

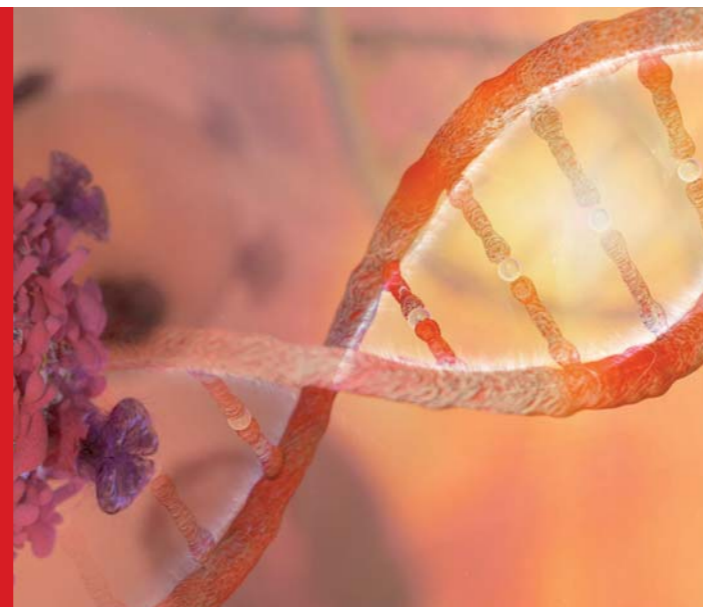
S-Monovette® cfDNA Exact

Для стандартизации
преаналитики образцов
жидкостной биопсии



Преимущества S-Monovette® cfDNA Exact:

- ✓ Возможность взятия крови аспирационной или вакуумной техникой
- ✓ Низкая скорость гемолиза даже в условиях повышенных температур
- ✓ Отсутствие проблемы проникновения гДНК из ядросодержащих клеток
- ✓ Совместимость с различными методами последующего анализа



Биомаркер «внеклеточная ДНК» (вкДНК; англ. cell free DNA, cfDNA) играет все более важную роль в раннем обнаружении отторжения трансплантатов, неинвазивных пренатальных тестах, молекулярных исследованиях и терапевтическом мониторинге онкологических заболеваний. Важными факторами хорошего качества образца вкДНК на преаналитическом этапе являются защита вкДНК от

деградации и предотвращение выхода геномной ДНК (гДНК) из ядросодержащих клеток крови. Инновационная система S-Monovette® cfDNA Exact обеспечивает высочайшее качество образцов и точные результаты анализа с гарантированной эффективностью стабилизации в течение **14 дней при температуре от 4 °С до 37 °С**.

Анализ размеров фрагментов сохраненных образцов крови

В отличие от конкурирующего продукта, инновационный наполнитель системы S-Monovette® cfDNA Exact предотвращает проникновение гДНК из ядросодержащих клеток:

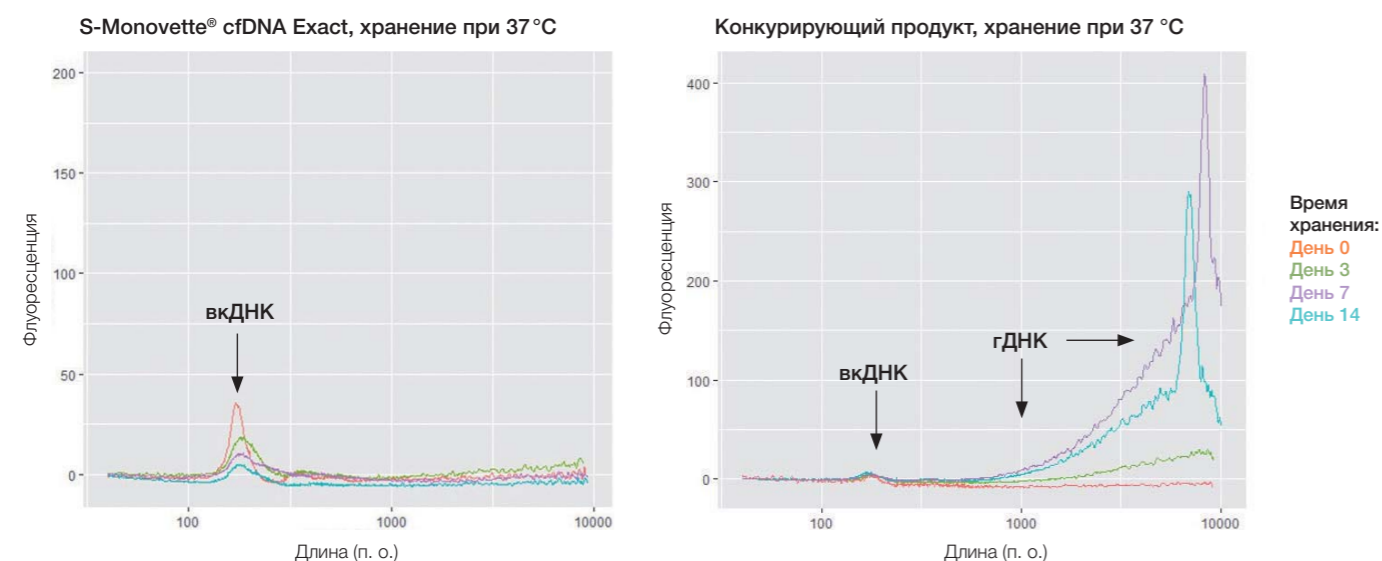


Рис. 1: Перед выделением вкДНК образцы крови хранились от 0 до 14 дней при температуре 37 °С (см. условные обозначения). Размеры фрагментов ДНК определялись электрофоретически (с помощью биоанализатора 2100, Agilent), а выделение образцов проводилось с помощью комплекта InviMag® Free Circulating DNA Kit/устройства InviGenius® PLUS (InvitexMolecular).

Вывод

Система S-Monovette® cfDNA Exact демонстрирует постоянную эффективность стабилизации, в то время как при использовании конкурирующего продукта в ходе хранения образца отмечается повышение показателей высвобождения гДНК, что может сделать образец непригодным для последующего анализа.

Минимальные значения гемолиза

Гемолиз является мерой клеточного стресса и указывает на разрушение клеток крови во время отбора проб. Лизис клеток крови во время отбора проб оказывает прямое влияние на проникновение гДНК в образец крови из ядросодержащих клеток. Ранее было показано, что гемолиз *in-vitro* может быть связан с повышенным уровнем вкДНК в плазме, полученной из гДНК из клеток, разрушенных во время отбора проб. (El Messaoudi S, Rolet F, Moulire 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>).

Поэтому для всех последующих анализов вкДНК важно избегать любой формы гемолиза. Щадящая аспирационная методика, используемая при взятии образцов с помощью S-Monovette® cfDNA Exact, обеспечивает минимально возможный гемолиз. Ниже показаны значения гемолиза при работе с S-Monovette® cfDNA Exact по сравнению с другими конкурирующими продуктами для стабилизации вкДНК, представленными на рынке.

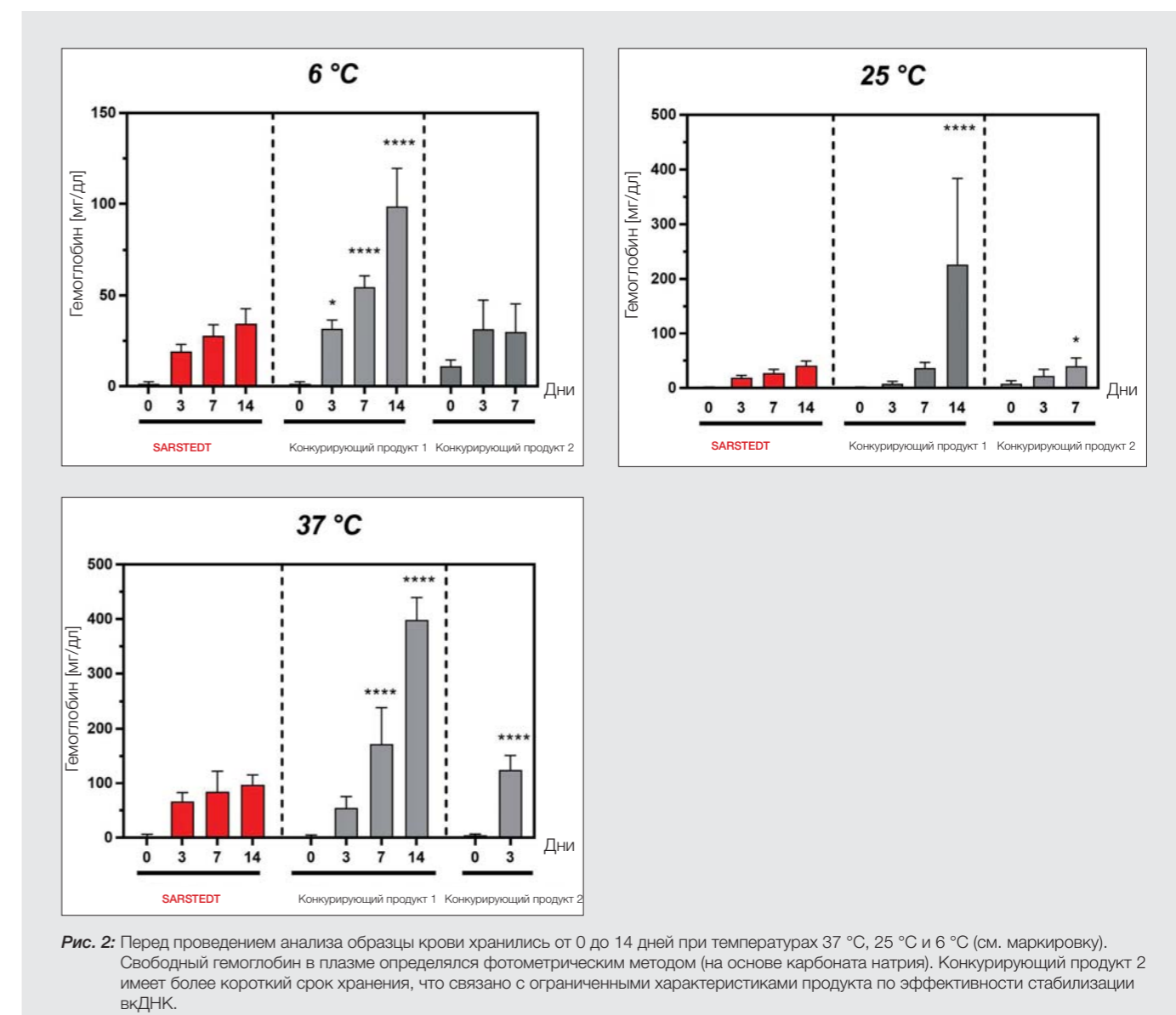


Рис. 2: Перед проведением анализа образцы крови хранились от 0 до 14 дней при температурах 37 °С, 25 °С и 6 °С (см. маркировку). Свободный гемоглобин в плазме определялся фотометрическим методом (на основе карбоната натрия). Конкурирующий продукт 2 имеет более короткий срок хранения, что связано с ограниченными характеристиками продукта по эффективности стабилизации вкДНК.

Вывод

С точки зрения потенциального гемолиза при отборе проб S-Monovette® cfDNA Exact превосходит все остальные протестированные конкурирующие продукты.

Эталонные гены, прошедшие анализ

После выделения вкДНК, стабилизированная с помощью S-Monovette® cfDNA Exact, совместима со всеми аналитическими методами (например, секвенированием нового поколения и кПЦР). Поскольку здоровые доноры имеют низкую концентрацию вкДНК в плазме (1,8–44 нг/мл), исследование однокопийных генов *ERV-3* и *MSTN*

проводилось с использованием метода кПЦР, чтобы продемонстрировать возможность обнаружения генов с небольшим количеством копий даже после более длительного хранения. Для обеспечения хорошего качества образца содержание вкДНК должно оставаться как можно более постоянным в течение всего периода хранения.

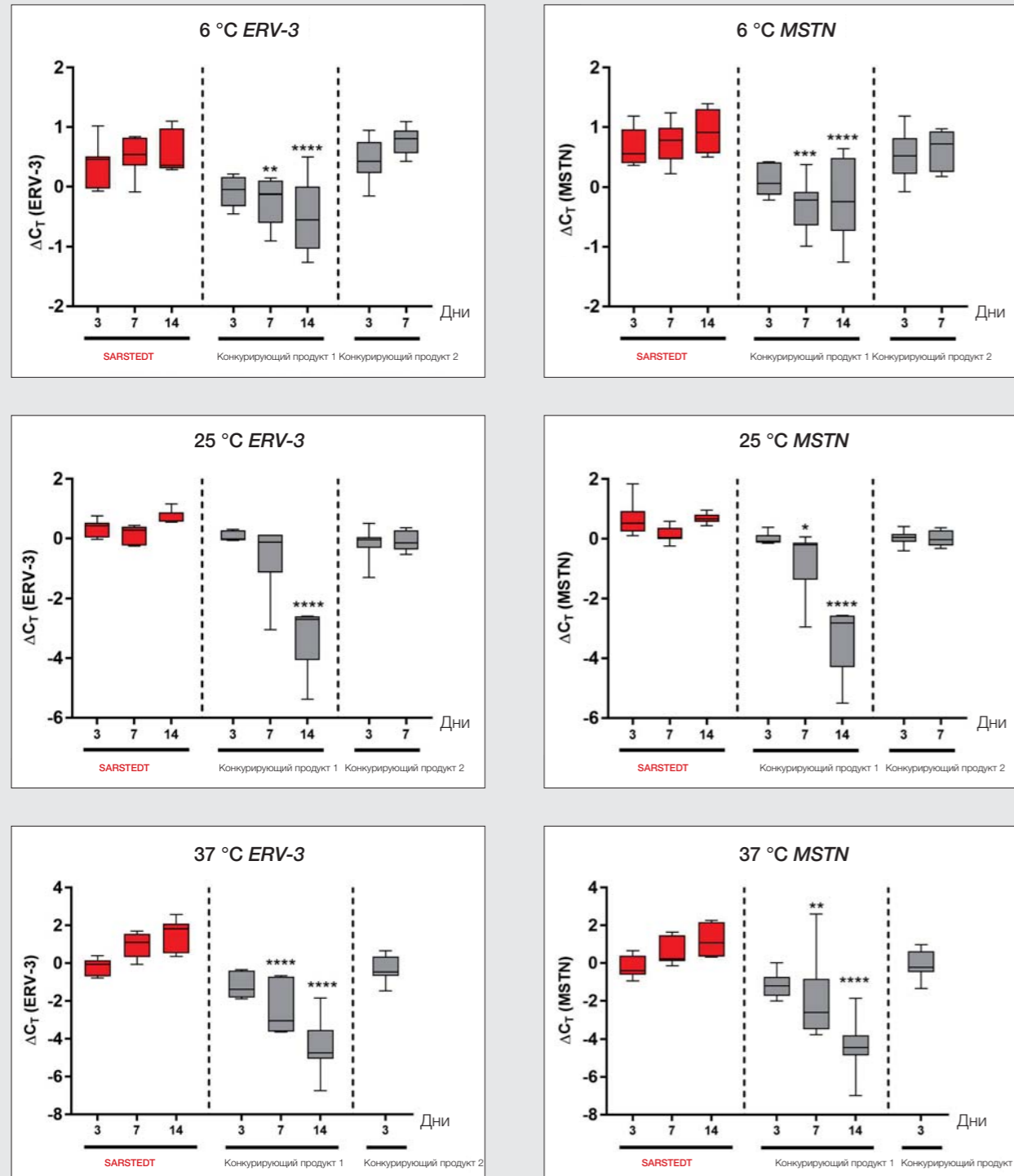


Рис. 3: ПЦР-анализ в реальном времени *ERV-3* и *MSTN* из образцов, стабилизированных с помощью S-Monovette® cfDNA Exact, по сравнению с продукцией других производителей. Все образцы выделялись с помощью комплекта InviMag® Free Circulating DNA Kit/G и устройства InviGenius® PLUS (Invitex Molecular). кПЦР проводилась при комнатной температуре с использованием системы Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) в термочиклере Mastercycler ep realplex 4S (Eppendorf) или qTOWER³ (Analytic Jena). Указанные значения дельта C_t представляют собой разности значений C_t во время исследования и в свежеприготовленных образцах (день 0). Для определения статистических данных был проведен двусторонний дисперсионный анализ (ANOVA): * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001 и **** < 0,0001

Вывод

Система S-Monovette® cfDNA Exact демонстрирует постоянную эффективность стабилизации в течение периода свыше 14 дней при температуре от 6 °C до 37 °C, в то время как при использовании конкурирующих продуктов отмечается частичное повышение показателей высвобождения гДНК в ходе хранения образца.

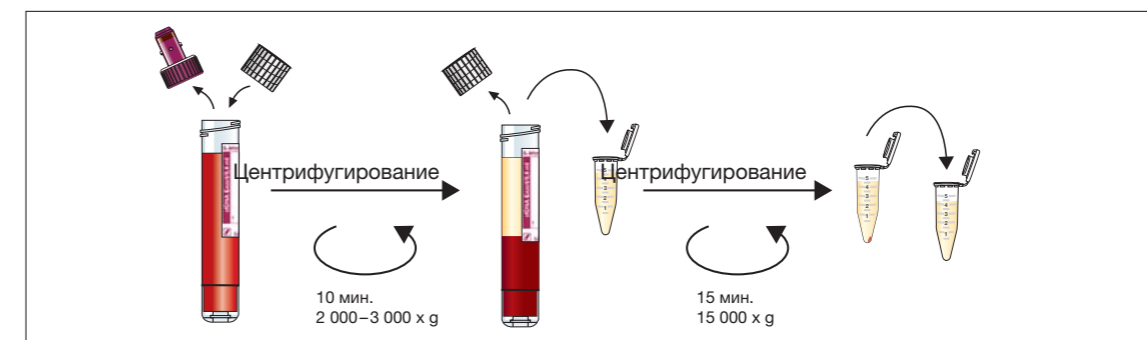


Характеристики

Объем образца: 9,2 мл (из них 8,4 мл крови)
Температура хранения перед заполнением: комнатная температура

Получение плазмы

Отделение плазмы для получения вкДНК представляет собой многоступенчатый процесс центрифугирования, который, в частности, может осуществляться следующим образом:



1. Замена красной завинчивающейся крышки прилагаемой крышкой для центрифугирования.
2. Центрифугирование в течение 10 мин. при ОЦУ 2 000 – 3 000 x g и при комнатной температуре.
3. Перенос плазмы в реакционные пробирки (например, кат. № 72.706.200 (1,5 мл), 72.695.200 (2,0 мл) или 72.701.400 (5,0 мл)).
4. Центрифугирование плазмы в течение 15 мин при ОЦУ 15 000 x g и комнатной температуре.
5. Перенос плазмы в новые пробирки для выделения вкДНК или для хранения (-80 °C) перед процедурой выделения.

ГИБКИЙ ВЫБОР СИСТЕМ ВЫДЕЛЕНИЯ



Совместимые системы выделения вДНК для использования с S-Monovette® cfDNA Exact

1. Ручные системы выделения

- NucleoSnap® DNA Plasma-Kit, Macherey-Nagel, кат. № 740300.50
- NucleoSpin Dx Blood, Macherey-Nagel, кат. № 740899.50
- QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit, Qiagen, кат. № 55114
- MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit, ThermoFisher Scientific, кат. № A293192

2. Автоматизированные системы выделения

- InviMag Free Circulating DNA Kit/IG, компания Invitek Molecular, кат. № 2439320400
- NextPrep-Mag cfDNA Isolation Kit, компания Perkin Elmer, кат. № NOVA-3825-03
- Chemagic cfNA 5k Kit special H24, компания Perkin Elmer, кат. № CMG-1104
- MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit, ThermoFisher Scientific, кат. № A293192

Информация для заказа

Кат. №	Наименование	Упаковка
01.2040.001	S-Monovette® cfDNA Exact*	20 шт. во внутренней упаковке / 80 шт. во внешней упаковке

* = крышки для центрифугирования в комплекте

Комплекующие

Кат. №	Наименование	Упаковка
65.729.100	Резьбовая крышка для пробирок Ø 15,3 мм	100 шт. во внутренней упаковке / 5 000 шт. во внешней упаковке
85.1638.235	Игла Safety-Multify® 21G с гибкой трубкой 200 мм и встроенным мультиадаптером	120 шт. во внутренней упаковке / 480 шт. во внешней упаковке
85.1640.235	Игла Safety-Multify® 23G с гибкой трубкой 200 мм и встроенным мультиадаптером	120 шт. во внутренней упаковке / 480 шт. во внешней упаковке
85.1642.235	Игла Safety-Multify® 25G с гибкой трубкой 200 мм и встроенным мультиадаптером	120 шт. во внутренней упаковке / 480 шт. во внешней упаковке
95.1006	Жгут венозный одноразовый tournistrip®	200 шт. во внешней упаковке
78.898	Защитный контейнер 126x30 мм с адсорбирующей вкладкой, без крышки	50 шт. во внутренней упаковке / 250 шт. во внешней упаковке
65.679	Резьбовая крышка для защитного контейнера 126x30 мм	50 шт. во внутренней упаковке / 250 шт. во внешней упаковке
95.900	Малая транспортировочная коробка 198 x 107 x 38 мм	50 шт. во внешней упаковке
95.901	Транспортировочная коробка 198 x 107 x 50 мм	50 шт. во внешней упаковке
95.902	Большая транспортировочная коробка 220 x 170 x 40 мм	50 шт. во внешней упаковке

Расходные материалы для ПЦР (планшеты, стрипы и отдельные пробирки для ПЦР), наконечники для пипеток и реакционные пробирки см. на сайте www.sarstedt.com.

ООО «САРШТЕДТ»

198517, Россия,
г. Санкт-Петербург, г. Петергоф,
ул. Новые Заводы, д. 58, корп. 4, стр.1

Тел: +7 495 937 52 28

info.ru@sarstedt.com

www.sarstedt.com

Если у вас имеются вопросы:
мы с радостью поможем вам!

Посетите наш сайт www.sarstedt.com