

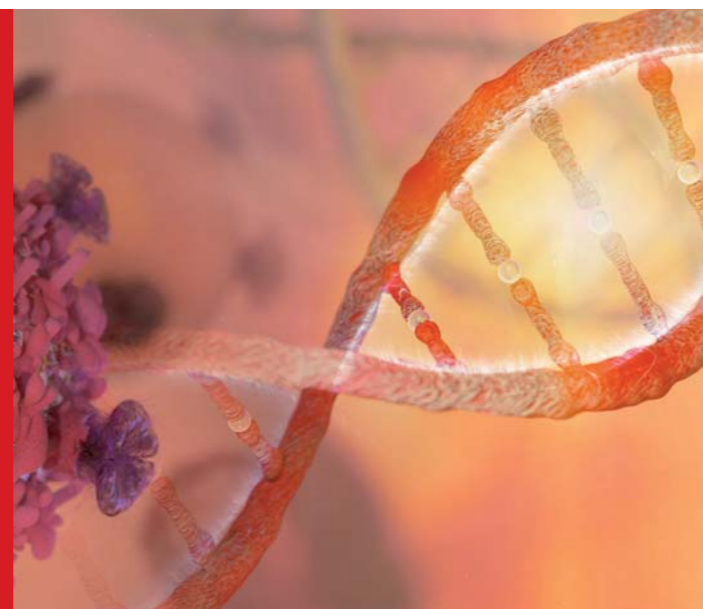
# S-Monovette® cfDNA Exact

Ke standardizaci  
preanalytické fáze  
vzorků Liquid Biopsy



## Výhody zkumavek S-Monovette® cfDNA Exact:

- ✓ Možnost odběru krve pomocí aspirační nebo vakuové techniky
- ✓ Nízká hemolýza i při vyšších teplotách
- ✓ Žádný přenos gDNA z buněk obsahujících jádro
- ✓ Kompatibilní s řadou následných analýz

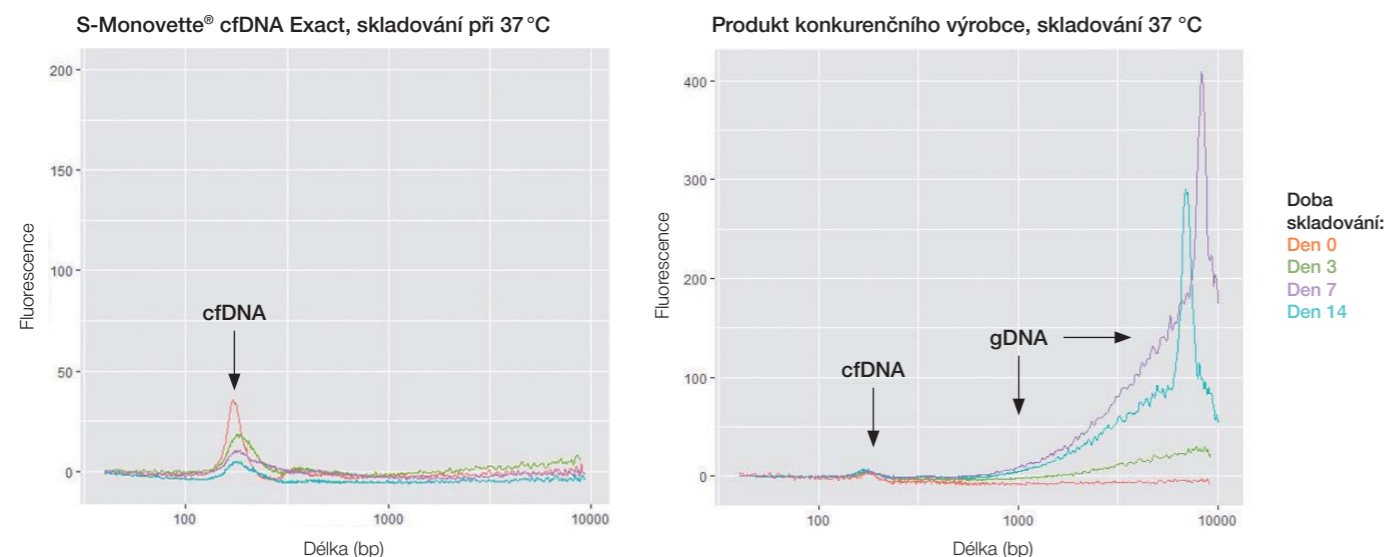


Bezbuňková DNA biomarkeru (angl. cell free DNA; cfDNA) hraje stále větší roli při včasné rozpoznání odmítnutí transplantátu, neinvazivních prenatálních testech a také při molekulární charakterizaci a monitorování terapie nádorových onemocnění. Důležitými preanalytickými faktory pro dobrou kvalitu vzorků

cfDNA jsou ochrana cfDNA před degradací a zamezení uvolnění genomické DNA (gDNA) z buněk obsahujících jádro. Inovativní zkumavka S-Monovette® cfDNA Exact zajišťuje vynikající kvalitu vzorků a přesné výsledky se zaručeným stabilizačním výkonem po dobu **14 dnů při teplotě 4-37 °C**.

## Analýza velikosti fragmentů uložených vzorků krve

Inovativní preparace zkumavek S-Monovette® cfDNA Exact v porovnání s produktem konkurenčního výrobce zabraňuje vstupu gDNA z buněk obsahujících jádro:



**Obr. 1:** Vzorky krve byly před izolací cfDNA skladovány mezi 0 a 14 dny při teplotě 37 °C (viz vysvětlivky). Velikosti fragmentů DNA byly stanoveny elektroforeticky (Bioanalyzer 2100, Agilent) a vzorky byly izolovány pomocí sady InviMag® Free Circulating DNA Kit/IG a přístroje InviGenius® PLUS (InvitakMolecular).

### Závěr

Zkumavka S-Monovette® cfDNA Exact vykazuje setrvalý stabilizační výkon, zatímco u produktu konkurenčního výrobce bylo po dobu uskladnění zjištěno narůstající zvýšené uvolňování gDNA, takže vzorek může být pro další analýzy nepoužitelný.

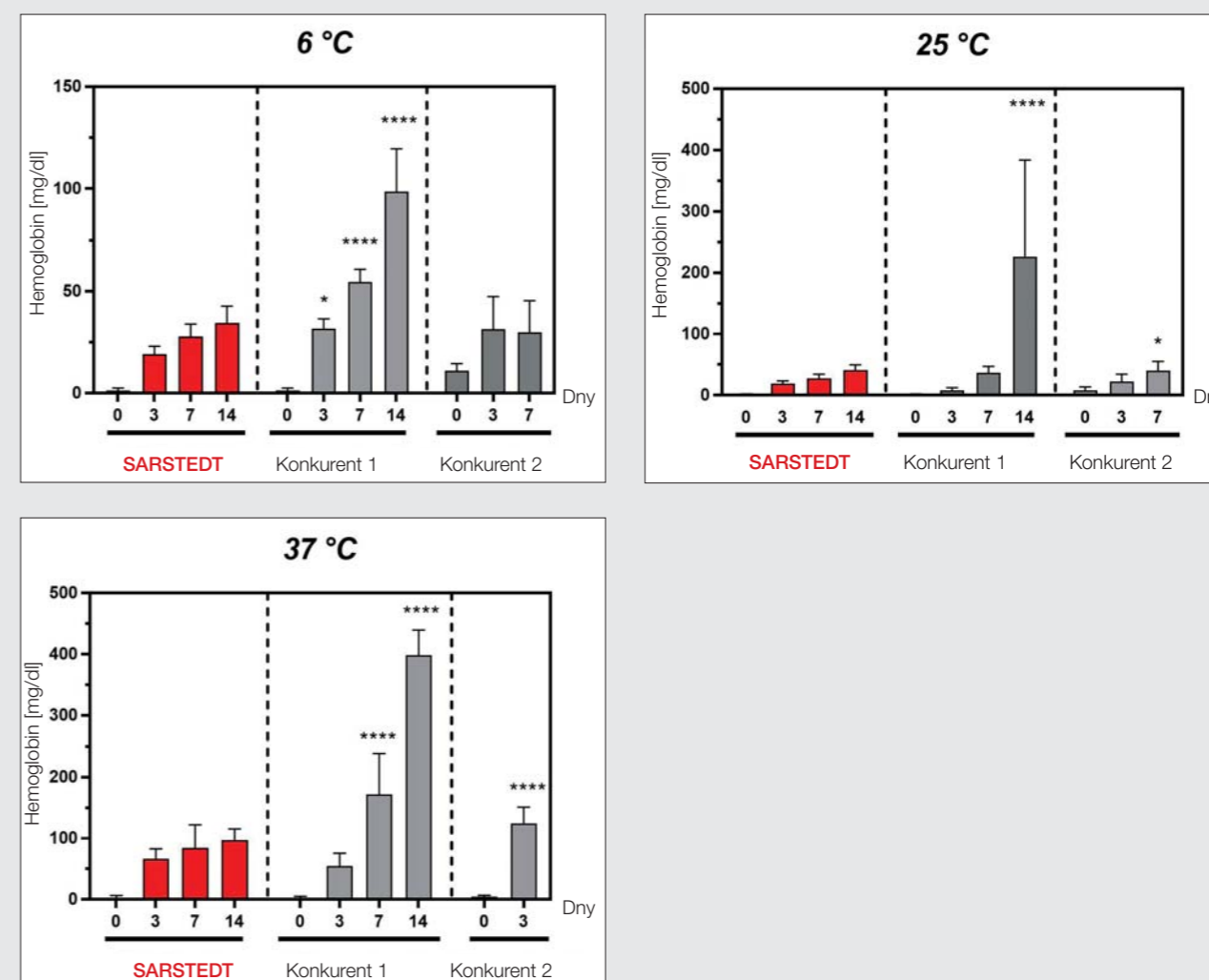
## Nejnižší hodnoty hemolýzy

Hemolýza je synonymem buněčného stresu a znamená poškození krevních buněk při odběru krve. Hemolýza krevních buněk při odběru vzorků má přímý vliv na vstup gDNA do krevního vzorku z buněk s jádry. Již bylo prokázáno, že hemolýzu *in-vitro* je možné spojovat se zvýšenými koncentracemi cfDNA v plazmě, která pochází z gDNA z buněk zničených při odběru vzorku.

(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>.

Stejně důležité je, aby se u všech následných analýz cfDNA zabránilo jakémoliv hemolýze. Šetrnou aspirační technikou při odběru vzorku se zkumavkou S-Monovette® cfDNA Exact je zaručena nejnižší možná hemolýza. Dále jsou uvedeny hodnoty hemolýzy zkumavky S-Monovette® cfDNA Exact v porovnání s jinými komerčně dostupnými produkty konkurence, které stabilizují cfDNA vždy po specifikovanou dobu stabilizace.



**Obr. 2:** Vzorky krve byly před analýzou skladovány mezi 0 a 14 dny při teplotě 37 °C, 25 °C a 6 °C (viz popis). Volný hemoglobin v plasmě byl určen fotometricky (na základě uhlíčitanu sodného). Kratší doba skladování u konkurenta 2 je založena na omezené specifikaci produktu k stabilizačnímu výkonu cfDNA.

### Závěr

Odběr vzorku pomocí zkumavek S-Monovette® cfDNA Exact je s ohledem na možný vznik hemolýzy preferovanější než všechny ostatní testované konkurenční produkty.

## Analyzované referenční geny

Po izolaci je cfDNA zkumavky S-Monovette® cfDNA Exact kompatibilní se všemi analytickými metodami (např. NGS & PCR). Protože koncentrace plazmy cfDNA je u zdravých dárců nízká (1,8-44 ng/ml), byly geny single-copy *ERV-3* & *MSTN*

zkoumány prostřednictvím qPCR, aby se potvrdilo, že také geny s nízkým počtem kopií je možné ještě zjistit po delší době skladování. Pro dobrou kvalitu vzorků by měl podíl cfDNA během doby skladování zůstat pokud možno konstantní.

## Závěr

Zkumavka S-Monovette® cfDNA Exact vykazuje setrvalý stabilizační výkon po dobu 14 dnů při 6-37 °C, zatímco u produktu jiného výrobce bylo po dobu uskladnění zjištěno narůstající zvýšené uvolňování gDNA.

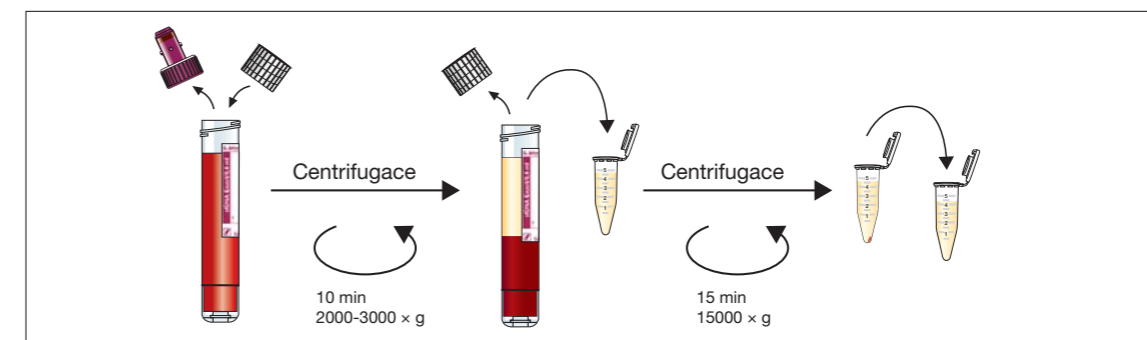


## Specifikace

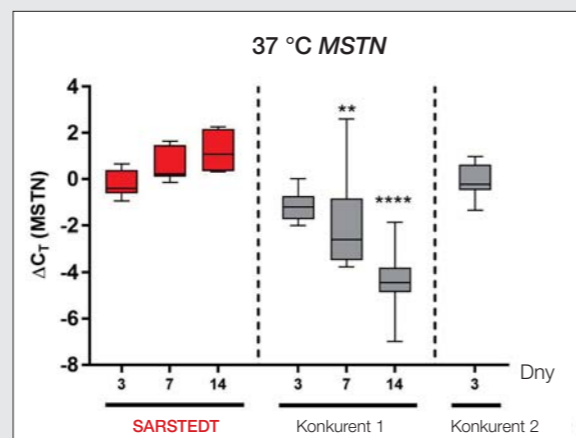
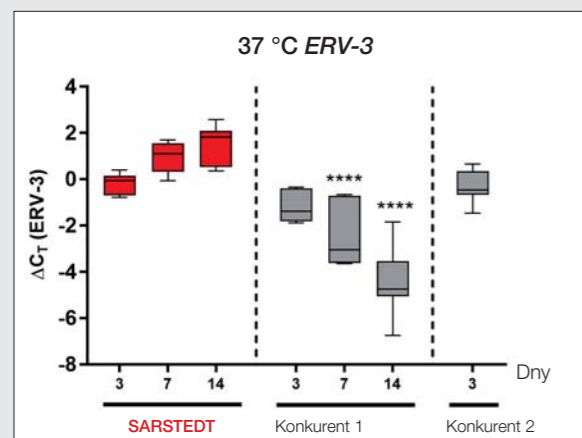
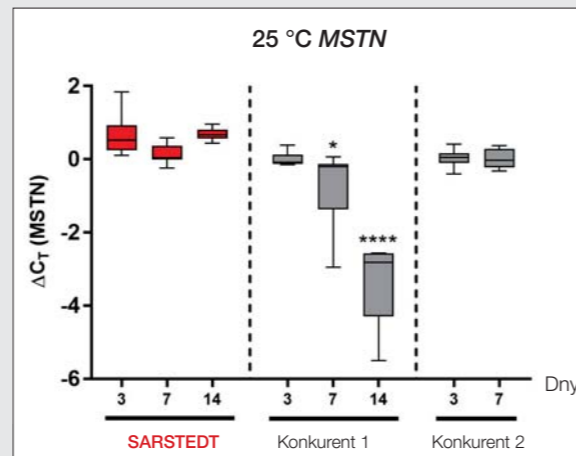
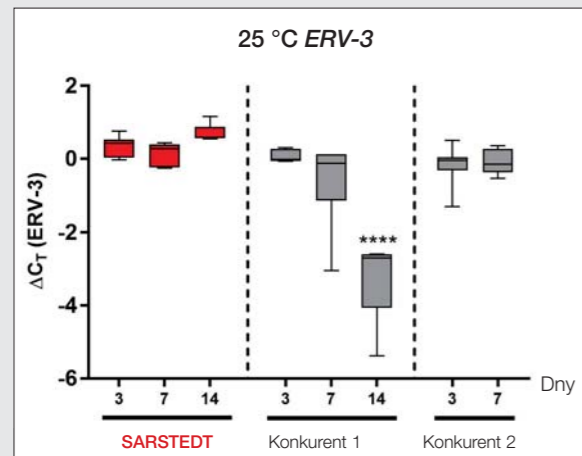
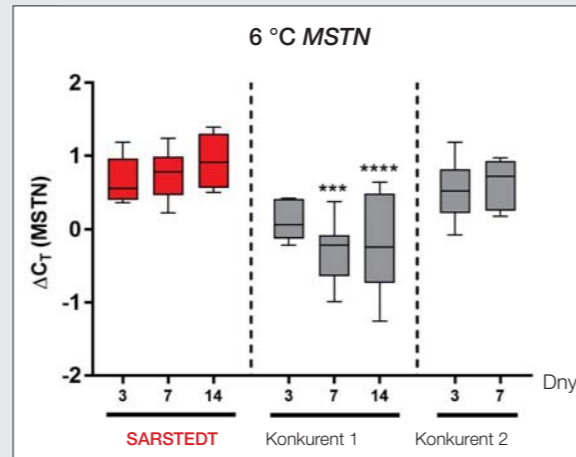
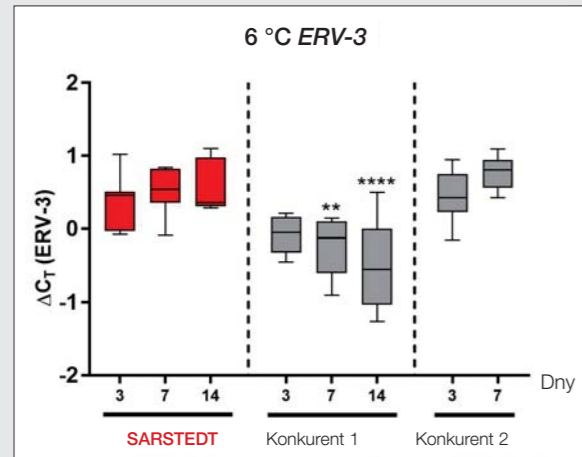
Objem vzorků: 9,2 ml (z toho 8,4 ml krve)  
Teplota skladování před naplněním: teplota místnosti

## Výroba plazmy

Separace plazmy pro získání cfDNA je několikastupňový proces centrifugace, který se provádí například takto:



1. Výměna červeného šroubovacího víčka za přiložené víčko pro centrifugaci.
2. Centrifugace po dobu 10 min s 2000-3000 x g při teplotě místnosti.
3. Přenos plazmy do reagenční zkumavky (např. REF 72.706.200 (1,5 ml), 72.695.200 (2,0 ml) nebo 72.701.400 (5,0 ml)).
4. Centrifugace plazmy po dobu 15 min s 15000 x g při teplotě místnosti.
5. Přenos plazmy do nové zkumavky pro izolaci cfDNA, popř. pro skladování (-80 °C) až k izolaci.



Obr. 3: Analýzy PCR v reálném čase pro *ERV-3* & *MSTN* ze zkumavky S-Monovette® cfDNA Exact v porovnání s produkty jiného výrobce. Všechny vzorky byly izolovány pomocí sady InviMag® Free Circulating DNA Kit/ IG a přístroje InviGenius® PLUS (InvitexMolecular). RT-qPCR byly provedeny s použitím Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) na přístroji Mastercycler ep realplex 4S (Eppendorf) nebo qTOWER<sup>3</sup> (Analytic Jena). Zadané hodnoty delta C<sub>t</sub> představují rozdíl z hodnoty C<sub>t</sub> času vyšetření a čerstvě připravených vzorků Den 0. Statistika byla zjištěna prostřednictvím dvoucestné analýzy rozptylu (ANOVA): \* < 0,05, \*\* < 0,01, \*\*\* < 0,001 & \*\*\*\* < 0,0001

# FLEXIBILNÍ PŘI VÝBĚRU SYSTÉMU IZOLACE



## Kompatibilní systémy izolace cfDNA pro použití se zkumavkou S-Monovette® cfDNA Exact

### 1. Manuální systémy pro izolaci

- 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. Automatické systémy pro izolaci

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

### Informace o objednávce

Objednací č.	Popis	Balení
01.2040.001	S-Monovette® cfDNA Exact*	20 kusů ve vnitřním kartonu / 80 kusů ve vnějším kartonovém obalu

\* = víčka pro centrifugaci jsou součástí dodávky

### Příslušenství

Objednací č.	Popis	Balení
65.729.100	Šroubovací uzávěr, vhodné pro zkumavky Ø 15,3 mm	100 kusů ve vnitřním kartonu / 5000 kusů ve vnějším kartonovém obalu
85.1638.235	Jehla Safety-Multifly®21G s hadičkou 200 mm a namontovaným multiadaptérem	120 kusů ve vnitřním kartonu / 480 kusů ve vnějším kartonovém obalu
85.1640.235	Jehla Safety-Multifly®23G s hadičkou 200 mm a namontovaným multiadaptérem	120 kusů ve vnitřním kartonu / 480 kusů ve vnějším kartonovém obalu
85.1642.235	Jehla Safety-Multifly®25G s hadičkou 200 mm a namontovaným multiadaptérem	120 kusů ve vnitřním kartonu / 480 kusů ve vnějším kartonovém obalu
95.1006	Jednorázové škrtilo tournistrip®	200 kusů ve vnějším kartonovém obalu
78.898	Ochranná nádobka 126x30 mm, se savou vložkou, bez uzávěru	50 kusů ve vnitřním kartonu / 250 kusů ve vnějším kartonovém obalu
65.679	Šroubovací uzávěr pro ochrannou nádobku 126 x 30 mm	50 kusů ve vnitřním kartonu / 250 kusů ve vnějším kartonovém obalu
95.900	Přepravní krabička malá 198x107x38 mm	50 kusů ve vnějším kartonovém obalu
95.901	Přepravní krabička 198 x 107 x 50 mm	50 kusů ve vnějším kartonovém obalu
95.902	Přepravní krabička velká 220x170x40 mm	50 kusů ve vnějším kartonovém obalu

Další spotřební materiál pro PCR (PCR destičky, řetězce a jednotlivé zkumavky), pipetovací špičky a reagenční zkumavky naleznete na [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com).

## SARSTEDT spol. s r.o.

Pod Pekárnami 338/12  
190 00 Praha 9

Tel: +420 281 021 491

Fax: +420 281 021 495

info.cz@sarstedt.com

www.sarstedt.com

Máte-li jakékoli dotazy:  
Rádi vám pomůžeme!

Navštivte rovněž naše internetové stránky: [www.sarstedt.com](http://www.sarstedt.com)