

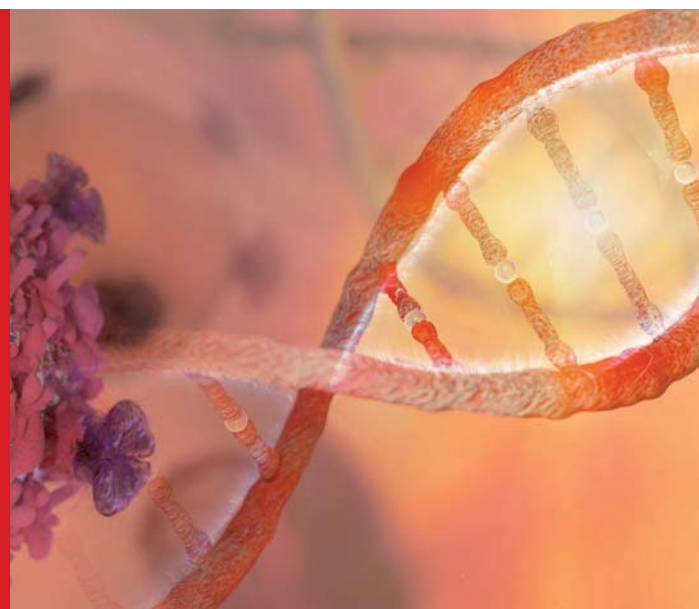
S-Monovette® cfDNA Exact

Per la standardizzazione nella
fase preanalitica di campioni
per biopsie liquide



Vantaggi della S-Monovette® cfDNA Exact:

- ✓ Possibilità di prelievo ematico tramite tecnica di aspirazione e sottovuoto
- ✓ Bassa emolisi, anche a temperature elevate
- ✓ Nessuna contaminazione di gDNA da cellule nucleate
- ✓ Compatibile con molteplici analisi successive



Il biomarcatore DNA libero (ingl. cell free DNA; cfDNA) svolge un ruolo crescente nel riconoscimento precoce di rigetti di trapianto, nei test prenatali non invasivi, nella caratterizzazione molecolare e nel monitoraggio terapeutico di malattie tumorali. Importanti fattori preanalitici per una buona qualità del campione di cfDNA sono la protezione del cfDNA da

degradazioni e l'impedimento della dispersione di DNA genomico (gDNA) da cellule ematiche nucleate. L'innovativa S-Monovette® cfDNA Exact assicura un'eccellente qualità del campione nonché risultati esatti con una capacità di stabilizzazione garantita per **14 giorni a 4-37 °C**.

Analisi della grandezza dei frammenti dei campioni ematici conservati

Contrariamente ai prodotti della concorrenza, l'innovativa preparazione della S-Monovette® cfDNA Exact impedisce la contaminazione di gDNA da cellule nucleate:

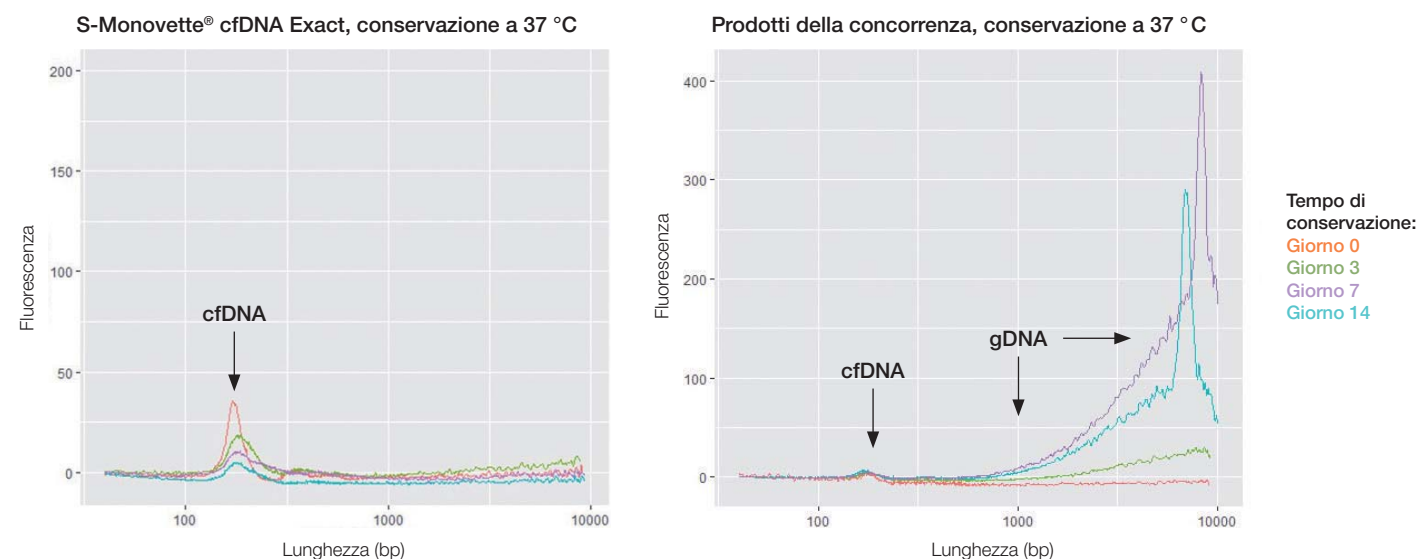


Fig. 1: I campioni ematici sono stati conservati prima dell'isolamento del cfDNA tra 0 e 14 giorni a 37 °C (vedi legenda). Le dimensioni dei frammenti sono state determinate mediante elettroforesi (Bioanalyzer 2100, Agilent) e l'isolamento ha avuto luogo utilizzando il kit IG InviMag® Free Circulating DNA e l'apparecchio InviGenius® PLUS (InvitexMolecular).

Risultato

La S-Monovette® cfDNA Exact mostra una capacità di stabilizzazione inalterata mentre, al contrario, nei prodotti della concorrenza è rilevabile una dispersione crescente di gDNA durante il periodo di conservazione, il che comporta la possibile inutilizzabilità del campione per le successive analisi.

Valori di emolisi minimi

L'emolisi è una misura dello stress cellulare e indica la distruzione delle cellule del sangue durante il prelievo dei campioni. Durante il prelievo, la lisi delle cellule ematiche influisce direttamente sulla contaminazione mediante gDNA da parte delle cellule nucleate presenti nel campione. È già stato dimostrato che l'emolisi *in vitro* può essere associata a un aumento delle concentrazioni di cfDNA plasmatico da gDNA delle cellule distrutte durante il prelievo del campione. (El Messaoudi S, Rolet F, Moulere 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>).

Di conseguenza, per tutte le analisi della sequenza del cfDNA è importante evitare l'emolisi. La tecnica di aspirazione delicata utilizzata per il prelievo del campione con la S-Monovette® cfDNA Exact garantisce la minima emolisi possibile. Di seguito sono riportati i valori di emolisi della S-Monovette® cfDNA Exact rispetto ad altri prodotti stabilizzanti del cfDNA della concorrenza disponibili in commercio per il tempo di stabilizzazione di volta in volta specificato.

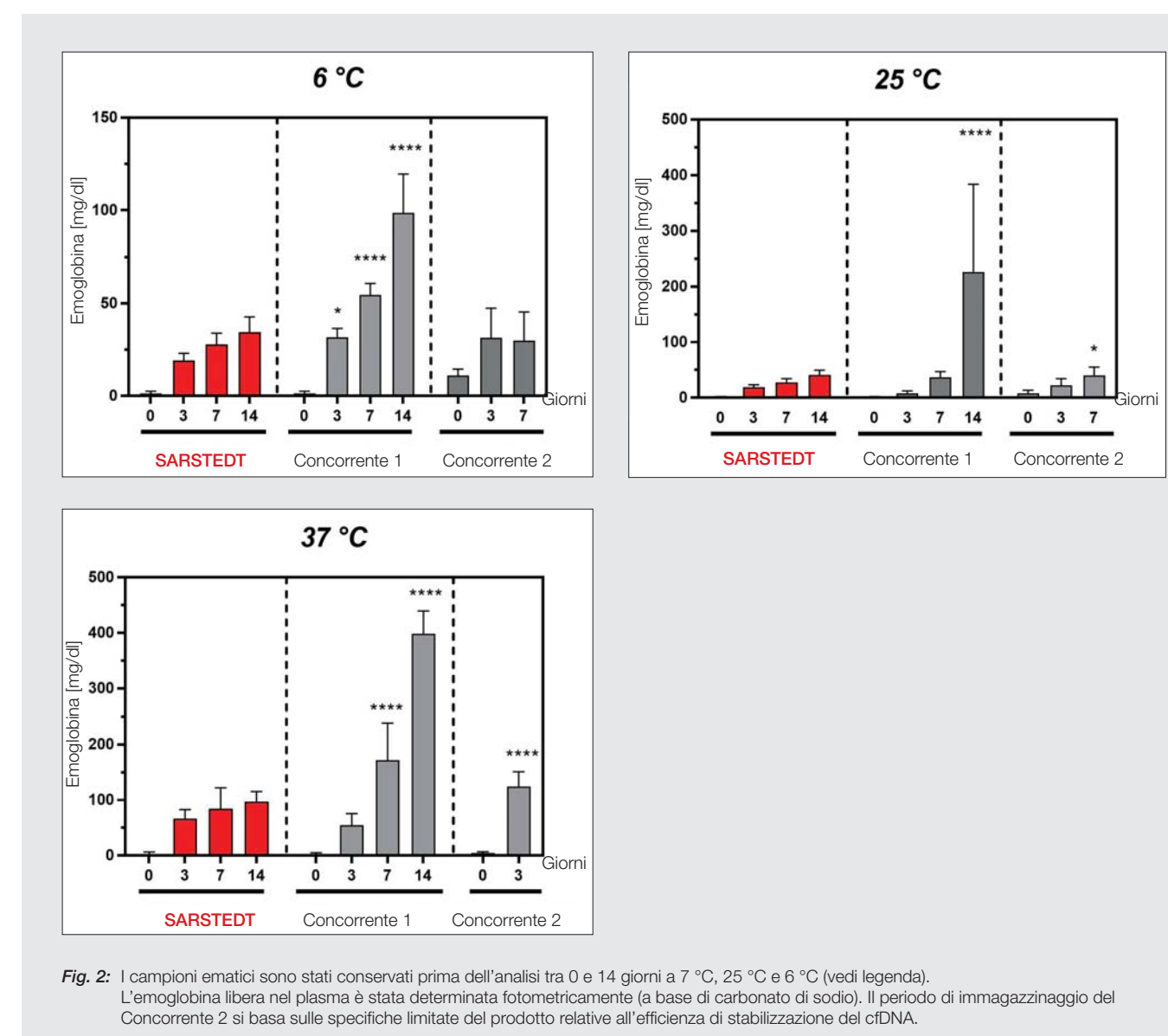


Fig. 2: I campioni ematici sono stati conservati prima dell'analisi tra 0 e 14 giorni a 7 °C, 25 °C e 6 °C (vedi legenda). L'emoglobina libera nel plasma è stata determinata fotometricamente (a base di carbonato di sodio). Il periodo di immagazzinaggio del Concorrente 2 si basa sulle specifiche limitate del prodotto relative all'efficienza di stabilizzazione del cfDNA.

Risultato

Il prelievo del campione con la S-Monovette® cfDNA Exact è superiore a tutti gli altri prodotti concorrenti testati per quanto riguarda la potenziale emolisi.

Gene di riferimento analizzato

Dopo l'isolamento, il cfDNA stabilizzato con la S-Monovette® cfDNA Exact è compatibile con tutti i metodi di analisi (ad es. NGS & qPCR). Poiché la concentrazione di plasma cfDNA in donatori sani è bassa (1,8 - 44 ng/ml), i single-copy gene *ERV-3* & *MSTN* sono stati analizzati tramite qPCR al fine di dimostrare

che può essere provata la presenza di geni con numero di copie limitato anche dopo un lungo tempo di conservazione. Per una buona qualità del campione, la parte di cfDNA deve rimanere il più possibile costante per il tempo di conservazione.

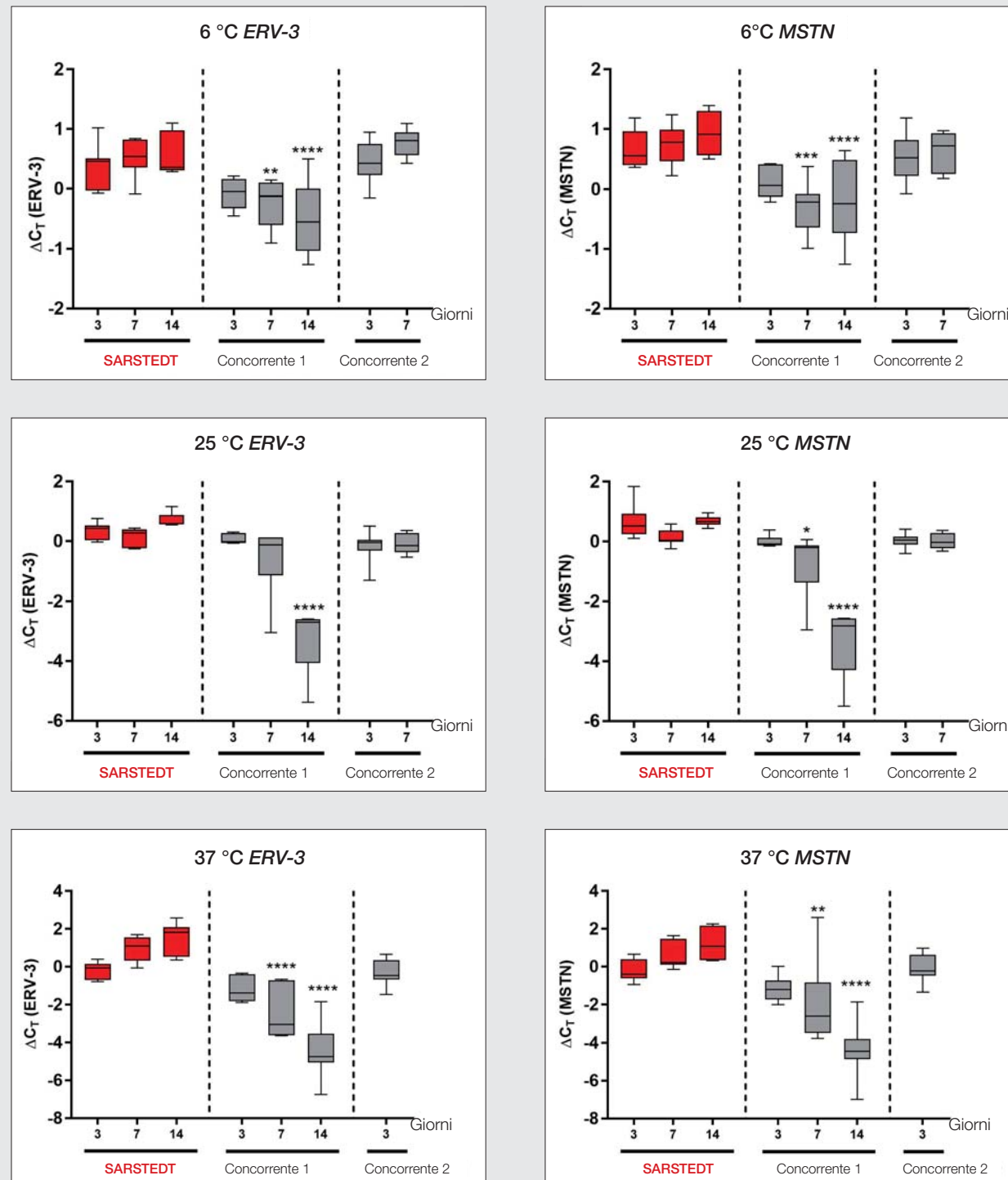


Fig. 3: Analisi real-time PCR di *ERV-3* & *MSTN* da S-Monovette® cfDNA Exact di campioni stabilizzati in confronto a prodotti di altri fabbricanti. Tutti i campioni sono stati isolati con il Kit InviMag® Free Circulating DNA / IG e l'apparecchio InviGenius® PLUS (Invitex Molecular). Le analisi RT-qPCR sono state eseguite con Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) su un Mastercycler ep realplex 4S (Eppendorf) o con qTOWER³ (Analytic Jena). I valori delta C_T indicati rappresentano la differenza dal valore C_T al momento dell'analisi e dei campioni appena preparati al giorno 0. I risultati statistici sono stati rilevati tramite analisi della varianza (ANOVA) a due vie: * <0,05, ** <0,01, *** <0,001 & **** <0,0001

Risultato

La S-Monovette® cfDNA Exact mostra per 14 giorni a 6-37 °C una capacità di stabilizzazione inalterata, mentre al contrario nei prodotti della concorrenza è stata in parte rilevata una dispersione crescente di gDNA durante il periodo di conservazione.

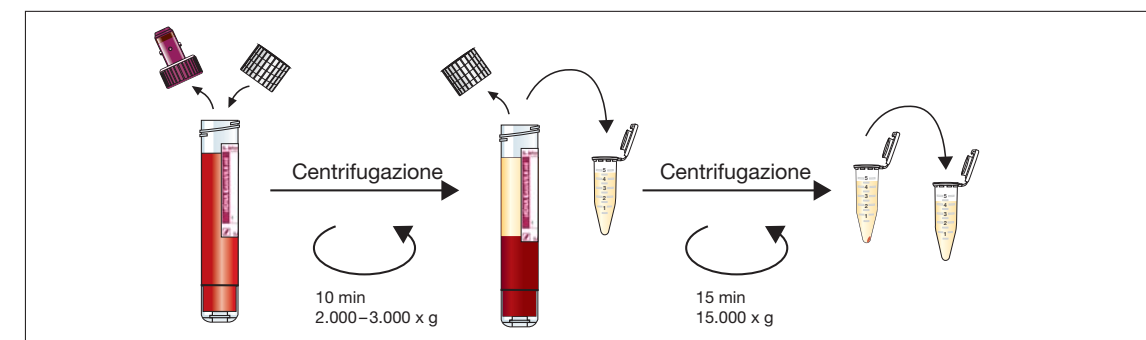


Specifiche

Volumi di campione: 9,2 ml (di cui 8,4 ml di sangue)
 Temperatura di conservazione prima del riempimento: temperatura ambiente

Produzione del plasma

La separazione del plasma per l'ottenimento di cfDNA è un processo di centrifugazione a più stadi che ad esempio si svolge come segue:



1. Sostituzione del tappo a vite rosso con il tappo di centrifugazione incluso.
2. Centrifugazione per 10 min a 2.000 – 3.000 giri a temperatura ambiente.
3. Trasferimento del plasma in provette di reazione (ad es. RIF 72.706.200 (1,5 ml), 72.695.200 (2,0 ml) o 72.701.400 (5,0 ml)).
4. Centrifugazione del plasma per 15 min a 15.000 giri a temperatura ambiente.
5. Trasferimento del plasma in nuove provette per isolare il cfDNA o a fini di conservazione (-80 °C) fino all'isolamento.

FLESSIBILITÀ NELLA SCELTA DEL SISTEMA DI ISOLAMENTO



Sistemi di isolamento cfDNA compatibili da utilizzare con la S-Monovette® cfDNA Exact

1. Sistemi di isolamento manuale

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

2. Sistemi di isolamento automatizzati

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

Informazioni d'ordine

N. d'ordine	Descrizione	Confezione
01.2040.001	S-Monovette® cfDNA Exact*	20 pezzi per scatola interna / 80 pezzi per scatola

* = tappi di centrifugazione sono inclusi nella dotazione

Accessori

N. d'ordine	Descrizione	Confezione
65.729.100	Tappo a vite, adatto a provette con Ø 15,3 mm	100 pezzi per scatola interna / 5.000 pezzi per scatola
85.1638.235	Ago Safety-Multify® 21G con tubo di 200 mm e adattatore multiplo montato	120 pezzi per pro scatola interna / 480 pezzi per scatola
85.1640.235	Ago Safety-Multify® 23G con tubo di 200 mm e adattatore multiplo montato	120 per scatola interna / 480 per scatola
85.1642.235	Ago Safety-Multify® 25G con tubo di 200 mm e adattatore multiplo montato	120 per scatola interna / 480 per scatola
95.1006	Laccio emostatico monouso tournistrip®	200 per scatola
78.898	Provetta di protezione 126x30 mm, con inserto assorbente, senza tappo	50 per scatola interna / 250 per scatola
65.679	Tappo a vite per provetta di protezione 126x30 mm	50 per scatola interna / 250 per scatola
95.900	Piccola scatola da spedizione 198x107x38 mm	50 per scatola
95.901	Scatola da spedizione 198x107x50 mm	50 per scatola
95.902	Grande scatola da spedizione 220x170x40 mm	50 per scatola

Ulteriori materiali di consumo per PCR (piastre, catene e provette singole PCR), puntali per pipette e provette di reazione sono disponibili alla pagina www.sarstedt.com.

SARSTEDT S.r.l.

Via Leonardo Da Vinci, 97
20090 Trezzano sul Naviglio (MI)

Tel: +39 02 38292413

Fax: +39 02 38292380

info.it@sarstedt.com

www.sarstedt.com

In caso di domande,
siamo a disposizione!

Visitate anche la nostra pagina Internet: www.sarstedt.com