

# S-Monovette® cfDNA Exact

Ke standardizaci  
preanalytické fáze  
vzorků Liquid Biopsy



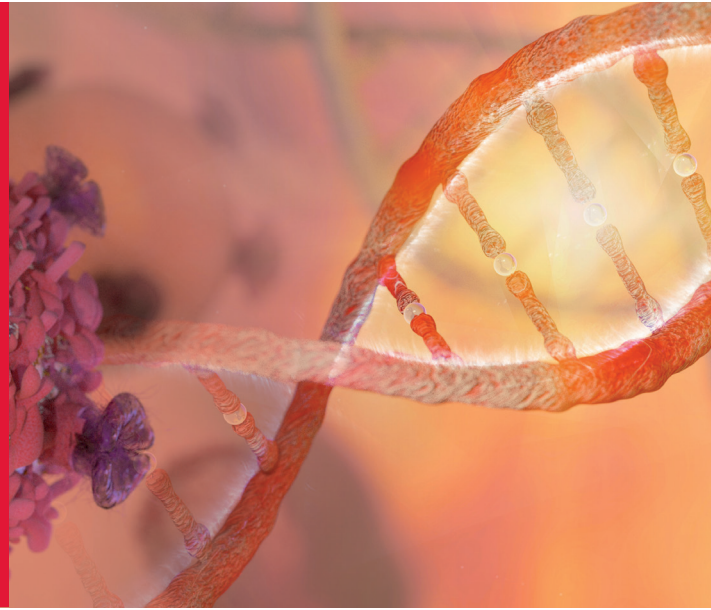
Molecular  
Diagnostic  
Workflow



SARSTEDT

# Výhody zkumavek S-Monovette® cfDNA Exact:

- ✓ Možnost odběru krve pomocí aspirační nebo vakuové techniky
- ✓ Snížení rizika hemolýzy i při vyšších teplotách
- ✓ Zabraňuje přenosu gDNA z jaderných buněk
- ✓ Kompatibilní s řadou následných analýz

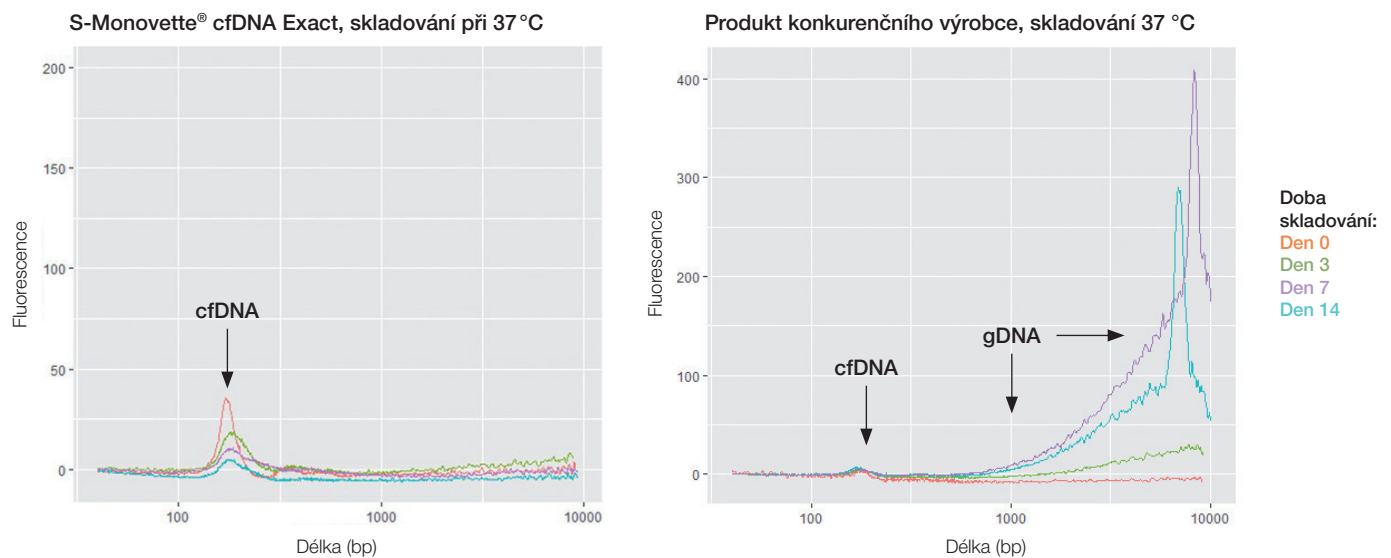


Bezbuňčá DNA biomarkeru (angl. cell free DNA; cfDNA) hraje stále větší roli při včasném rozpoznání odmítnutí transplantátu, neinvazivních prenatalních testech a také při molekulární charakterizaci a monitorování terapie nádorových onemocnění. Důležitými preanalytickými faktory pro dobrou kvalitu vzorků

cfDNA jsou ochrana cfDNA před degradací a zamezení uvolnění genomické DNA (gDNA) z jaderných buněk. 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 jaderných buněk:



**Obr. 1:** Vzorky krve byly před izolací cfDNA skladovány mezi 0 a 14 dní 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 (InvitexMolecular).

### Závěr

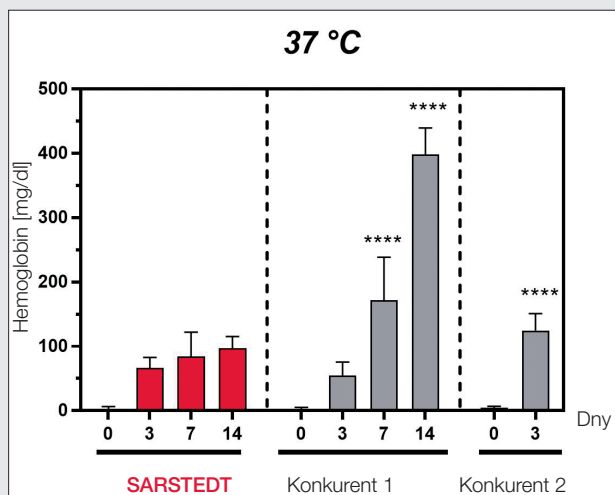
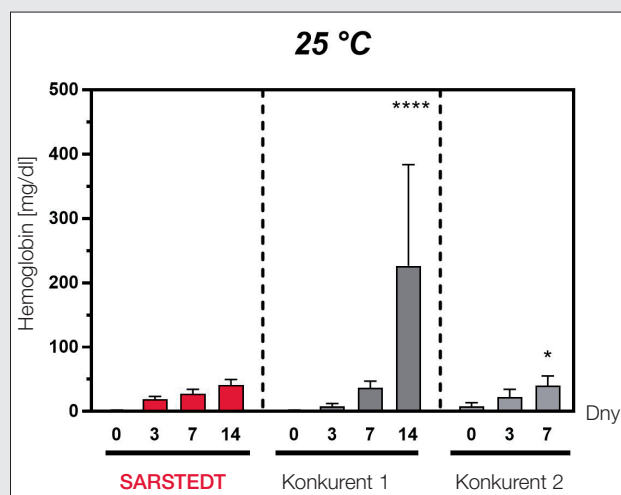
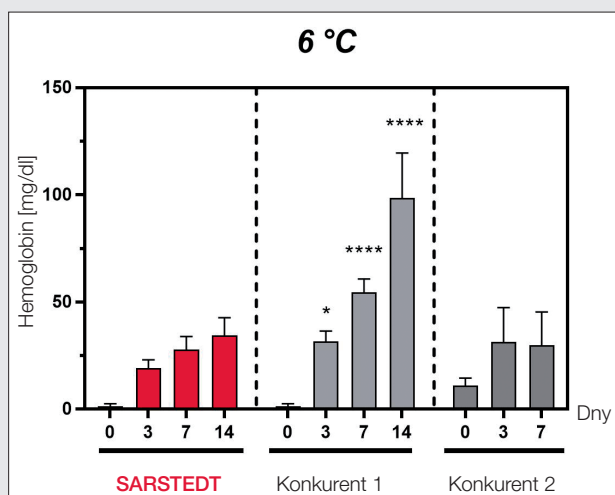
Zkumavka S-Monovette® cfDNA Exact vykazuje setrvalý stabilizační výkon, zatímco u produktu konkurenčního výrobce bylo po dobu uskladnění zjištěno narůstající zvýšené uvolňování gDNA, takže vzorek může být pro další analýzy nepoužitelný.

# 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 jadrových buněk. Již bylo prokázáno, že hemolýza *in-vitro* je možné spojovat se zvýšenými koncentracemi cfDNA v plazmě, která pochází z gDNA z buněk poškozených 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 jakékoliv 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 plazmě byl určen fotometricky (na základě uhlíčitanu sodného). Kratší doba skladování u konkurenta 2 je založena na omezené specifikaci produktu k stabilizačnímu výkonu cfDNA.

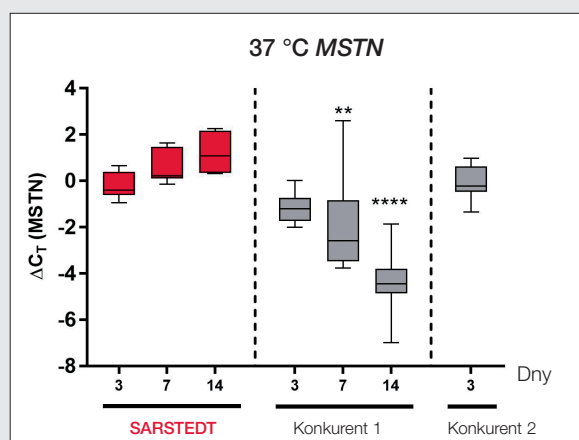
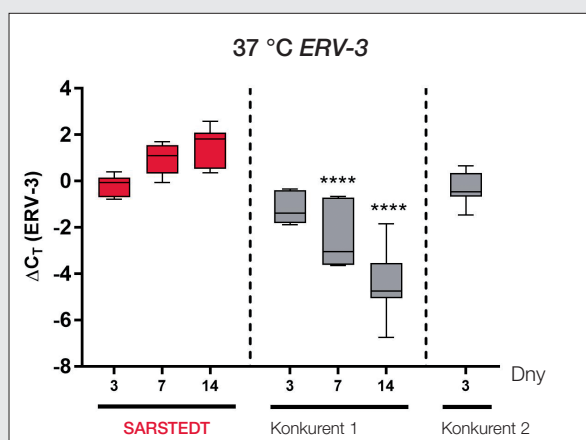
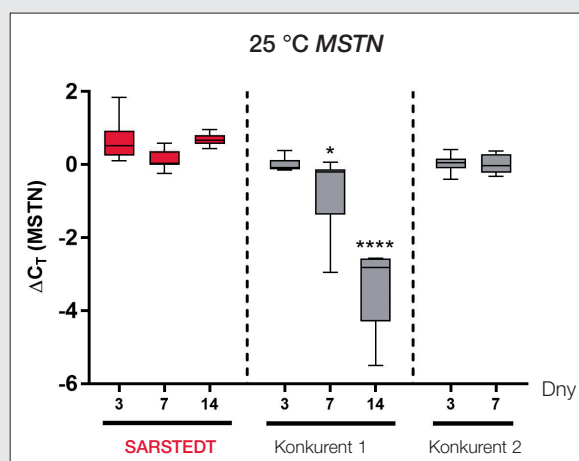
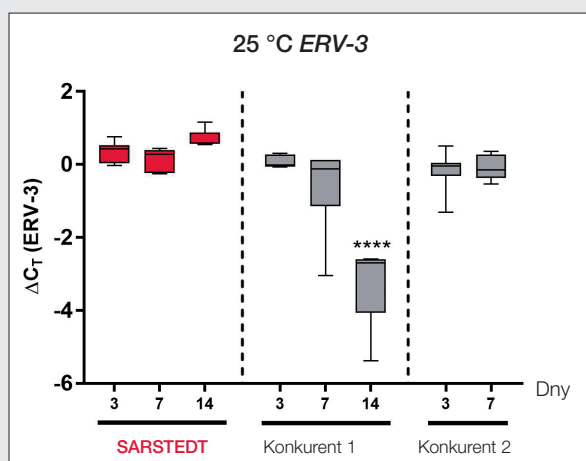
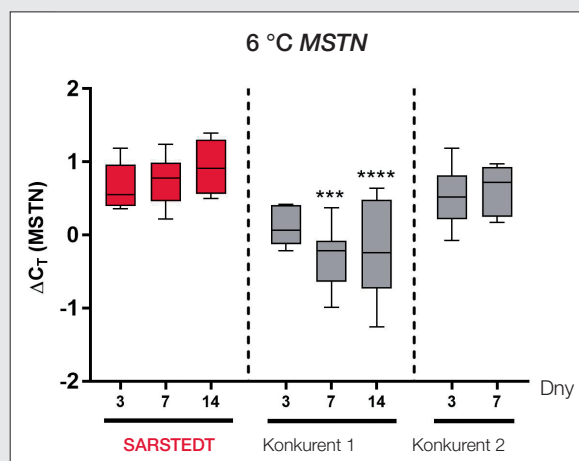
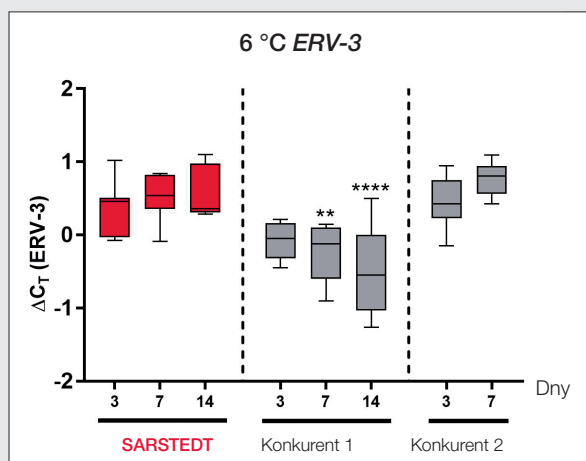
## Závěr

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.



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 (InvitrekMolecular). 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  $C_T$  představují rozdíl z hodnoty  $C_T$  času vyšetření a čerstvě připravených vzorků Den 0. Statistika byla zjištěna prostřednictvím dvoucestné analýzy rozptylu (ANOVA): \* < 0,05, \*\* < 0,01, \*\*\* < 0,001 & \*\*\*\* < 0,0001

## 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.

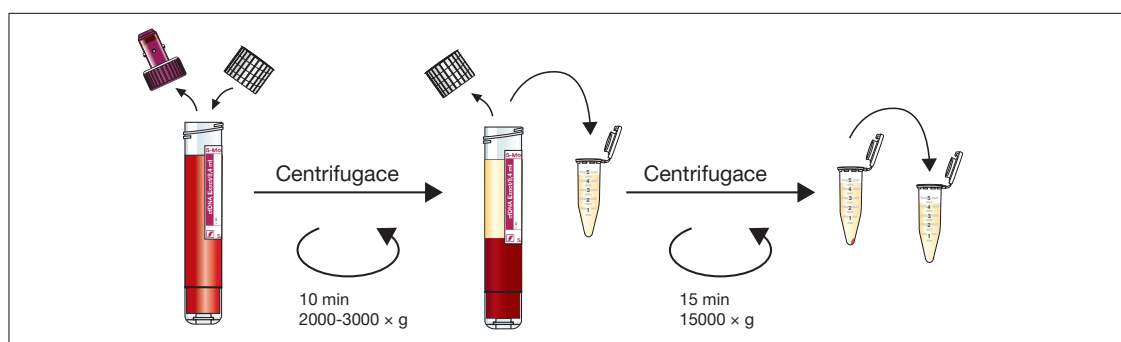


## Specifikace

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

## Výroba Příprava

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 pokojové teplotě.
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 pokojové teplotě.
5. Přepipetování plazmy do nové zkumavky pro izolaci cfDNA, popř. pro skladování (-80 °C) při pokojové teplotě.

# FLEXIBILNÍ PŘI VÝBĚRU SYSTÉMU IZOLACE

 MACHEREY-NAGEL

revvity

**INVITEK**  
Molecular

## 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. Revvity chemagen Technologie GmbH, REF NOVA-3825-03
- Sada Chemagic cfNA 5k Kit special H24, firmy Revvity chemagen Technologie GmbH, REF CMG-1104
- MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit, ThermoFisher Scientific, REF A293192



## Informace o objednávkce

Objednáací č.	Popis	Balení
01.2040.001	S-Monovette® cfDNA Exact*	20 kusů minimální balení / 80 kusů karton

\* = víčka pro centrifugaci jsou součástí dodávky

## Příslušenství

Objednáací č.	Popis	Balení
65.729.100	Šroubovací uzávěr, vhodné pro zkumavky Ø 15,3 mm	100 kusů minimální balení / 5000 kusů karton
85.1638.235	Jehla Safety-Multifly® 21G s hadičkou 200 mm s namontovaným multiadaptérem	120 kusů minimální balení / 480 kusů karton
85.1640.235	Jehla Safety-Multifly® 23G s hadičkou 200 mm s namontovaným multiadaptérem	120 kusů minimální balení / 480 kusů karton
85.1642.235	Jehla Safety-Multifly® 25G s hadičkou 200 mm s namontovaným multiadaptérem	120 kusů minimální balení / 480 kusů karton
95.1006	Jednorázové škrtilko tournistrip®	200 kusů karton
78.898	Ochranná nádobka 126x30 mm, se savou vložkou, bez uzávěru	50 kusů minimální balení / 250 kusů karton
65.679	Šroubovací uzávěr pro ochrannou zkumavku 126x30 mm	50 kusů minimální balení / 250 kusů karton
95.900	Přepravní krabička malá 198x107x38 mm	50 kusů karton
95.901	Přepravní krabička 198x107x50 mm	50 kusů karton
95.902	Přepravní krabička velká 220x170x40 mm	50 kusů karton

Další spotřební materiál pro PCR (PCR destičky, stripy 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

## Molekulárně diagnostický pracovní proces od firmy SARSTEDT

Využijte výhod našich vzájemně sladěných  
spotřebních materiálů!

