

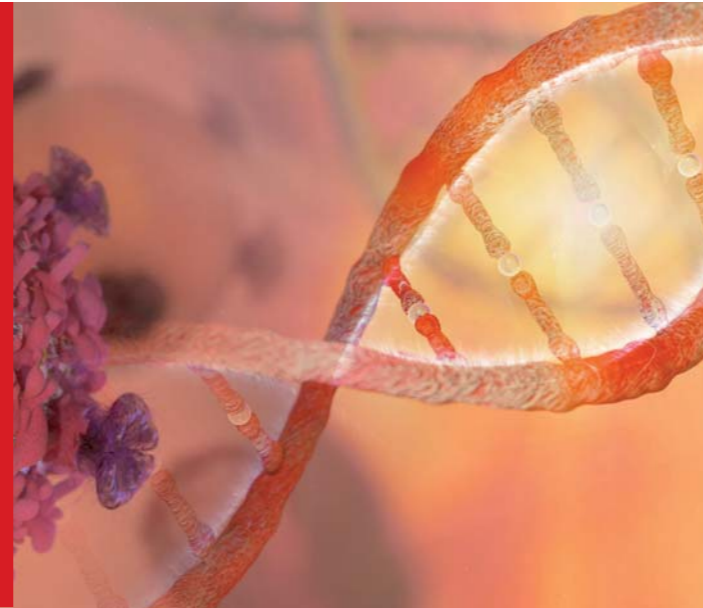
S-Monovette® cfDNA Exact

Zur Standardisierung
der Präanalytik von
Liquid-Biopsy-Proben



Vorteile der S-Monovette® cfDNA Exact:

- ✓ Blutentnahme mittels Aspirations- oder Vakuumtechnik möglich
- ✓ Geringe Hämolyse, auch bei höheren Temperaturen
- ✓ Kein Eintrag von gDNA aus kernhaltigen Zellen
- ✓ Kompatibel mit einer Vielzahl von Folgeanalysen



Der Biomarker zellfreie DNA (engl. cell free DNA; cfDNA) spielt eine zunehmende Rolle bei der frühzeitigen Erkennung von Transplantatabstoßungen, nicht-invasiven Pränatal-Tests sowie der molekularen Charakterisierung und dem Therapie-Monitoring von Krebs-Erkrankungen. Wichtige präanalytische Faktoren für eine gute cfDNA-

Probenqualität sind der Schutz der cfDNA vor Degradation und die Verhinderung einer Freisetzung von genomischer DNA (gDNA) aus kernhaltigen Blutzellen. Die innovative S-Monovette® cfDNA Exact sichert eine exzellente Probenqualität sowie exakte Ergebnisse mit einer garantierten Stabilisierungsleistung für **14 Tage bei 4-37°C**.

Fragmentgrößen-Analyse gelagerter Blutproben

Die innovative Präparierung der S-Monovette® cfDNA Exact verhindert im Gegensatz zu dem Mitbewerberprodukt, den Eintrag von gDNA aus kernhaltigen Zellen:

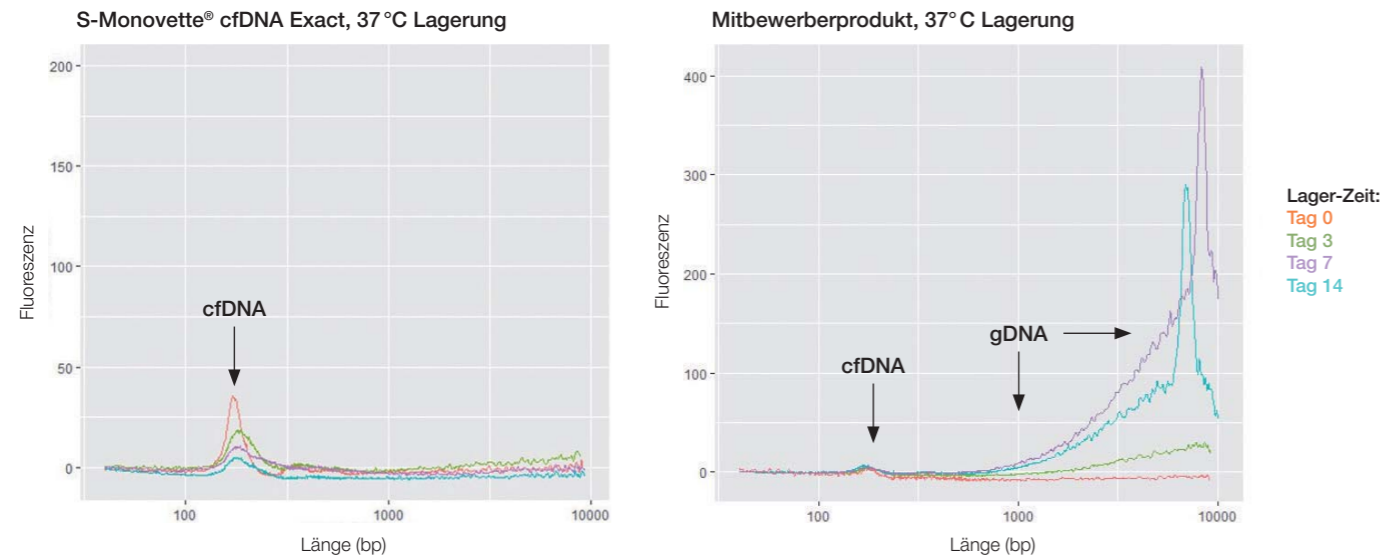


Abb. 1: Die Blutproben wurden vor der cfDNA-Isolation zwischen 0 und 14 Tagen bei 37°C gelagert (siehe Legende). Die DNA-Fragmentgrößen wurden elektrophoretisch bestimmt (Bioanalyzer 2100, Agilent) und die Isolation erfolgte mit dem InviMag® Free Circulating DNA Kit/ IG und dem InviGenius® PLUS Gerät (InvitexMolecular).

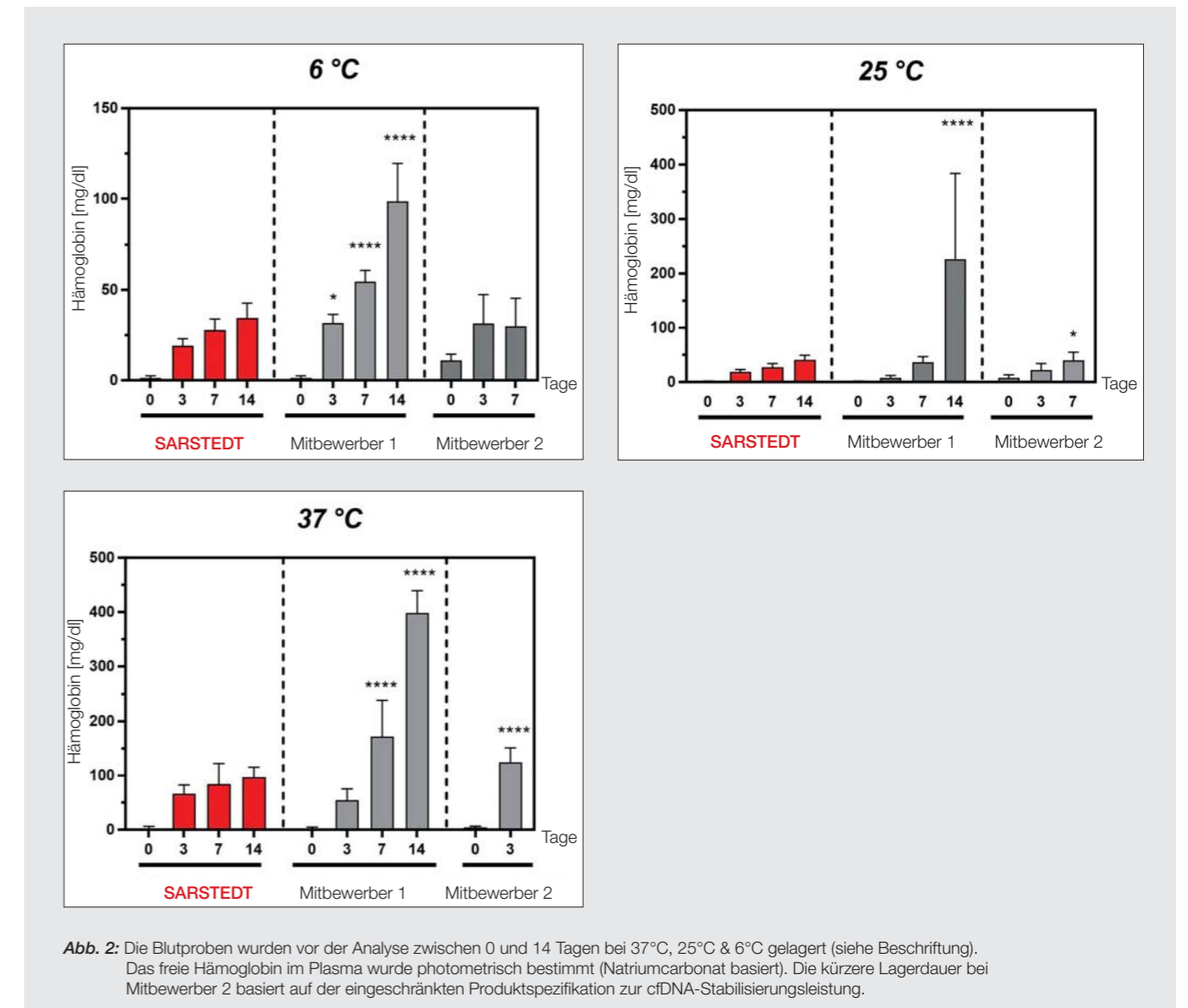
Fazit

Die S-Monovette® cfDNA Exact zeigt eine gleichbleibende Stabilisierungsleistung, wohingegen bei dem Mitbewerberprodukt eine über die Lagerzeit zunehmende gDNA-Freisetzung feststellbar ist, wodurch die Probe für nachfolgende Analysen unbrauchbar werden kann.

Geringste Hämolyse-Werte

Die Hämolyse ist ein Maß für zellulären Stress und zeigt die Zerstörung von Blutzellen bei der Probennahme an. Eine Lyse der Blutzellen bei der Probennahme hat direkten Einfluss auf den Eintrag von gDNA aus kernhaltigen Zellen in die Blutprobe. Es konnte bereits gezeigt werden, dass die *in-vitro*-Hämolyse mit erhöhten Plasma-cfDNA-Konzentrationen assoziiert sein kann, die aus gDNA von bei der Probennahme zerstörten Zellen stammt. (El Messaoudi S, Rolet F, Mouliere F, Thierry AR. Circulating cell free DNA: Preanalytical considerations. Clin Chim Acta. 2013; 424:222-30. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.05.022>).

Entsprechend wichtig für alle cfDNA-Folgeanalysen ist die Vermeidung jeglicher Hämolyse. Durch die schonende Aspirationstechnik bei der Probennahme mit der S-Monovette® cfDNA Exact wird eine geringstmögliche Hämolyse gewährleistet. Nachfolgend sind Hämolyse-Werte der S-Monovette® cfDNA Exact im Vergleich zu anderen kommerziell erhältlichen cfDNA-stabilisierenden Mitbewerberprodukten über die jeweils spezifizierte Stabilisierungszeit dargestellt.



Fazit

Die Probennahme mit der S-Monovette® cfDNA Exact ist hinsichtlich potentiell auftretender Hämolyse allen anderen getesteten Mitbewerberprodukten überlegen.

Analysierte Referenz-Gene

Nach der Isolation ist S-Monovette® cfDNA Exact stabilisierte cfDNA mit sämtlichen Analysemethoden kompatibel (z.B. NGS & qPCR). Da die cfDNA-Plasmakonzentration bei gesunden Spendern niedrig ist (1,8 - 44 ng/mL), wurden die single-copy Gene *ERV-3* & *MSTN* mittels qPCR untersucht, um zu

zeigen, dass auch Gene mit geringer Kopienanzahl noch nach längerer Lagerzeit nachgewiesen werden können. Für eine gute Probenqualität sollte der cfDNA-Anteil über die Lagerzeit möglichst konstant bleiben.

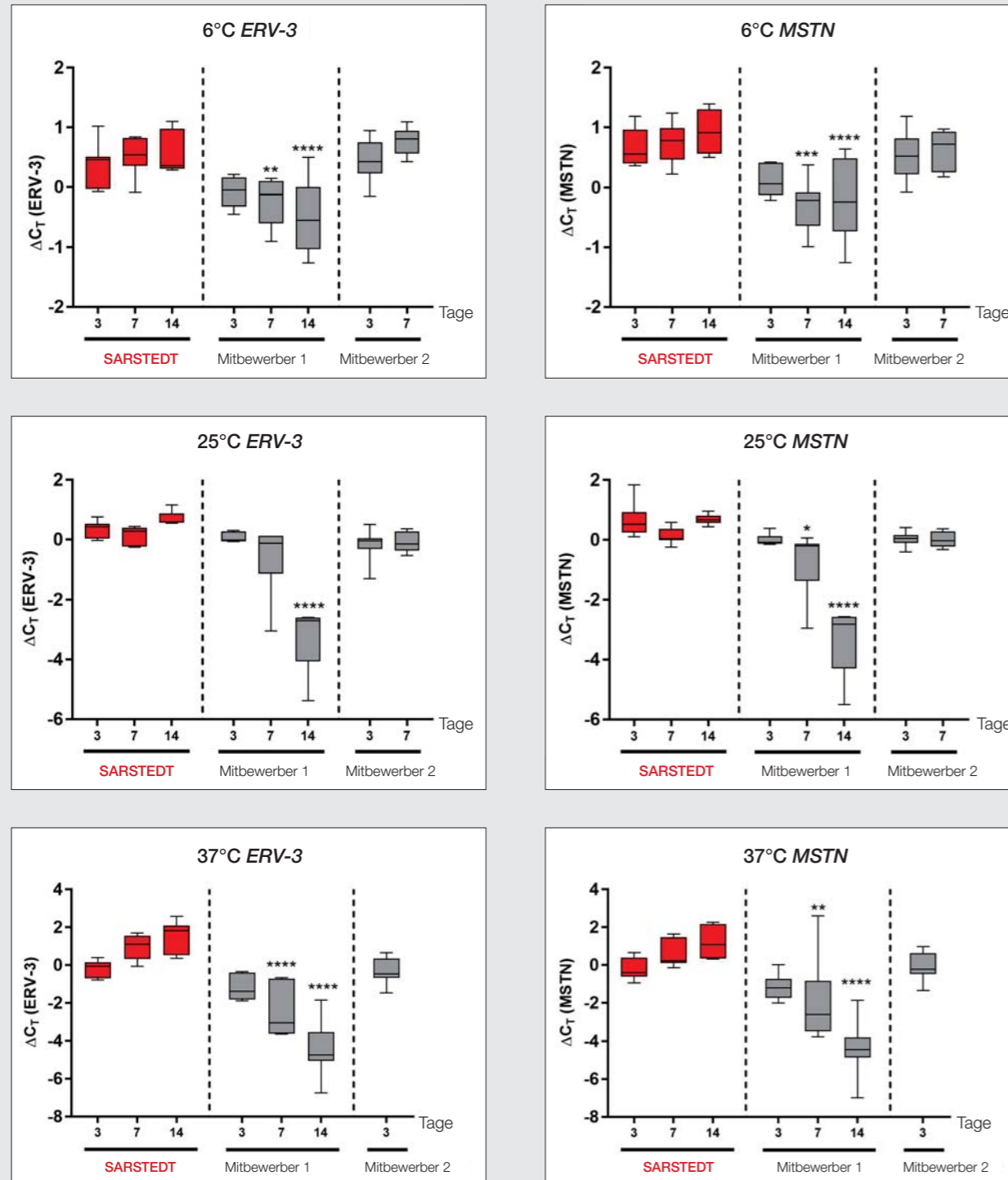


Abb. 3: Real-time PCR Analysen von *ERV-3* & *MSTN* aus S-Monovette® cfDNA Exact stabilisierten Proben im Vergleich zu Produkten anderer Hersteller. Alle Proben wurden mit dem InviMag® Free Circulating DNA Kit/ IG und dem InviGenius® PLUS Gerät (Invitex Molecular) isoliert. Die RT-qPCRs wurden mit Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) auf einem Mastercycler ep realplex 4S (Eppendorf) oder qTOWER³ (Analytic Jena) durchgeführt. Die angegebenen delta C_t-Werte stellen die Differenz aus C_t-Wert des Untersuchungszeitpunktes und der frisch aufbereiteten Tag-0-Proben dar. Die Statistik wurde mittels Zwei-Wege-Varianzanalyse (ANOVA) ermittelt: * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001 & **** < 0,0001

Fazit

Die S-Monovette® cfDNA Exact zeigt über 14 Tage bei 6-37°C eine gleichbleibende Stabilisierungsleistung, wohingegen bei den Mitbewerberprodukten z.T. eine über die Lagerzeit zunehmende gDNA-Freisetzung festgestellt wurde.

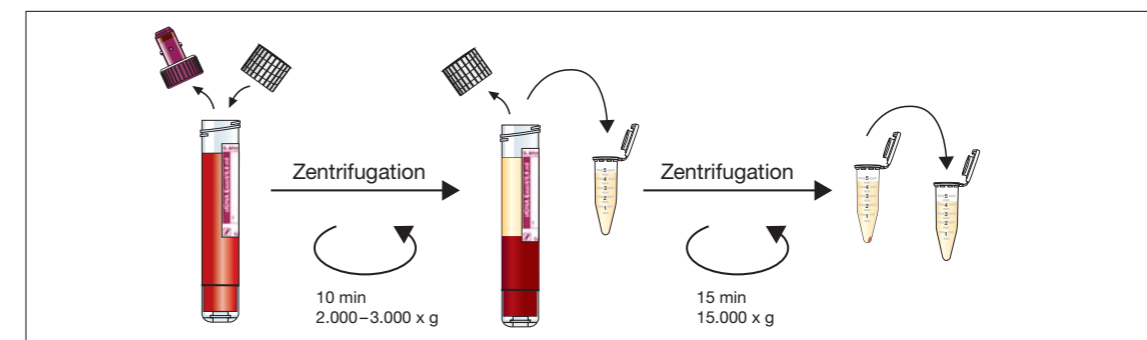


Spezifikationen

Probenvolumen: 9,2 ml (davon 8,4 ml Blut)
Lagertemperatur vor dem Befüllen: Raumtemperatur

Plasmaherstellung

Die Plasmaseparation zur Gewinnung der cfDNA ist ein mehrstufiger Zentrifugationsprozess, der beispielsweise folgendermaßen durchgeführt wird:



1. Austausch des roten Schraubdeckels durch die beiliegende Zentrifugationskappe.
2. Zentrifugation für 10 min mit 2.000 – 3.000 x g bei Raumtemperatur.
3. Überführung des Plasmas in Reaktionsgefäße (z.B. REF 72.706.200 (1,5 ml), 72.695.200 (2,0 ml) o. 72.701.400 (5,0 ml)).
4. Zentrifugation des Plasmas für 15 min mit 15.000 x g bei Raumtemperatur.
5. Überführung des Plasmas in neue Gefäße zur Isolation der cfDNA bzw. zur Lagerung (-80°C) bis zur Isolation.

FLEXIBEL BEI DER WAHL DES ISOLATIONS- SYSTEMS



Kompatible cfDNA-Isolations-Systeme für die Verwendung mit der S-Monovette® cfDNA Exact

1. Manuelle Isolationssysteme

- NucleoSnap® DNA Plasma-Kit, Macherey-Nagel, REF 740300.50
- NucleoSpin Dx Blood, Macherey-Nagel, REF 740899.50
- QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, Qiagen, REF 55114
- MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit, ThermoFisher Scientific, REF A293192

2. Automatisierte Isolationssysteme

- InviMag Free Circulating DNA Kit/IG, Fa. Invitek Molecular, REF 2439320400
- NextPrep-Mag cfDNA Isolation Kit, Fa. Perkin Elmer, REF NOVA-3825-03
- Chemagic cfNA 5k Kit special H24, Fa. Perkin Elmer, REF CMG-1104
- MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit, ThermoFisher Scientific, REF A293192

Bestellinformation

Bestell-Nr.	Bezeichnung	Verpackung
01.2040.001	S-Monovette® cfDNA Exact*	20 Stück pro Innenkarton / 80 Stück pro Umkarton

* = Zentrifugationskappen sind im Lieferumfang enthalten

Zubehör

Bestell-Nr.	Bezeichnung	Verpackung
65.729.100	Schraubverschluss, passend für Röhren Ø 15,3 mm	100 Stück pro Innenkarton / 5.000 Stück pro Umkarton
85.1638.235	Safety-Multify®-Kanüle 21G mit 200 mm Schlauch und montiertem Multi-Adapter	120 Stück pro Innenkarton / 480 Stück pro Umkarton
85.1640.235	Safety-Multify®-Kanüle 23G mit 200 mm Schlauch und montiertem Multi-Adapter	120 pro Innenkarton / 480 pro Umkarton
85.1642.235	Safety-Multify®-Kanüle 25G mit 200 mm Schlauch und montiertem Multi-Adapter	120 pro Innenkarton / 480 pro Umkarton
95.1006	Einweg-Staubbinde tournistrip®	200 pro Umkarton
78.898	Schutzgefäß 126x30 mm, mit Saugelinage, ohne Verschluss	50 pro Innenkarton / 250 pro Umkarton
65.679	Schraubverschluss für Schutzgefäß 126x30 mm	50 pro Innenkarton / 250 pro Umkarton
95.900	Versandbox klein 198x107x38 mm	50 pro Umkarton
95.901	Versandbox 198x107x50 mm	50 pro Umkarton
95.902	Versandbox groß 220x170x40 mm	50 pro Umkarton

Weitere Verbrauchsmaterialien für die PCR (PCR-Platten, -Ketten und -Einzelgefäße), Pipettenspitzen und Reagiergefäße finden Sie unter www.sarstedt.com.

SARSTEDT AG & Co. KG

Postfach 12 20
D-51582 Nümbrecht

Tel.: +49 2293 305 0
Fax: +49 2293 305 3450

Kundenservice Deutschland
Telefon 0800 0 83 305 0

info@sarstedt.com
www.sarstedt.com

Wenn Sie Fragen haben:
Wir helfen Ihnen gerne weiter!

Besuchen Sie auch unsere Internetseite: www.sarstedt.com