

S-Monovette® cfDNA Exact

Do standaryzacji
przedanalizycznej w płynnych
próbkach biopsyjnych



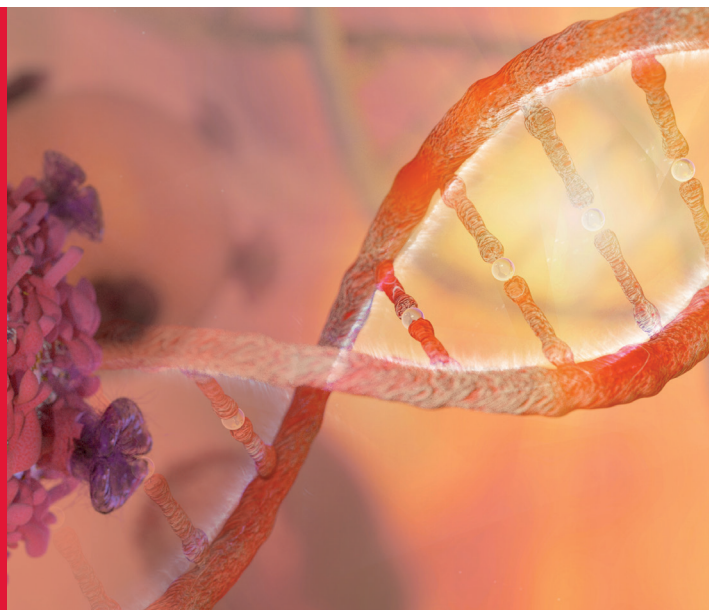
Molecular
Diagnostic
Workflow



SARSTEDT

Zalety probówek S-Monovette® cfDNA Exact:

- ✓ Możliwość pobierania krwi techniką aspiracji i techniką próżniową
- ✓ Niski poziom hemolizy, nawet przy wyższych temperaturach
- ✓ Brak wnikania gDNA z komórek jądrzastych
- ✓ Kompatybilność z licznymi metodami analiz uzupełniających



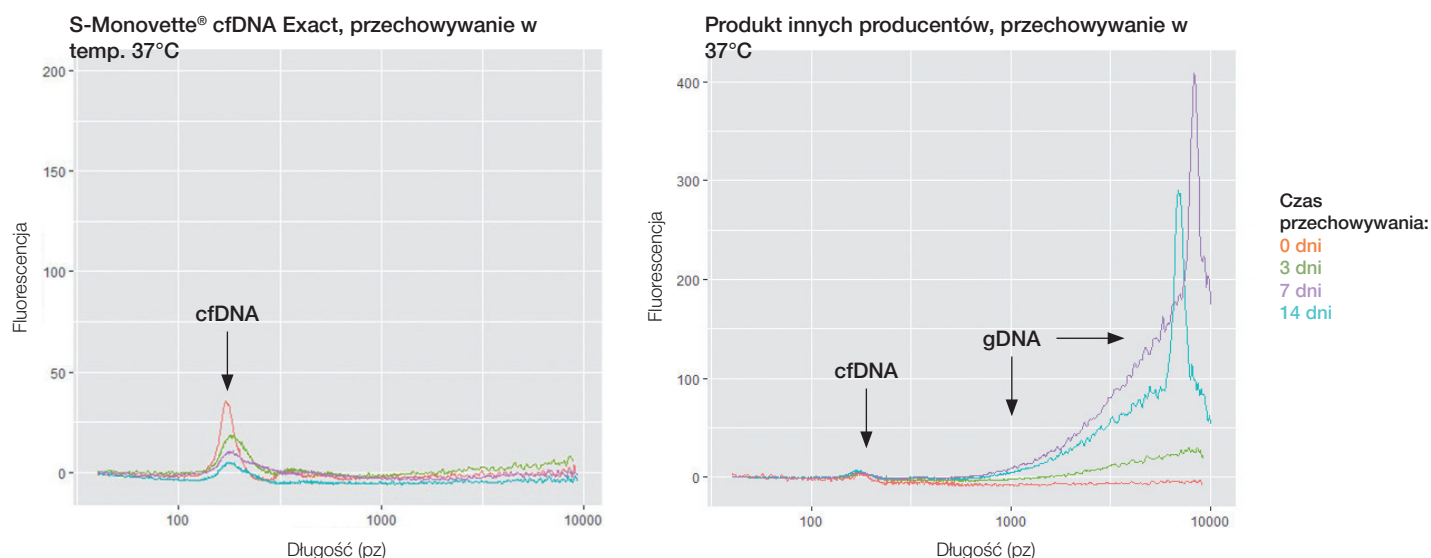
Biomarker wolnego pozakomórkowego DNA (z ang. cell free DNA; cfDNA) ma coraz większe znaczenie podczas wczesnego wykrywania odrzucenia przeszczepu, nieinwazyjnych badań prenatalnych, określania charakterystyki molekularnej oraz monitorowania leczenia chorób nowotworowych. Ważnym czynnikiem umożliwiającym zapewnienie dobrej jakości próbki cfDNA przed analizą jest ochrona cfDNA przed

degradacją oraz zapobiegnięcie uwalnianiu DNA (gDNA) z jądrzastych komórek krwi.

Innowacyjne probówki S-Monovette® cfDNA Exact umożliwiają pobieranie próbek o doskonałej jakości oraz uzyskiwanie precyzyjnych wyników. Skuteczna stabilizacja jest gwarantowana przez **14 dni w temperaturze 4–37°C**.

Analiza wielkości fragmentów przechowywanych próbek krwi

Innowacyjny preparat zawarty w probówkach S-Monovette® cfDNA Exact zapobiega przedostawaniu się cfDNA z komórek jądrzastych:



Rys. 1: Przed wyizolowaniem cfDNA próbki krwi przechowywano przez okres od 0 do 14 dni w temperaturze 37°C (patrz legenda). Wielkości fragmentów DNA oznaczano elektroforetycznie (Bioanalyzer 2100, Agilent), a próbki zostały wyizolowane z wykorzystaniem zestawu InviMag® Free Circulating DNA Kit / IG oraz urządzenia InviGenius® PLUS (InvitexMolecular).

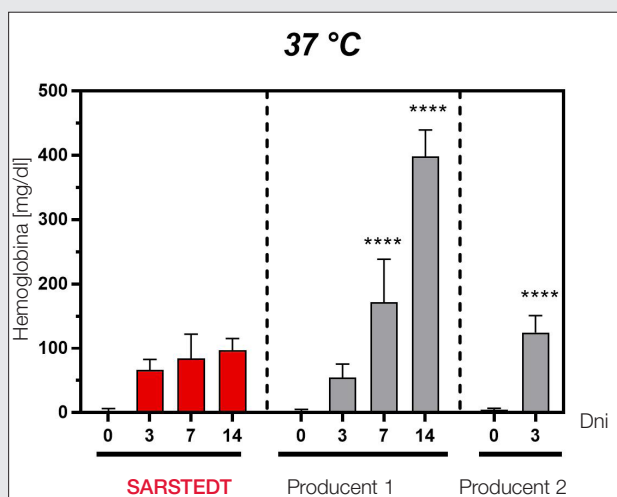
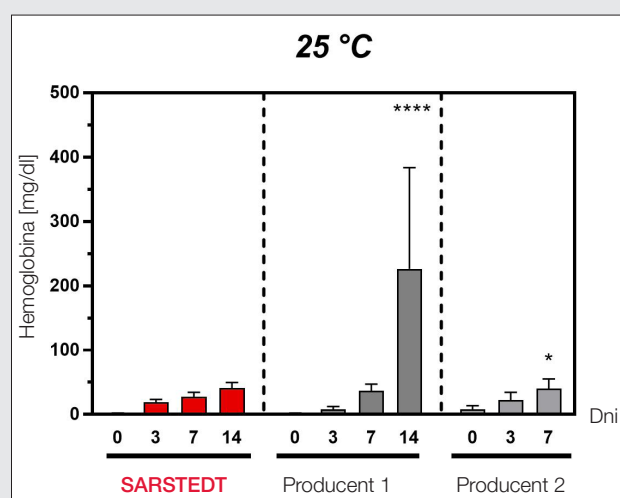
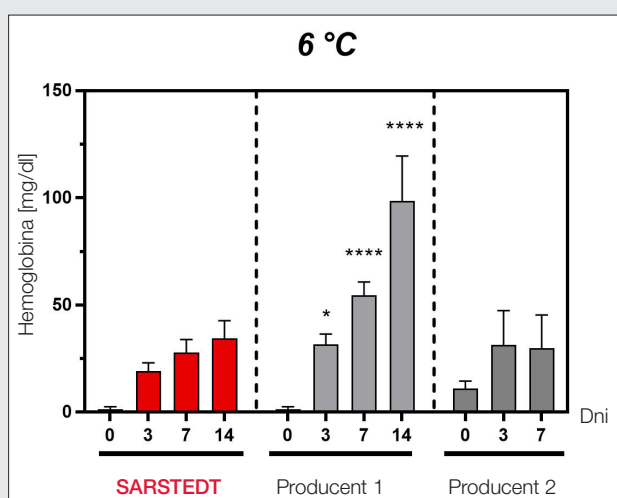
Wnioski

Probówki S-Monovette® cfDNA Exact wykazały stałą skuteczną stabilizację, podczas gdy produkty innych producentów uwalniały coraz większe ilości gDNA w miarę wydłużania się okresu przechowywania, w wyniku czego próbka mogła stać się niezdatna do dalszych analiz.

Najniższe wartości hemolizy

Hemoliza to miara stresu komórkowego, pozwalająca określić rozpad komórek krwi podczas pobierania próbek. Liza komórek krwi podczas pobierania próbek ma bezpośredni wpływ na przenikanie gDNA do próbki krwi z komórek jądrzastych. Wykazano już, że hemoliza w warunkach *in-vitro* może być powiązana ze zwiększeniem w osoczu stężenia cfDNA, które pochodzi z gDNA komórek ulegających rozpadowi podczas pobierania próbek. (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>).

Dlatego też istotne jest, aby unikać wszelkiej hemolizy podczas wszystkich późniejszych analiz próbek. Ostrożne pobieranie próbek metodą aspiracji za pomocą probówek S-Monovette® cfDNA Exact zapewnia najniższą możliwą hemolizę. Wartości hemolizy próbek pobranych do S-Monovette® cfDNA Exact przedstawiono poniżej i porównano je z wynikami dostępnymi na rynku produktów stabilizujących cfDNA innych producentów po określonym czasie stabilizacji.



Rys. 2: Przed analizą próbki krwi przechowywano przez okres od 0 do 14 dni w temperaturze 37°C, 25°C i 6°C (patrz legenda). Wolna hemoglobina w osoczu została określona metodą fotometryczną (na podstawie węglanu sodu). Krótszy czas przechowywania produktu od producenta 2 został oparty na skróconej wydajności produktu w zakresie stabilizacji cfDNA.

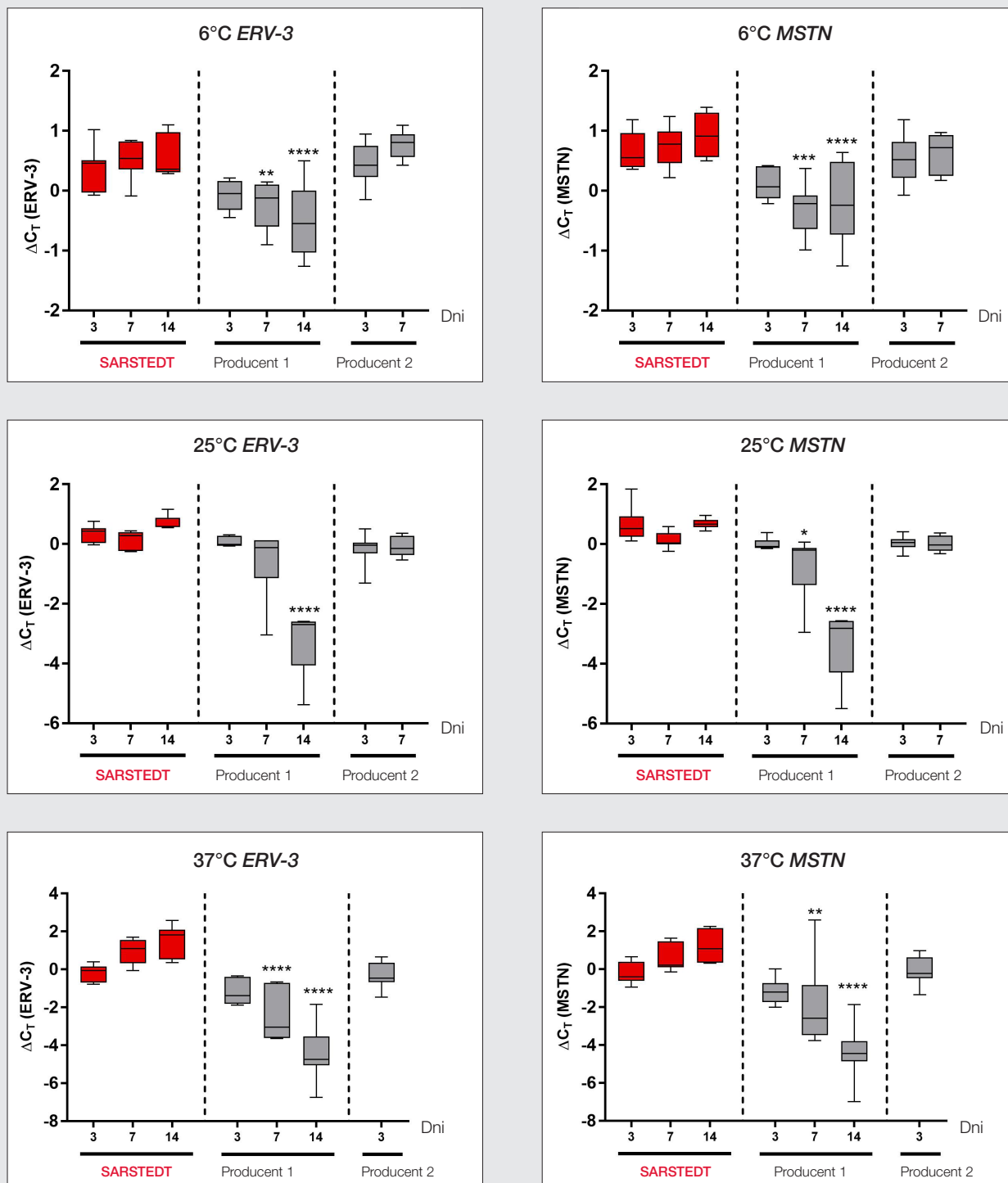
Wnioski

Pod względem wartości potencjalnej hemolizy podczas pobierania próbek probówki, S-Monovette® cfDNA Exact przewyższają wszystkie inne testowane produkty konkurencyjnych producentów.

Analizowane geny referencyjne

Po izolacji, próbówka S-Monovette® cfDNA Exact z ustabilizowanym cfDNA, jest kompatybilna ze wszystkimi metodami analiz (np. NGS i qPCR). Stężenie cfDNA w osoczu u dawców zdrowych jest niskie (1,8–44 ng/ml), a więc geny typu single copy *ERV-3* i *MSTN* zostały poddane analizie

przy wykorzystaniu qPCR, aby wykazać, że geny o mniejszej liczbie kopii są nadal wykrywalne po dłuższym okresie przechowywania. Aby zapewnić dobrą jakość próbki, zawartość cfDNA powinna być w miarę możliwości stała przez cały okres przechowywania.



Rys. 3: Analiza PCR w czasie rzeczywistym na podstawie *ERV-3* i *MSTN* z próbek S-Monovette® cfDNA Exact zawierających ustabilizowane próbki w porównaniu z produktami innych producentów. Wszystkie próbki zostały wyizolowane przy użyciu zestawu InviMag® Free Circulating DNA Kit / IG oraz urządzenia InviGenius® PLUS (Invitex Molecular). Analizę RT-qPCR przeprowadzono z użyciem Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) na urządzeniu Mastercycler ep realplex 4S (Eppendorf) lub qTOWER³ (Analytic Jena). Podane wartości delta C_T odzwierciedlają różnicę między wartością C_T uzyskaną w danym momencie badania oraz podczas analizy świeżej próbki dnia 0. Statystyki ustalono na podstawie analizy dwukierunkowej (ANOVA): * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001 i **** < 0,0001

Wnioski

Probówki S-Monovette® cfDNA Exact wykazały stałą skuteczną stabilizację po 14 dniach w temperaturze 6–37°C, podczas gdy produkty innych producentów uwalniały coraz większe ilości gDNA w miarę wydłużania się okresu przechowywania.



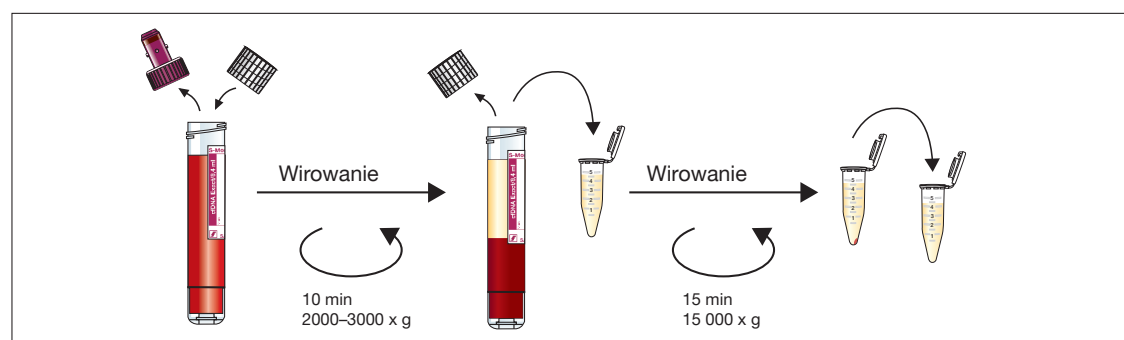
Specyfikacja

Objętości próbek: 9,2 ml (z czego 8,4 ml stanowi krew)

Temperatura przechowywania przed napełnieniem: Temperatura pokojowa

Oddzielanie osocza

Separacja osocza w celu pobrania cfDNA odbywa się podczas wieloetapowego wirowania przeprowadzanego w opisany poniżej sposób:



1. Wymienić czerwoną zakrętkę na dołączoną zakrętkę przeznaczoną do wirowania.
2. Wirować przez 10 minut przy 2000–3000 x g w temperaturze pokojowej.
3. Przenieść osocze do naczyń reakcyjnych (np. REF 72.706.200 (1,5 ml), 72.695.200 (2,0 ml) lub 72.701.400 (5,0 ml)).
4. Wirować osocze przez 15 minut przy 15 000 x g w temperaturze pokojowej.
5. Pobrać osocze do nowego naczynia do izolowania cfDNA lub przechowywania (-80°C) do momentu izolacji.

ELASTYCZNY WYBÓR SYSTEMU IZOLACJI

 MACHEREY-NAGEL

 **PerkinElmer**
For the Better

INVITEK
Molecular

Kompatybilne systemy izolacji cfDNA przeznaczone do stosowania z probówkami S-Monovette[®] cfDNA Exact:

1. Ręczne systemy izolacji

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

2. Automatyczne systemy izolacji

- InviMag Free Circulating DNA Kit/IG, firmy Invitek Molecular, REF 2439320400
- NextPrep-Mag cfDNA Isolation Kit, firmy 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

Szczegóły zamówienia

| Nr produktu | Oznaczenie | Opakowanie |
|-------------|---------------------------|--|
| 01.2040.001 | S-Monovette® cfDNA Exact* | 20 sztuk w kartonie wewnętrznym / 80 sztuk w kartonie zewnętrznym |

* = zakrętki do wirowania wchodzą w zakres dostawy

Akcesoria

| Nr produktu | Oznaczenie | Opakowanie |
|-------------|---|---|
| 65.729.100 | Zakrętki odpowiednie do probówek Ø 15,3 mm | 100 sztuk w kartonie wewnętrznym / 5000 sztuk w kartonie zewnętrznym |
| 85.1638.235 | Igła motylkowa bezpieczna Multifly 21G z drenem 200 mm i zamocowanym multiadapterem | 120 sztuk w kartonie wewnętrznym / 480 sztuk w kartonie zewnętrznym |
| 85.1640.235 | Igła motylkowa bezpieczna Multifly 23G z drenem 200 mm i zamocowanym multiadapterem | 120 sztuk w kartonie wewnętrznym / 480 sztuk w kartonie zewnętrznym |
| 85.1642.235 | Igła motylkowa bezpieczna Multifly 25G z drenem 200 mm i zamocowanym multiadapterem | 120 sztuk w kartonie wewnętrznym / 480 sztuk w kartonie zewnętrznym |
| 95.1006 | Jednorazowa opaska uciskowa tournistrip® | 200 szt. / karton |
| 78.898 | Naczynie ochronne 126x30 mm, z wkładką chłonną, bez zamknięcia | 50 sztuk w kartonie wewnętrznym / 250 sztuk w kartonie zewnętrznym |
| 65.679 | Zakrętka do naczynia ochronnego 126x30 mm | 50 sztuk w kartonie wewnętrznym / 250 sztuk w kartonie zewnętrznym |
| 95.900 | Małe pudełko wysyłkowe 198x107x38 mm | 50 szt. / karton |
| 95.901 | Pudełko wysyłkowe 198x107x50 mm | 50 szt. / karton |
| 95.902 | Duże pudełko wysyłkowe 220x170x40 mm | 50 szt. / karton |

Dalsze materiały wykorzystywane w testach PCR (płytki, łańcuchy, pojedyncze naczynia PCR), końcówki pipet i probówki reakcyjne dostępne są na stronie www.sarstedt.com.

SARSTEDT Sp. z o.o.

ul. Warszawska 25
Blizne Łaszczyńskiego
05-082 Stare Babice

Tel: +48 22 722 05 43

Fax: +48 22 722 07 95

info.pl@sarstedt.com

www.sarstedt.com

SARSTEDT

Organizacja pracy w diagnostyce molekularnej

Wykorzystaj zalety naszych dopasowanych do siebie materiałów eksploatacyjnych!

