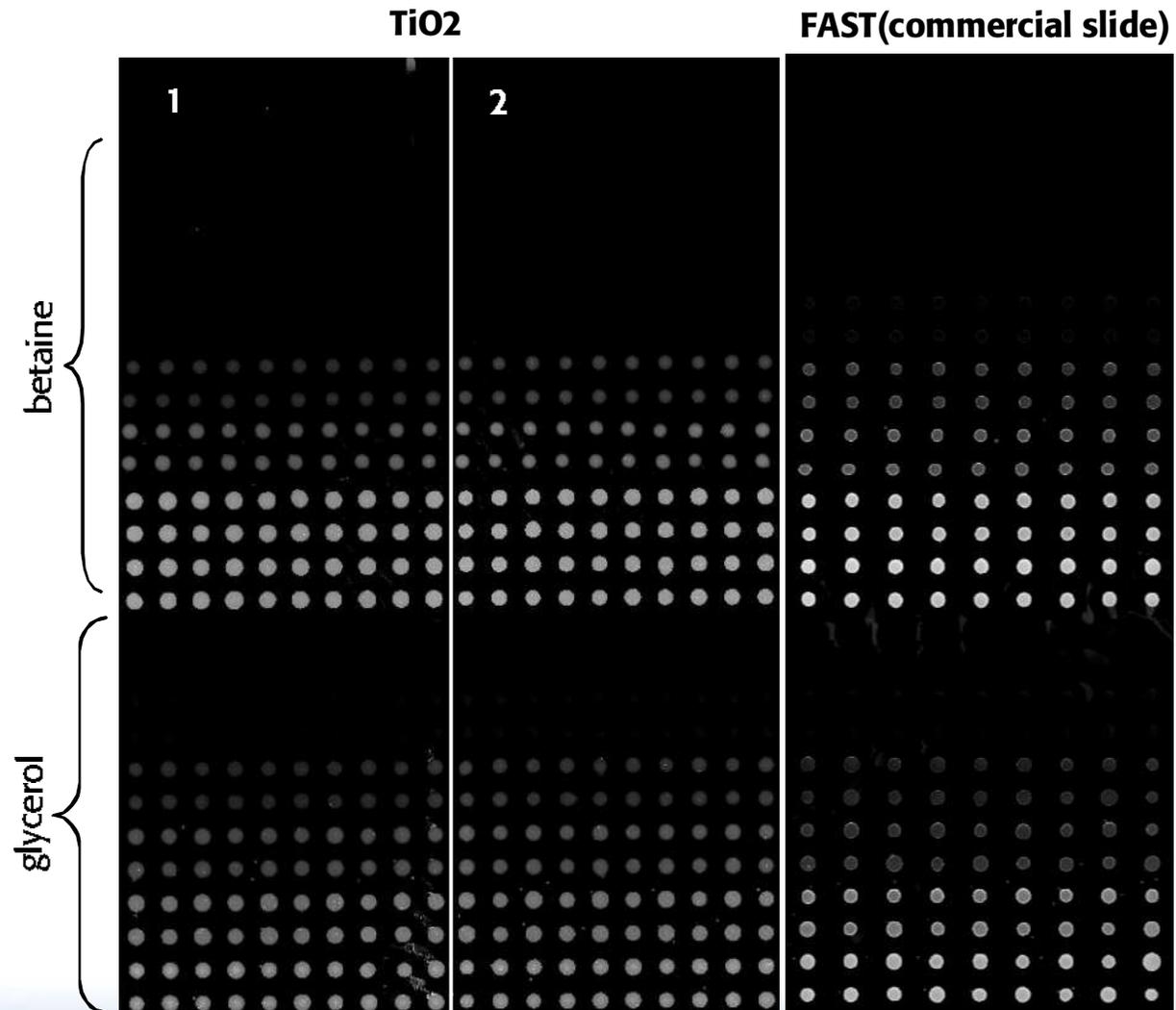
*Giorgetti L., et al. Langmuir. 2008;*  
*Carbone R., et al. Biomaterials. 2007;*  
*Carbone R., et al. Biomaterials. 2006;*

# Array di Proteine

## Esperimento



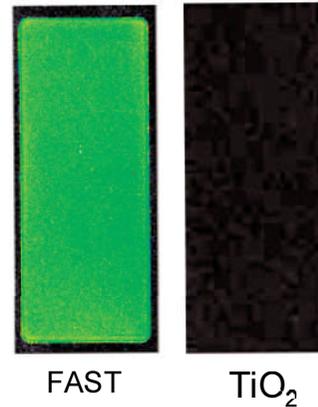
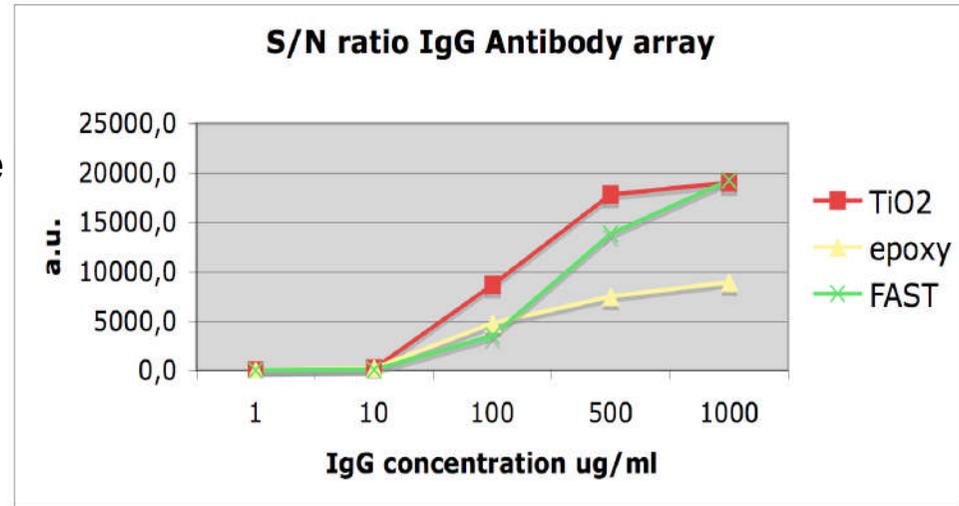
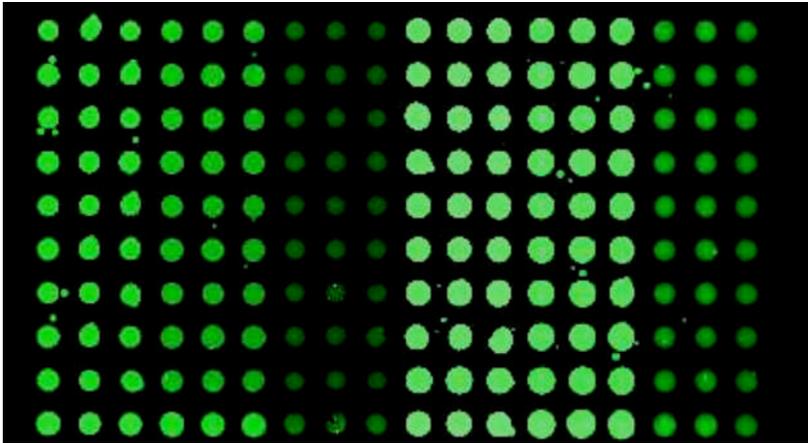
- spotting di differenti concentrazioni di IgG di topo(0-1mg/ml) in differenti buffer
- incubazione
- blocking
- immunodetection con anti IgG-Cy3
- incubazione
- lavaggi
- analisi



# Adesione di Proteine alla superficie

In confronto ai substrati utilizzati comunemente (Epoxy, NC) il **nanocoating** mostra:

- background auto-fluorescente molto basso
- buon assorbimento di proteine
- grande S/N ratio

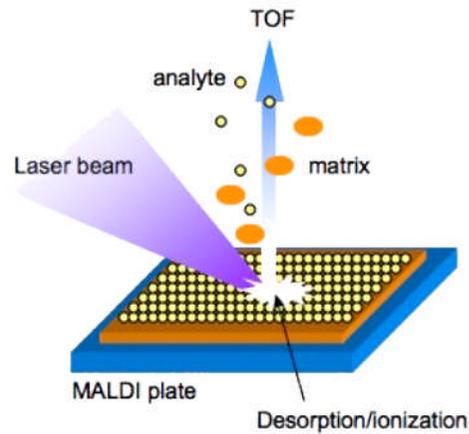


Scansione in fluorescenza di slides per valutazione del background auto-fluorescente

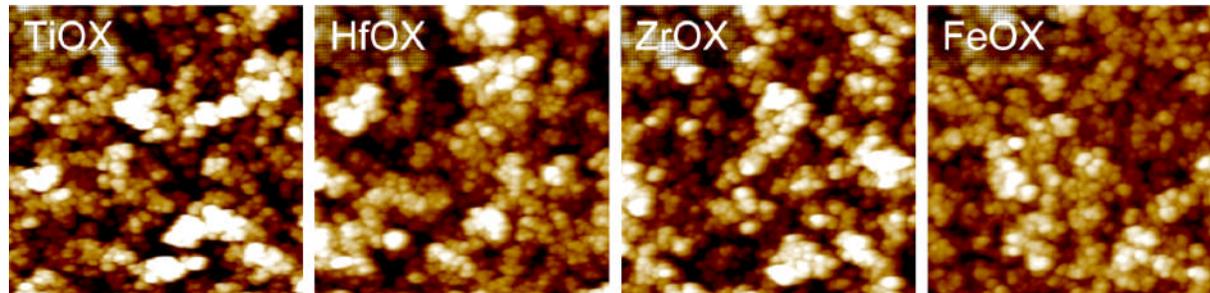
Adatto per:

- applicazioni con microarray di Proteine
- Coating per *immunodetection* su biochip miniaturizzati e biosensori



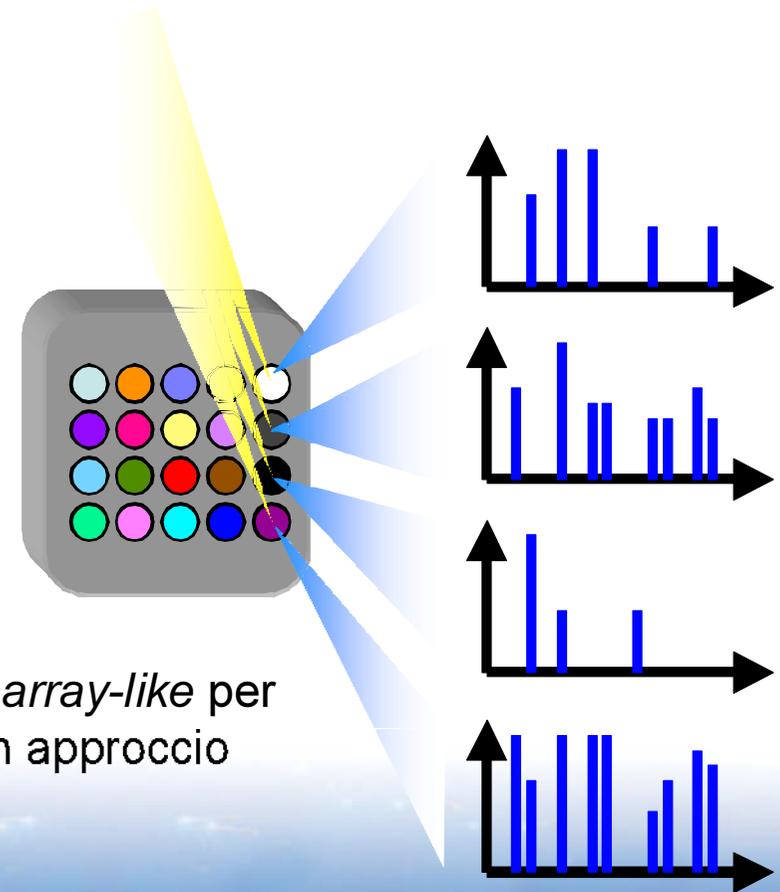


MALDI-TOF: Metodo particolarmente indicato per la ionizzazione di biomolecole



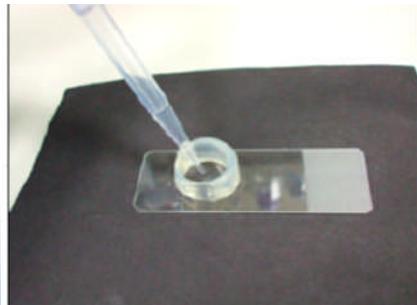
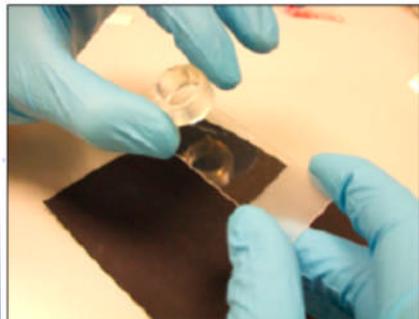
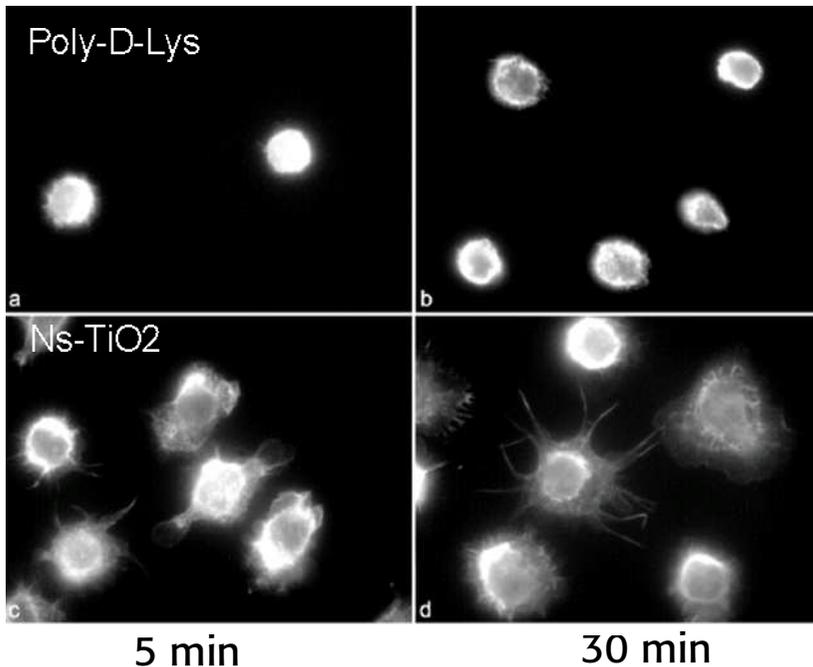
Possibilità di avere estese librerie di ossidi con affinità differenti per diverse molecole

Possibilità di sviluppare piastre per MALDI-TOF *array-like* per l'investigazione di campioni complessi tramite un approccio combinatoriale *high-throughput*



# Adesione di cellule ematopoietiche su ns-TiO<sub>2</sub>

## Analisi Immunofluorescente del citoscheletro (phalloidin-Alexa488)

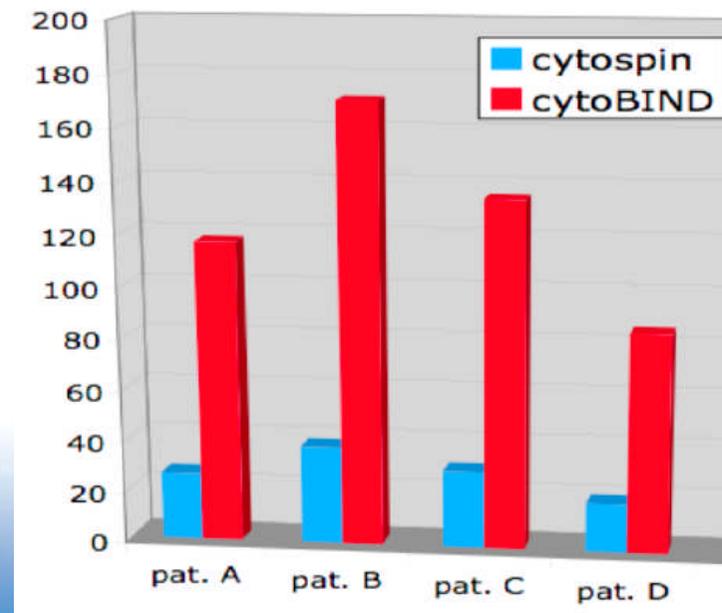


## Piattaforma cytoBIND™

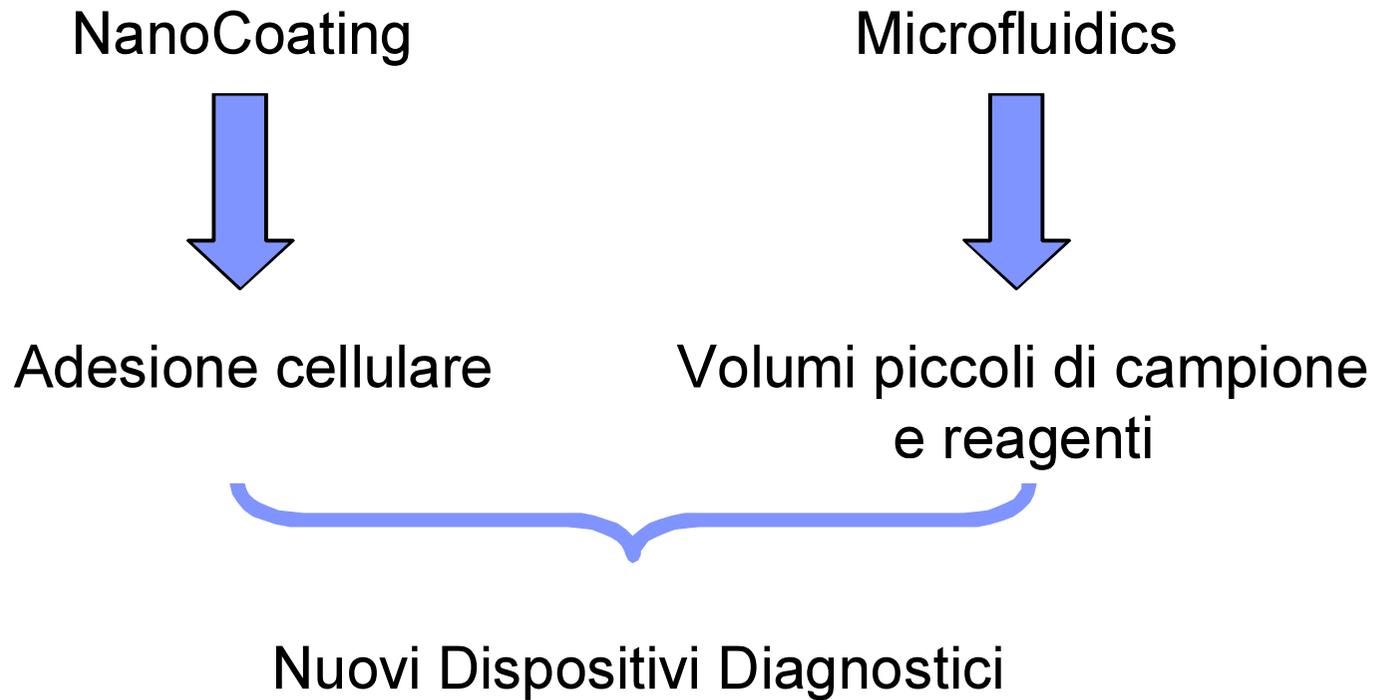
Adatto per aderire campioni a scarsa cellularità (ad esempio il fluido cerebrospinale)

Nanocoating come alternativa alla centrifuga Cytospin:

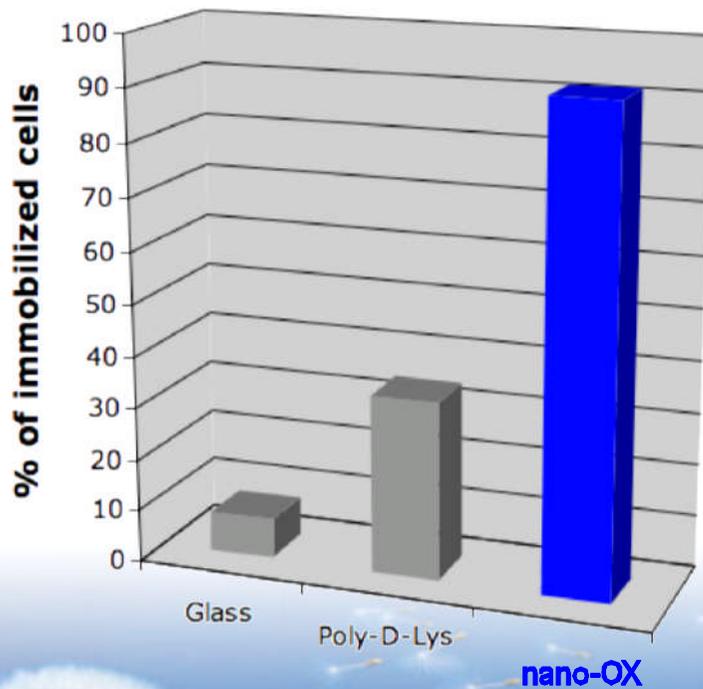
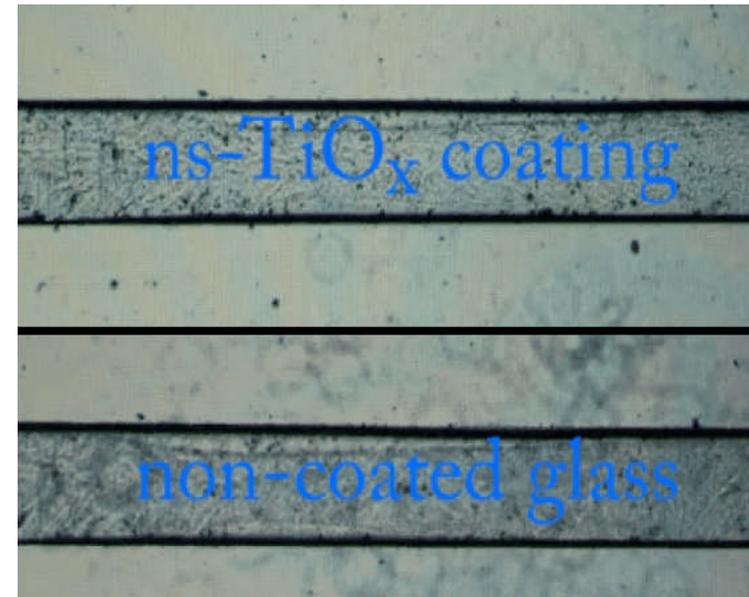
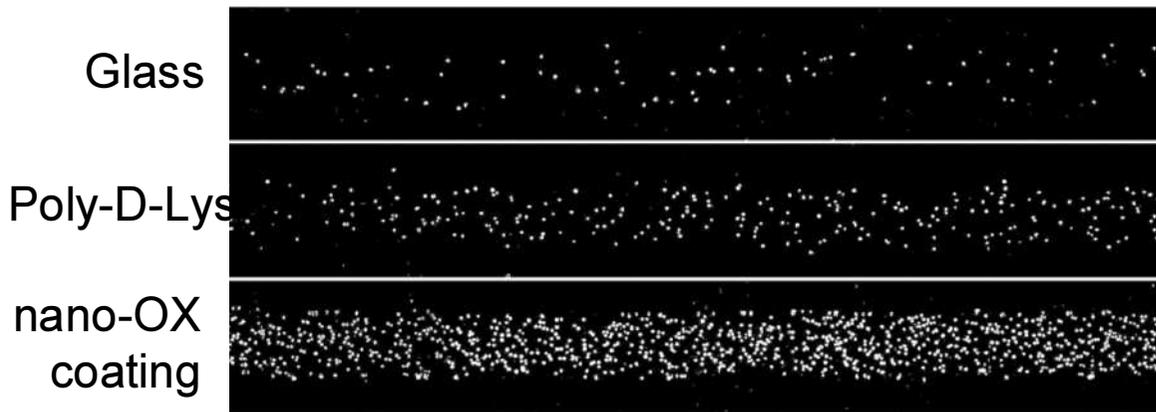
- 1/5 volume estratto dal paziente
- 10' vs. 25' preparazione slide
- >90% vs. <20% frazione cellulare trattenuta



## Nanocoatings + Microfluidic



## Adesione cellulare in microfluidica



I nanomateriali garantiscono un'ottima adesione cellulare anche in presenza degli intensi flussi di liquido presenti in microfluidica

I nanomateriali utilizzati sono perfettamente trasparenti e non hanno nessun background autofluorescente

# Approccio microFIND® alla microfluidica: Una piattaforma per la miniaturizzazione di saggi biologici

Cellule, proteine, anticorpi, ecc. sono immobilizzati efficientemente grazie al nanocoating all'interno della microcamera di reazione



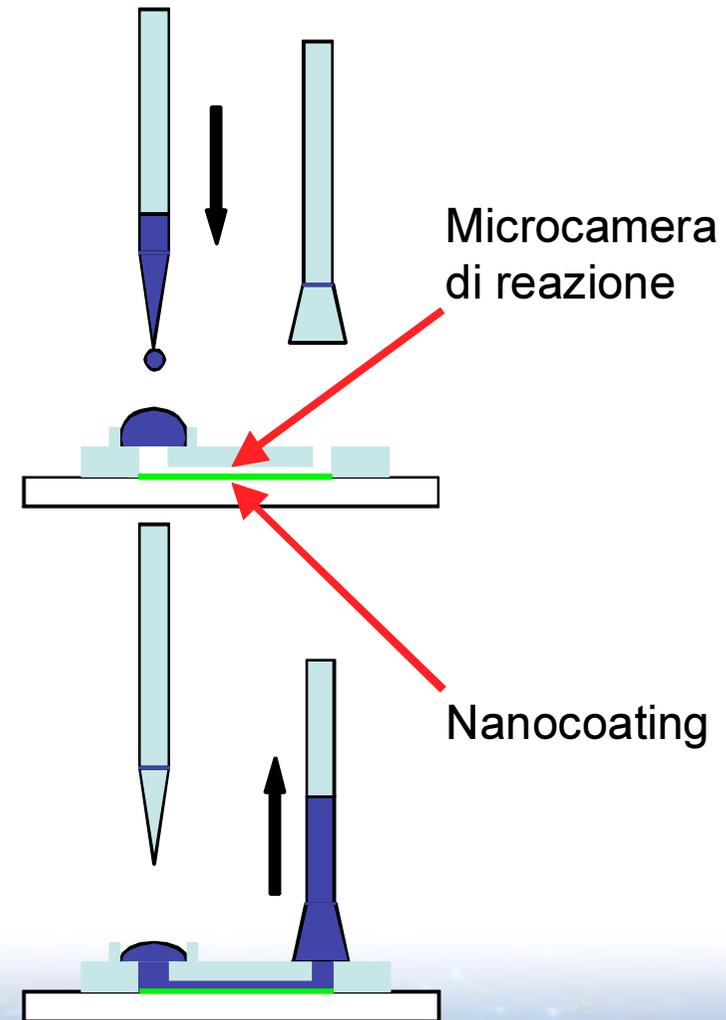
Tutti i passaggi del protocollo sono eseguiti all'interno della microcamera di microFIND®, dispensando e aspirando gocce dei reagenti



Il read-out finale avviene mediante le convenzionali procedure di acquisizione immagini (microscopio, scanner, ecc.)

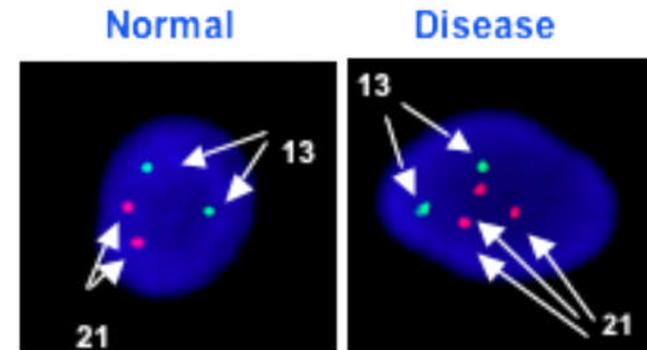
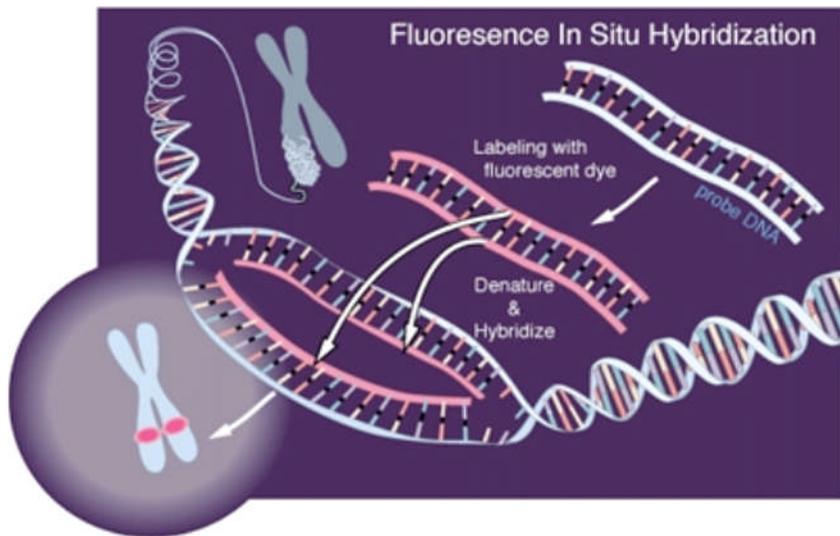
Dispensazione  
dei  
Reagenti

Caricamento e  
lavaggio  
attraverso  
l'aspirazione  
del reagente



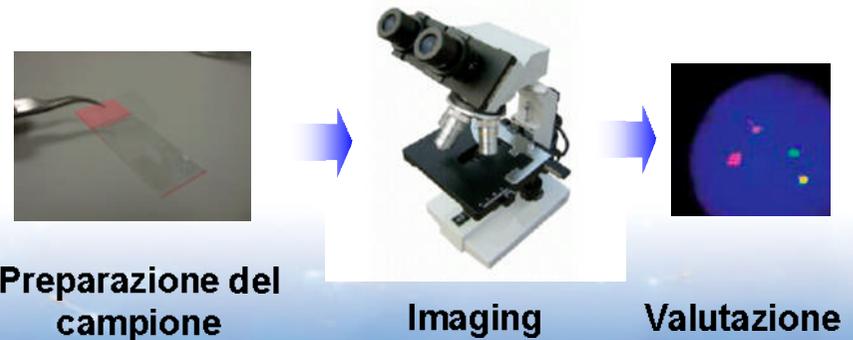
# Fluorescence In Situ Hybridization (FISH)

- La FISH è un protocollo di citogenetica molecolare utilizzato per l'individuazione di specifiche anomalie cromosomiche attraverso l'analisi in fluorescenza
- La FISH è uno strumento fondamentale nella diagnosi di un gran numero di disordini genetici (oncoematologia, tumori solidi e malattie costituzionali)



- microFIND automatizza i passaggi di preparazione del campione
- microFIND non modifica i processi di acquisizione di immagine e valutazione

## Protocollo FISH: passaggi principali



microFIND<sup>®</sup> per analisi FISH

**microFIND**  
*as usual ... BUT NEVER SO DIFFERENT*  
Nanostructured biochip for  $\mu$ FISH testing

*Innovative system for a large scale genetic screening approach applicable upon interphase FISH on cytological suspensions*

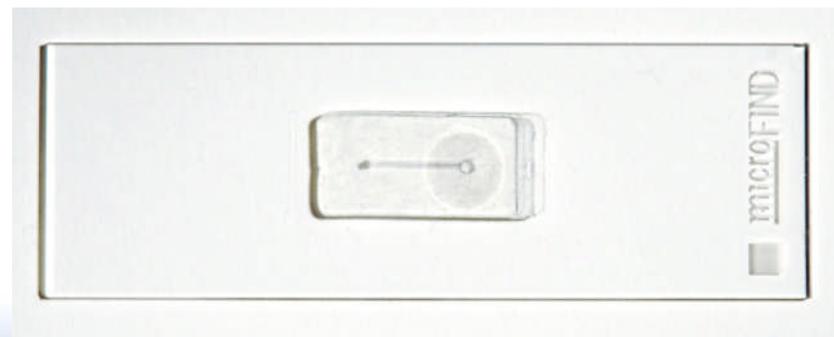
Spreading Innovation TETHIS

- Dispositivo marchiato CE-IVD, per l'analisi di patologie oncematologiche e il monitoraggio della ricorrenza del tumore alla vescica (protocollo Urovysion)
- Il dispositivo è stato sviluppato specificamente per saggi FISH in interfase da suspensioni citologiche (i.e. sangue, midollo, urine)

## autoFIND S



- compatibile con microFIND® MFH1L-5
- adatto a processare fino 12 slide/batch
- provvisto di aree termostate che consentono di eseguire la denaturazione separata di campione e sonde FISH
- permette di eseguire il protocollo FISH su cellule non preventivamente fissate
- di dimensioni compatte e facile utilizzo
- software intuitivo

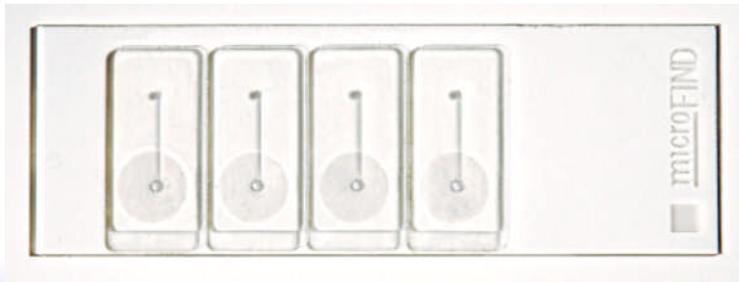


microFIND™ MFH1L-5

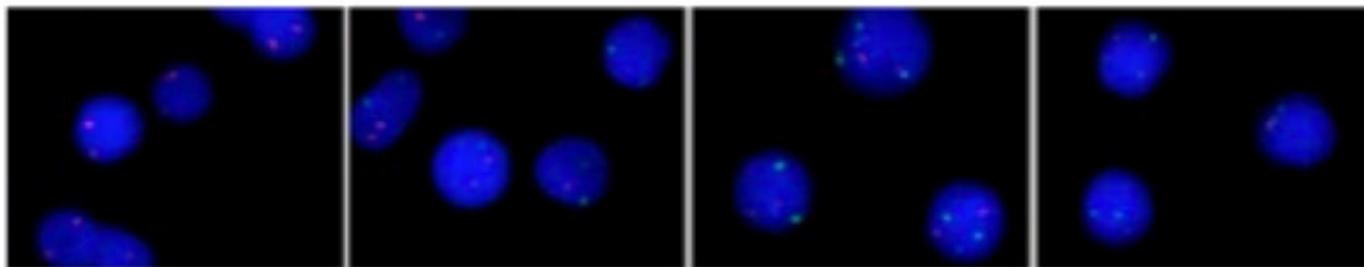
## autoFIND F



- autoFIND F è la stazione completamente automatica per il protocollo FISH con microFIND®
- con autoFIND F è possibile usare microFIND® nella configurazione a multipad, fino a 4-test per slide (tutta la serie dei kit MFH è adatta a questa piattaforma)
- nessuna contaminazione
- possibile utilizzo di più campioni e sonde
- minor spazio necessario per test singolo
- riduzione dei reagenti e del campione (circa 20 volte in meno per le sonde FISH)
- nessuna esposizione dell'operatore ai vapori della formamide
- riduzione dell'area di analisi per le procedure di acquisizione immagine



microFIND™ MFH4



# TETHIS

## [Contacts]

Tethis s.r.l. - via Russoli, 3 - 20143 Milano - Italy  
Tel +39 02 3656 8349 - Fax +39 02 3656 9183  
microFIND@tethis-lab.com - www.tethis-lab.com

