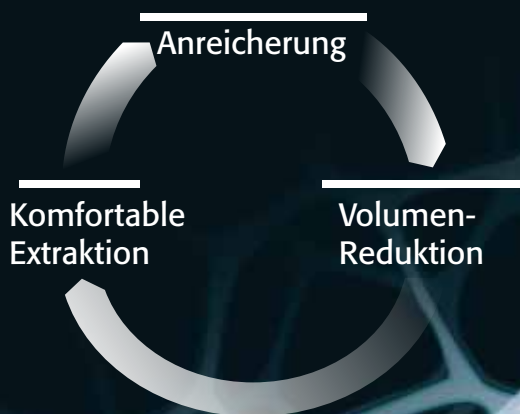


Effiziente Isolierung frei zirkulierender DNA

Polymer Mediated Enrichment eröffnet neue Welten

- Einfachstes Handling, hohe Effizienz und extrem zeitsparend
- Bearbeitung von Probenvolumina bis zu 10 ml
- Positiv getestet für Urin (bis zu 10 ml), Serum und Plasma aus unterschiedlichen Blutentnahmebestecken

So funktioniert PME



Produktbeschreibung

Ob Stoffwechselerkrankungen, Pränataldiagnostik oder Sportmedizin – je früher und genauer verlässliche diagnostische Ergebnisse vorliegen, desto größer die Heilungschancen. Mit dem PME free-circulating DNA Extraction Kit bietet die Analytik Jena AG ein innovatives Produkt für ein Applikationsfeld an, das kontinuierlich an Bedeutung gewinnt. Gerade in der modernen Tumordiagnostik können anhand der Untersuchung zirkulierender zellfreier DNA wertvolle Informationen zur Früherkennung und zum Verlauf von Krebserkrankungen gewonnen werden.

Das Kit beruht auf der neuartigen, (zum Patent angemeldeten) PME-Technologie (Polymer-Mediated-Enrichment) und ist ein konkurrenzlos effizientes Verfahren zur Anreicherung und Isolierung frei zirkulierender DNA. Obwohl die Menge der frei-zirkulierenden DNA sehr gering ist und die Nukleinsäuren nur als kurze Fragmente (< 1000 nt) zur Verfügung stehen, liefert der Kit schnelle und zuverlässige Ergebnisse – bei einem minimalen Einsatz von Reagenzien.

In einem ersten Schritt wird die zell-freie DNA aus der Gesamtprobe durch ein Polymer gebunden. Im Anschluss wird der Komplex durch Zentrifugation pelletiert. In einem letzten Schritt wird die gebundene Nukleinsäure in einem speziellen Puffer gelöst, wodurch das Probenvolumen für die nachfolgende Extraktion signifikant reduziert wird.

Produktspezifikationen

Ausgangsmaterial:

- Serum und Plasma (bis zu 5 ml)
- Überstände aus Zellkulturen oder Medien (bis zu 5 ml)
- Andere zellfreie Körperflüssigkeiten (bis zu 5 ml)
- Urinproben (bis zu 10 ml)

Extraktionszeit:

- Aus 1 ml Ausgangsvolumen: ca. 30 min
- Aus 2 ml bis 10 ml Ausgangsvolumen: ca. 1 h

Anwendungsbereiche:

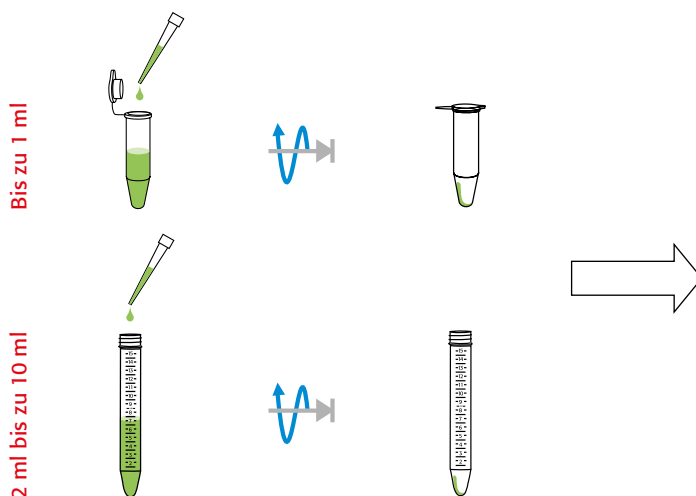
- Tumor- und Pränataldiagnostik
- Pathologische Zustände inklusive Trauma, Sepsis, Herzinfarkt, Schlaganfall, Transplantation, Diabetes mellitus und hämatologischen Störungen

Validierung

Positiv getestet für die folgenden Blutentnahmebestecke:

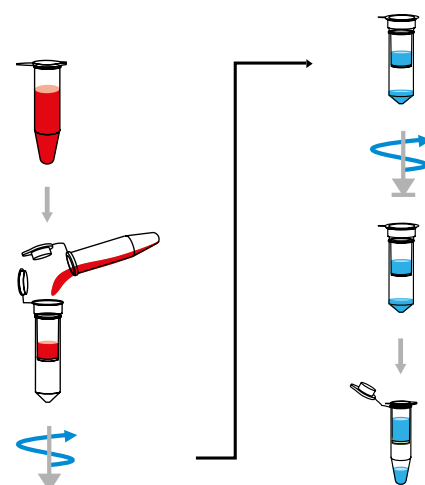
Nr.	Blutentnahmebestecke von Sarstedt
1.	S-Monovette® 9 ml Silicat
2.	S-Monovette® 9 ml Polyacrylester Gel
3.	S-Monovette® 8,5 ml CPDA
4.	S-Monovette® 9 ml K3E (EDTA K ₃)
5.	S-Monovette® 10 ml 9NC (Trisodium Citrate Solution, Citrate Solution)
6.	S-Monovette® 7,5 ml NH (Natrium-Heparin)
7.	S-Monovette® 7,5 ml LH-Gel (Lithium-Heparin)
8.	S-Monovette® 9 ml LH (Lithium-Heparin)

Anreicherung frei-zirkulierender DNA



1. Bindung der zell-freien DNA im Polymer
2. Zentrifugation des Polymer/DNA-Komplexes

Extraktion frei-zirkulierender DNA



3. Lyse des Polymer/DNA-Komplexes
4. Binden der zellfreien DNA an den Spin Filter
5. Waschen der gebundenen DNA
6. Elution der DNA

Applikationsbeispiel

1. Extraktion zellfreier DNA aus Proben verschiedener Blutentnahmebestecke:

Neben der Variabilität unterschiedlicher Proben haben auch die verwendeten Blutentnahmebestecke einen großen Einfluss auf die Rückgewinnung der frei-zirkulierenden DNA. Aus diesem Grund wurden die oben genannten Blutentnahmebestecke getestet.

Test der Verwendbarkeit des PME free-circulating DNA Extraction Kit für 8 verschiedene Blutentnahmebestecke (oben gelistet) bei 2 unterschiedlichen Startvolumina der Seren bzw. des Plasmas (1 ml und 5 ml).

Die extrahierte zellfreie DNA wurde mittels Amplifikation einer humanspezifischen Target-Sequenz nachgewiesen.

2. Isolation frei-zirkulierender DNA mittels PME free-circulating DNA Extraction Kit im Vergleich zu einem Standard-Aufreinigungs-kit für zellfreie DNA:

Der PME free-circulating DNA Extraction Kit punktet nicht nur mit Bestwerten im Hinblick auf Geschwindigkeit und Effizienz. Auch die Performance überzeugt auf der ganzen Linie. Das zeigt sich besonders deutlich in Bezug auf einen vergleichbaren Kit des Marktführers.

Vergleich der Isolierung zellfreier DNA aus 1 ml und 5 ml Serum mittels PME-Technologie versus einem kommerziell erhältlichen Standard-Extraktionskit für frei-zirkulierende Nukleinsäuren. Im Anschluss an die Aufreinigung wurde die DNA durch die Amplifizierung der Gensequenz für den humanen Estrogenrezeptor 1 getestet.

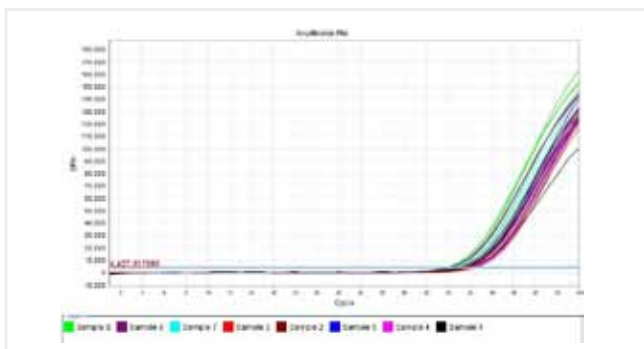


Abbildung 2: Amplifikationsplots nach der Präparation von 1 ml Ausgangsprobe

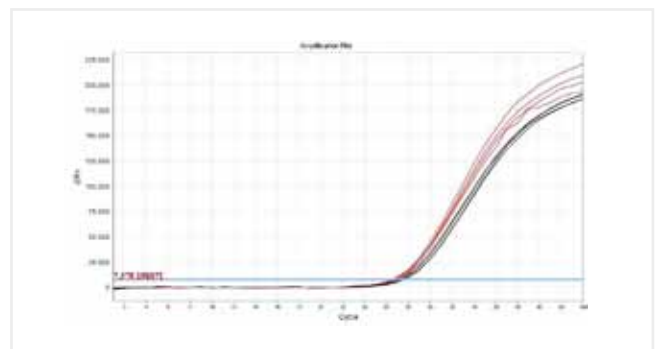


Abbildung 4: Amplifikationsplots nach der Präparation von 1 ml Ausgangsprobe

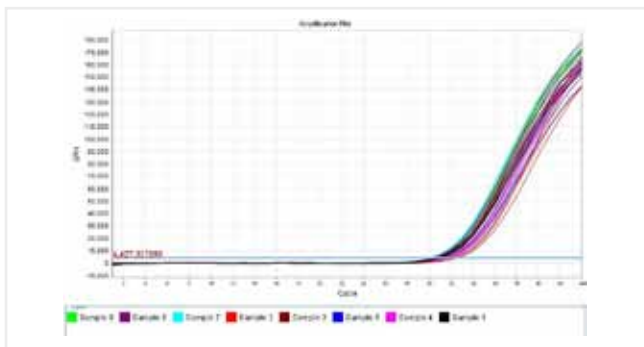


Abbildung 3: Amplifikationsplots nach der Präparation von 5 ml Ausgangsprobe

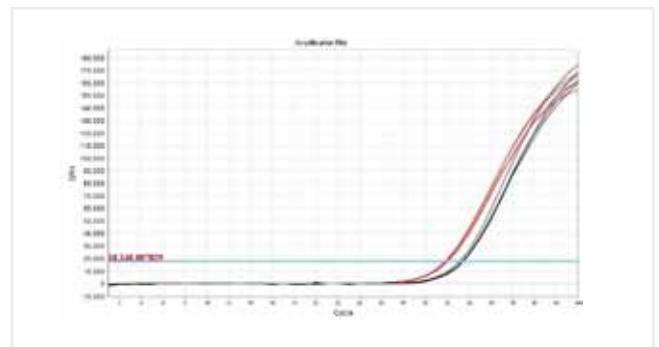


Abbildung 5: Amplifikationsplots nach der Präparation von 5 ml Ausgangsprobe

Die Amplifikationsplots zeigen Unterschiede in Abhängigkeit des verwendeten Blutentnahmebestecks. Die besten Ergebnisse wurden mit der S-Monovette® 9 ml LH (Lithium-Heparin, Sarstedt) oder der S-Monovette® 7,5 ml NH (Natrium-Heparin, Sarstedt) und der S-Monovette® 7,5 ml LH-Gel (Lithium-Heparin, Sarstedt) erzielt.

Die roten Graphen korrespondieren mit der Extraktion auf Basis der PME-Technologie und die schwarzen Kurven zeigen die Ergebnisse nach der Isolierung unter Nutzung des Wettbewerbsproduktes.

3. Anreicherung von frei zirkulierender DNA aus 5 ml und 10 ml Urin-Proben:

Mittels PME free-circulating DNA Extraction Kit können neben Plasma und Serum ebenso Urinproben prozessiert werden. Dabei garantiert das einsetzbare Ausgangsvolumen von bis zu 10 ml, dass die finale Konzentration an zell-freier DNA viele weitere Applikationen problemlos ermöglicht.

Extraktionen von frei zirkulierender DNA aus 5 ml und 10 ml Urin-Proben mit dem PME free-circulating DNA Extraction Kit: Anschließend wurde die frei zirkulierende DNA getestet und mit extrahierter DNA verglichen, welche aus einer maximalen prozessierbaren Urin-Probe (4 ml) mit einem Standard Extraktionskit (Marktführer) für zell-freie DNA gewonnen wurde. Die Kurven zeigen die Amplifikation eines human-spezifischen Gens.

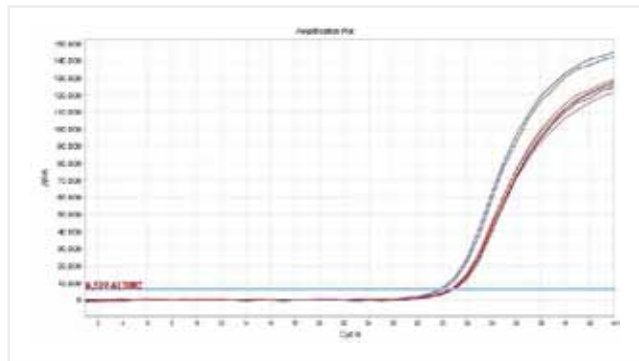


Abbildung 6: Die blauen und schwarzen Graphen entsprechen der Extraktion aus 10 ml und 5 ml Urin-Proben mittels PME-Technologie, die roten Graphen entsprechen der 4 ml Urin-Probe durch das Wettbewerbsprodukt.

Bestellinformation

PME free-circulating DNA Extraction Kit

Bestellnummer	Menge
845-IR-0003010	10 Reaktionen
845-IR-0003050	50 Reaktionen

Ergänzende Produkte

innuCONVERT Bisulfite Basic Kit

Bestellnummer	Menge
845-IC-1000008	8 Reaktionen
845-IC-1000040	40 Reaktionen
845-IC-1000080	80 Reaktionen

innuCONVERT Bisulfite All-in-One Kit

Bestellnummer	Menge
845-IC-2000008	8 Reaktionen
845-IC-2000040	40 Reaktionen
845-IC-2000080	80 Reaktionen

innuMIX qPCR MasterMix Probe

Bestellnummer	Menge
845-AS-1200100	100 Reaktionen
845-AS-1200200	200 Reaktionen

innuMIX qPCR MasterMix SyGreen

Bestellnummer	Menge
845-AS-1300100	100 Reaktionen
845-AS-1300200	200 Reaktionen

innuTaq HOT-A DNA Polymerase [5 U/μl]

Bestellnummer	Menge
845-EZ-3000500	500 Units

50x inNucleotide Mix (12,5 mM)

Bestellnummer	Menge
845-AS-9000100	2x 0,5 ml