

Mars 2017

Håndbok for AdnaTest ProstateCancerSelect og ProstateCancerDetect



12 (katalognummer 395432)



12 (katalognummer 396432)

For anriking av tumorceller fra fullblod hos pasienter med prostatakrefte og påvisning av prostatakrefte-assosiert genekspressjon i anrikede tumorceller
Til in vitro-diagnostisk bruk
Versjon 1



395432 (AdnaTest ProstateCancerSelect)
396432 (AdnaTest ProstateCancerDetect)



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND



1106692NO

Innhold

Tiltenkt bruk	4
Sammendrag og forklaring	4
Prosedyreprinsipp	5
AdnaTest ProstateCancerSelect	5
AdnaTest ProstateCancerDetect	5
Materialer som følger med	7
Settets innhold	7
Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med	9
AdnaTest ProstateCancerSelect	9
AdnaTest ProstateCancerDetect	10
Advarsler og forholdsregler	11
Sikkerhetsinformasjon	11
Informasjon om bruk	11
Patenter	11
Håndtering og oppbevaring av reagensekset	11
Oppbevaring	11
Håndtering	12
Håndtering og oppbevaring av prøver	13
Prøveklargjøring	13
Protokoll: Anriking av tumorceller med AdnaTest ProstateCancerSelect	14
Protokoll: Påvisning av prostatakreft-assosiert genekspressjon i anrikede tumorceller med AdnaTest ProstateCancerDetect	17

Protokoll: Multiplex- og singleplex-PCR	21
Tolking av resultater	24
Fragmentanalyse på Agilent 2100 Bioanalyser	24
Feilsøkningsveiledning	28
Kvalitetskontroll	28
Begrensninger	28
Ytelseegenskaper	29
Gjenfinning	29
Spesifisitet	29
Reproduserbarhet	30
Presisjon.....	30
Interfererende substanser.....	30
Interfererende betingelser	32
Kliniske studier	33
Referanse.....	34
Forkortelser	34
Symboler	35
Bestillingsinformasjon	36

Tiltenkt bruk

AdnaTest ProstateCancerSelect er en in vitro-diagnostisk metode beregnet på immunkjemisk anriking av sirkulerende tumorceller fra antikoagulerte fullblodsprøver hentet fra pasienter med prostatakreft, gjennom en kombinasjon av epiteliale og tumorassosierte antigener.

AdnaTest ProstateCancerDetect er en in vitro-diagnostisk analyse beregnet på analyse av ekspressionsprofiler for tumorceller ved revers transkripsjon og Multiplex-PCR samt påfølgende densitometrisk analyse av PCR-produktene ved automatisk kapillær elektroforese med Agilent® 2100 Bioanalyser.

AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect er ikke beregnet på screeningformål, og metoden skal ikke brukes som en diagnostisk test for å bekrefte forekomst av prostatakreft.

Produktet er beregnet for bruk av profesjonelle brukere, for eksempel teknikere og leger som har fått opplæring i molekylærbiologiske teknikker.

Sammendrag og forklaring

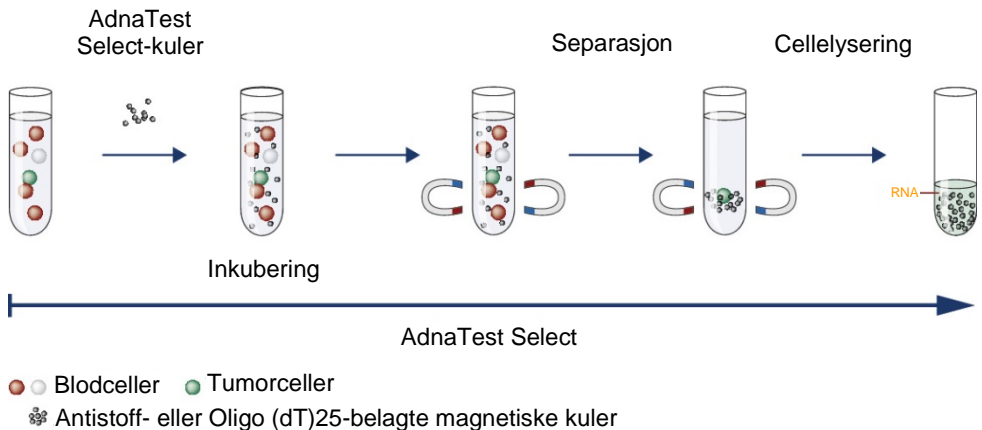
AdnaTest ProstateCancerSelect muliggjør immunmagnetisk anriking av tumorceller via epiteliale og tumorassosierte antigener. AdnaTest ProstateCancerDetect brukes til analyse av prostatakreft-assosiert genekspressjon i immunmagnetisk anrikede tumorceller ved revers transkripsjon og PCR.

Prosedyreprinsipp

AdnaTest ProstateCancerSelect

Antistoffer mot epiteliale og tumorassosierte antigener konjugert til magnetiske kuler for merking av tumorceller i fullblod. Merkede celler blir ekstrahert ved en magnetisk partikkelkonsentrator (AdnaMag-L og AdnaMag-S) og deretter lysert (figur 1).

Cellelysatsat blir brukt for videre analyse med AdnaTest ProstateCancerDetect.

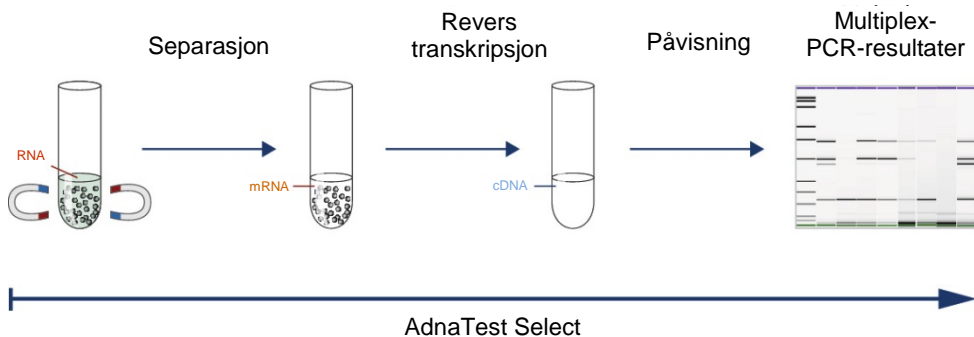


Figur 1. AdnaTest ProstateCancerSelect: Immunmagnetisk celleseleksjon med flere tumorassosierte antistoffer. I det første trinnet blir CTC-ene i blodet anriket (AdnaTest Select). Dette oppnås ved å bruke antistoffbelagte magnetiske partikler (kuler). Det brukes flere antistoffer, som binder med høy spesifisitet og affinitet til de tilsvarende kreftcellene. De anrikede cellene blir lysert og deretter renset flere ganger for å ekstrahere mRNA.

AdnaTest ProstateCancerDetect

AdnaTest ProstateCancerDetect inneholder Oligo (dT)₂₅-kuler for isolering av mRNA fra lysatet av forhåndsanrikede tumorceller. Revers transkripsjon gir cDNA som deretter brukes

som mal for påvisning av tumorceller og karakterisering av multiplex-PCR. AdnaTest PrimerMix ProstateDetect gjør det mulig med amplifikasjon av tre tumorassosierte antigener og ett kontrollgen. AdnaTest PrimerMix AR-Detect gjør det mulig med amplifikasjon av androgenreseptor (AR).



● Blodceller ● Tumorceller
 ⚙️ Antistoff- eller Oligo (dT)25-belagte magnetiske kuler

Figur 2. AdnaTest ProstateCancerDetect: Multiplex-PCR av ulike kreft-assosierte tumormarkører. I et andre trinn blir de anrikede cellene undersøkt ved RT-PCR for tumorassosierte ekspresjonsmønstre. mRNA-trådene blir omvendt transkribert til cDNA. Deretter kan flere assosierte tumormarkører amplifiseres med multiplex-PCR og visualiseres.

De to AdnaTest PrimerMixes genererer følgende fragmenter:

PrimerMix ProstateDetect

- PSMA: 449 bp
- PSA: 357 bp
- EGFR: 163 bp
- Aktin: 120 bp (intern PCR-kontroll)

PrimerMix AR-Detect

- AR: 440 bp

Merk: Fragmentstørrelser kan variere noe. Sørg for å bruke de positive AdnaTest-kontrollene ved tilordning av de påviste signalene.

Materialer som følger med

Settets innhold

AdnaTest ProstateCancerSelect			
Antall tester		12	
Katalognummer		395432	
Prøverør	Collection Tubes (Prøverør) (1,5 ml)	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	3 x 5
Prøverør	Collection Tubes (Prøverør) (1,5 ml)	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	24
Rød	ProstateSelect Beads (ProstateSelect-kuler)	PSB	1,2 ml
Rød	AdnaTest Lysis/Binding Buffer (AdnaTest lyserings- /bindingsbuffer)	LBB	2 x 1,2 ml
	Handbook (Håndbok)		1

AdnaTest ProstateCancerDetect			
Katalognr.			396432
Antall tester			12
AdnaTest RNA Reagents (AdnaTest RNA-reagenser)			Eske 1
Rød	AdnaTest Lysis/Binding Buffer (AdnaTest lyserings-/bindingsbuffer)	LBB	2 ml
Oransje	Oligo(dT)25 Beads (Oligo(dT)25-kuler)	OdT	280 µl
Hvit	RNA Purification Buffer A (RNA-rensebuffer A)	BA	4ml
Hvit	RNA Purification Buffer B (RNA-rensebuffer B)	BB	4ml
Lilla	Tris-HCL Buffer (Tris-HCL-buffer)	TB	2 ml
AdnaTest ProstateCancerDetect			Eske 2
Blå	AdnaTest PrimerMix ProstateDetect	PMP	144 µl
Oransje	AdnaTest Positive Control Prostate (C+) (Positiv AdnaTest-kontroll for prostata (C+))	CONTROL +	40 µl
Gul	AdnaTest PrimerMix AR-Detect	PMA	144 µl
Rosa	AdnaTest Positive Control AR (C+) (Positiv AdnaTest-kontroll for AR (C+))	CONTROL +	40 µl
	Handbook (Håndbok)		1

Det er tilstrekkelig med AdnaTest ProstateCancerDetect-reagenser til å analysere 6 PCR-kontroller og 12 blodprøver.

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablad (safety data sheet, SDS) som leveres av leverandøren av produktet, hvis du ønsker mer informasjon.

AdnaTest ProstateCancerSelect

Utstyr

- Rørrotator for 15 ml og 1,5 ml rør (f.eks. ELMi Ltd., katalognr. IMIX-03)
- Konsentratorer for magnetiske partikler
 - AdnaMag-L (katalognr. 399921)
 - AdnaMag-S (katalognr. 399911)

Materiale

- AdnaTube Tubes (AdnaTube-rør) (katalognr. 399932) ved arbeid med BD Vacutainer® ACD-A Tubes (BD Vacutainer® ACD-A-rør)
- Sterile, RNase-frie 10 ml glass- eller plastpipetter og pipetteringsenhet
- Sterile, RNase-free 1.5 ml reaction tubes (Sterile, RNase-frie 1,5 ml reagensrør) (f.eks. Sarstedt, katalognr. 72.690)
- Pipetter og RNase-frie pipettespisser med aerosolbarriere, egnet for pipetteringsvolumer fra 100 µl til 1000 µl

Reagenser

- Phosphate buffered saline (PBS), pH 7.0–7.3 (Fosfatbufret saltvann (PBS), pH 7,0–7,3) (f.eks. Fisher, katalognr. VX14190169, D-PBS)

AdnaTest ProstateCancerDetect

Utstyr

- Tube rotator for 1.5 ml tubes (Rørrotator for 1,5 rør) (f.eks. ELMI Ltd., katalognr. IMIX-03)
- Magnetic particle concentrator AdnaMag-S (AdnaMag-S-konsentrator for magnetiske partikler) (katalognr. 399911)
- Termoblokk eller et vannbad (65 °C)
- Termosyklus med oppvarmet lokk og en oppvarmingshastighet på 2 °C/s.
- Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies)

Materiale

- Sterile, RNase-frie 0,2 ml PCR-rør med tynn vegg
- Sterile, RNase-free 1.5 ml reaction tubes (Sterile, RNase-frie 1,5 ml reagensrør) (f.eks. Sarstedt, katalognr. 72.690)
- Pipetter og RNase-frie pipettespisser med aerosolbarriere, egnet for pipetteringsvolumer fra 1 µl til 200 µl

Reagenser

- Sensiscript® RT Kit (Sensiscript® RT-sett) (QIAGEN, katalognr. 205211, 50 reaksjoner)
 - **Merk:** Sensiscript RT-sett (katalognr. 205211) rekker kun til 25 prøver fordi det kreves dobbelt volum for hver reaksjon.
- Recombinant RNasin, RNase-inhibitor, 2500 U (Rekombinant RNasin, RNase-hemmer, 2500 E) (Promega, katalognr. N2511)
- HotStarTaq® Master Mix Kit (HotStarTaq® Master Mix-sett) (QIAGEN, katalognr. 203443, 250 E)
- Knust is

Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk bruk

Sikkerhetsinformasjon

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Du finner mer informasjon i de aktuelle sikkerhetsdatabladene (SDS). Disse er tilgjengelige i praktisk og kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety der du kan søke etter, vise og skrive ut sikkerhetsdatabladet for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.

Kast prøve- og analyseavfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer.

Informasjon om bruk

Disse testene må utføres av personell med kompetanse innen molekylærbiologiske teknikker.

Patenter

AdnaTest ProstateCancerDetect krever lisenser fra Hoffmann-La Roche AG, Basel. Kjøp av AdnaTest ProstateCancerDetect tillater ikke brukeren å utføre PCR uten lisens.

Håndtering og oppbevaring av reagenset

Oppbevaring

AdnaTest ProstateCancer-systemet leveres i tre esker. AdnaTest ProstateCancerSelect (katalognr. 395432) og AdnaTest RNA-reagens, eske 1 (eske 1 av katalognr. 396432) må oppbevares ved 2–8 °C. Komponentene må ikke brukes etter utløpt holdbarhetsdato.

AdnaTest ProstateCancerDetect, eske 2 (eske 2 av katalognr. 396432), som inneholder AdnaTest PrimerMixes og positive AdnaTest-kontroller må oppbevares adskilt ved -30 til -15 °C. Primerblandingen skal alikvoteres slik at mulig kontaminering og gjentatte temperaturendringer forhindres. Komponentene må ikke brukes etter utløpt holdbarhetsdato.

Håndtering

- ProstateSelect-kuler inneholder natriumazid som konserveringsmiddel. Natriumazid er cytotoxisk og må derfor fjernes før du bruker kulene. (Se "Protokoll: Anriking av tumorceller med AdnaTest ProstateCancerSelect", side 14.)
- Alle komponenter og ekstra reagenser som leveres av andre leverandører, må oppbevares i henhold til instruksjonene. Ta hensyn til den respektive produsentens sikkerhetsinformasjon.
- Bruk vernehansker for å unngå kontaminering med DNA, RNA og RNaser.
- Alikvoter ProstateSelect-kuler for å unngå kontaminering.
- Testen må utføres i angitt rekkefølge og må overholde alle spesifikasjoner angitt i forbindelse med inkubasjonstider og -temperaturer.
- Kast prøvene hvis seleksjonskulene agglutinerer under celleenriking.
- Utfør prøvebehandling, inkludert revers transkripsjon og påfølgende analyse av amplifiserte PCR-produkter, i forskjellige rom hvis det er mulig, for å unngå krysskontaminering.
- Bruk av produkter fra andre leverandører enn de som er foreslått, kan påvirke resultatene negativt.
- Ta hensyn til laboratoriets sikkerhets- og hygieneforskrifter (f.eks. bruk laboratoriefrakker, vernebriller og hansker).

Håndtering og oppbevaring av prøver

Prøveklargjøring

- Blodprøver må tas før bruk av terapeutiske stoffer. Ikke bruk AdnaTest ProstateCancerSelect tidligere enn 7 dager etter siste terapeutiske intervensjon!
- Blodprøvetaking: Hvis prøven skal transporteres i mindre enn 4 timer, bruker du rør som inneholder EDTA som antikoagulant (f.eks. S Monovette® K3 EDTA, Sarstedt [katalognr. 01.1605.001]) for å ta minst 7,5 ml fullblod.
- Hvis prøven skal transporteres i mer enn 4 timer, bruker du BD Vacutainer ACD-rør (Becton Dickinson GmbH, katalognr. 366645 [EU]; 364606 [US]) for å ta minst 8,5 ml fullblod. Før videre behandling med AdnaTest, må 5 ml ACD-A-blod overføres i et AdnaTube Sample Tube (AdnaTube-prøverør), katalognr. 399932.
- Blodet må oppbevares ved 4–8 °C umiddelbart.
- Prøvene skal behandles så snart som mulig, men ikke senere enn 4 timer etter blodprøvetaking ved bruk av standard EDTA-rør eller innen 30 timer ved bruk av BD Vacutainer-blodprøverør i kombinasjon med AdnaTubes.
- Blodprøven må ikke hemolyseres.

Protokoll: Anriking av tumorceller med AdnaTest ProstateCancerSelect

Viktige punkter før du starter

- Før du starter prosedyren, må du lese "Advarsler og forholdsregler" (side 11), "Håndtering og oppbevaring av reagenset" (side 11) og "Håndtering og oppbevaring av prøver" (side 13).
- Natriumazid må fjernes ved å vaske ProstateSelect-kulene før bruk, som beskrevet nedenfor i "Prosedyre A: Klargjøring av ProstateSelect-kuler".
- Prøverørene på 1,5 ml skal kun brukes til det angitte protokolltrinnet.

Ting du skal gjøre før du starter

- Forsikre deg om at AdnaTest lyserings-/bindingsbuffer er stabilisert til romtemperatur. Hvis det blir observert bunnfall, må reagenset stabiliseres til romtemperatur og blandes til bunnfallet er fullstendig oppløst.

Prosedyre A: Klargjøring av ProstateSelect-kuler

1. Resuspender ProstateSelect-kuler grundig ved pipettering. Skal ikke blandes i vorteksmikser!
2. Beregn volumet av ProstateSelect-kuler som trengs for alle prøver som skal behandles (100 µl per prøve), og overfør det beregnede volumet til et 1,5 ml reagensrør (følger ikke med).
Dersom mer enn 10 prøver behandles, skal flere 1,5 ml reagensrør brukes (følger ikke med).
3. Sett røret inn i AdnaMag-S.
4. Fjern supernatanten med en pipette etter 1 minutt.

Merk: Ikke ta på kulene når du fjerner supernatantene!

5. Vasketrinn:

- 5a. Fjern magnetskyveenheten fra AdnaMag-S.
 - 5b. Tilsett 1 ml PBS, og resuspender kulene ved gjentatt pipettering.
 - 5c. Sett magnetskyveenheten inn i AdnaMag-S.
 - 5d. Fjern supernatanten helt med en pipette etter 1 minutt.
 - 5e. Gjenta trinn 5a til 5d to ganger (tre vaskinger totalt).
6. Fjern røret fra AdnaMag-S, og resuspender kulene i PBS til originalvolumet (100 µl per prøve). Fortsett med "Prosedyre B: Seleksjon av tumorceller" nedenfor.

Prosedyre B: Seleksjon av tumorceller

1. Ved bruk av standard EDTA-rør pipetteres 5 ml av en blodprøve i et 15 ml prøverør. Ved bruk av ACD-A-blod i et BD Vacutainer ACD-A-rør overføres 5 ml blod i et AdnaTube.
Merk: AdnaTubes er obligatoriske ved bruk av BD Vacutainer ACD-A-rør.
2. Resuspender ProstateSelect-kuler grundig (klargjort i trinn 6 av prosedyre A) ved pipettering, og tilsett 100 µl av disse kulene i hver blodprøve.
3. Roter rørene langsomt (ca. 5 o/min) i 30 minutter ved romtemperatur på en enhet med både vippe- og dreiefunksjon.
4. Sett rørene inn i AdnaMag-L uten magnetskyveenheten. Snu AdnaMag-L nedover for å frigjøre kuler som er fanget i overdelen.
5. Sett inn magnetskyveenheten, og inkuber rørene i AdnaMag-L i 3 minutter ved romtemperatur.
6. Fjern blodsupernatanten helt med en 10 ml pipette uten å berøre kulene.
Merk: Ikke ta på kulene når du fjerner supernatantene!

7. Vasketrinn:

- 7a. Fjern magnetskyveenheten fra AdnaMag-L.
- 7b. Tilsett 5 ml PBS. Sett lokk på rørene, og rist *AdnaMag-L* forsiktig frem og tilbake 5 ganger for å resuspendere de magnetiske kulene/cellekomplekser.
- 7c. Snu AdnaMag-L med rørene vendt nedover to ganger for å frigjøre dråper som er fanget i overdelen.
- 7d. Sett magnetskyveenheten inn i AdnaMag-L, og inkuber i 1 minutt ved romtemperatur.
- 7e. Fjern supernatanten helt med en pipette.
- 7f. Gjenta trinn 7a til 7e to ganger (tre vaskinger totalt).

8. Fjern magnetskyveenheten fra AdnaMag-L.

9. Resuspender magnetiske kuler/cellekomplekser i 1 ml PBS, og overfør hver prøve til et 1,5 ml reagensrør (følger ikke med).

10. Sett reagensrørene inn i AdnaMag-S med en innsatt magnetskyveenhet.

Merk: Magnetskyveenheten til AdnaMag-S kan settes inn i to posisjoner. Skyveenheten må alltid settes inn med den hvite plastfilmen vendt fremover, slik at magnetene kommer ved siden av reagensrørene.

11. Etter 1 minutt skal supernatanten fjernes helt med en pipette for å optimalisere følgende cellelysning.

12. Fjern magnetskyveenheten fra AdnaMag-S.

13. Tilsett 200 µl AdnaTest lyserings-/bindingsbuffer (stabilisert til romtemperatur) i hvert reagensrør. Resuspender ved pipettering minst fem ganger.

14. Sett magnetskyveenheten inn i AdnaMag-S, og inkuber i 1 minutt.

15. Overfør supernatant (cellelysat) inn i nye 1,5 ml reagensrør (følger med).

16. Kast rørene med kulene.

17. Fortsett med mRNA-isolasjon (se "Protokoll: Påvisning av prostatakreft-assosiert genespresjon i anrikede tumorceller med AdnaTest ProstateCancerDetect", side 17) umiddelbart, eller oppbevar cellelysatsene ved -20°C i maksimalt 2 uker.

Protokoll: Påvisning av prostatakreft-assosiert genekspresjon i anrikede tumorceller med AdnaTest ProstateCancerDetect

Viktige punkter før du starter

- Før du starter prosedyren, les "Advarsler og forholdsregler" (side 11) og "Håndtering og oppbevaring av reagenset" (side 11).
- Prosedyrene A til C beskriver isolasjonen av mRNA og revers transkripsjon.
- Prøverørene på 1,5 ml skal kun brukes til det angitte protokolltrinnet.

Ting du skal gjøre før du starter

- Forsikre deg om at AdnaTest lyserings-/bindingsbuffer er stabilisert til romtemperatur. Hvis det blir observert bunnfall, må reagenset stabiliseres til romtemperatur og blandes til bunnfallet er fullstendig oppløst.
- Stabiliser RNA-rensbuffer A og RNA-rensbuffer B til romtemperatur. Legg Tris-HCL-buffer på is.
- Tin 10x buffer RT og dNTP-er fra Sensiscript RT-settet ved romtemperatur. Bland ved vorteksering. Sentrifuger et kort øyeblikk, og oppbevar på is. Tin RNase-fritt vann (del av Sensiscript-settet).
- Reguler en termoblokk eller et vannbad til 65 °C.

Prosedyre A: Klargjøring av Oligo(dT)₂₅-kuler

1. Resuspender Oligo(dT)₂₅-kulene grundig ved pipettering før bruk. Skal ikke blandes i vorteksmikser!
2. Beregn volumet av kulene som trengs for alle prøver som skal behandles (20 µl per prøve pluss 10 %), og overfør det beregnede volumet til et RNase-fritt 1,5 ml reagensrør (følger ikke med).

3. Sett røret inn i AdnaMag-S.

Merk: Magnetskyveenheten til AdnaMag-S kan settes inn i to posisjoner. Skyveenheten må alltid settes inn med den hvite plastfilmen vendt fremover, slik at magnetene kommer ved siden av reagensrørene.

4. Fjern supernatanten med en pipette etter 1 minutt.

5. Vasketrinn:

5a. Fjern magnetskyveenheten fra AdnaMag-S.

5b. Tilsett originalvolumet (trinn 2, side 17) med AdnaTest lyserings-/bindingsbuffer, og resuspender kulene ved gjentatt pipettering. Resuspender forsiktig for å unngå skumming.

5c. Sett magnetskyveenheten inn i AdnaMag-S.

5d. Fjern supernatanten helt etter 1 minutt.

5e. Gjenta trinn 5a til 5d én gang (to vaskinger totalt).

6. Fjern røret fra AdnaMag-S, og resuspender kulene i AdnaTest lyserings-/bindingsbuffer til originalvolumet (trinn 2, side 17). Fortsett med "Prosedyre B: mRNA-isolasjon".

Prosedyre B: mRNA-isolasjon

1. Tilsett 20 µl Oligo(dT)₂₅-kuler (trinn 6 over) i hvert rør som inneholder cellelysat (trinn 15, side 16).

2. Roter rørene langsomt (ca. 5 o/min) i 10 minutter ved romtemperatur på en enhet med både vippe- og dreiefunksjon.

3. Sett rørene inn i AdnaMag-S uten magnetskyveenheten. Snu AdnaMag-S nedover for å frigjøre kuler og væske som er fanget i overdelen.

4. Sett inn magnetskyveenheten, og fjern supernatanten etter 1 minutt.

5. Vasketrinn 1:

5a. Fjern magnetskyveenheten fra AdnaMag-S.

5b. Tilsett 100 µl RNA-rensbuffer A i hvert rør, og resuspender kulene ved gjentatt pipettering. Skyll korken og rørveggen grundig for å unngå tap av kuler.

- 5c. Sett magnetskyveenheten inn i AdnaMag-S.
 - 5d. Fjern supernatanten helt etter 1 minutt.
 - 5e. Gjenta trinn 5a til 5d én gang (to vaskinger totalt).
6. Vasketrinn 2:
- 6a. Fjern magnetskyveenheten fra AdnaMag-S.
 - 6b. Tilsett 100 µl RNA-rensbuffer B i hvert rør. Resuspender kulene ved pipettering, og overfør dem til nye 1,5 ml reagensrør (følger med).
 - 6c. Sett magnetskyveenheten inn i AdnaMag-S.
 - 6d. Fjern supernatanten helt etter 1 minutt. Dette trinnet må utføres nøye (følg med på pelleten) ettersom kulene kan gli og bli fjernet ved en feiltakelse.
 - 6e. Gjenta trinn 6a til 6d én gang i de samme reagensrørene (to vasker totalt).
7. Fjern magnetskyveenheten fra AdnaMag-S.
8. Tilsett 100 µl iskald Tris-HCL-buffer i hvert rør, og resuspender kulene ved gjentatt pipettering.
9. Sett magnetskyveenheten inn i AdnaMag-S.
10. Fjern supernatanten helt etter 1 minutt.
11. Fjern magnetskyveenheten fra AdnaMag-S.
12. Resuspender mRNA/kule-kompleks i 14,75 µl RNase-fritt vann.
13. Overfør rørene til en termoblokk eller et vannbad, og inkuber i 5 minutter ved 65 °C.
14. Legg rørene på is umiddelbart i minst 2 minutter.
15. Fortsett umiddelbart (innen 5 minutter) med revers transkripsjon (prosedyre C: Revers transkripsjon med Sensiscript RT-settet).
- mRNA/kule-komplekset skal ikke oppbevares!

Prosedyre (C): Revers transkripsjon med Sensiscript RT-settet

1. Klargjør RT Master Mix på is. RT Master Mix klargjøres som vist i tabell 1 i henhold til antall prøver.

Volumet av RT Master Mix skal være 10 % større enn beregnet for det totale antallet reaksjoner med revers transkripsjon. En negativ kontrollreaksjon uten tilsetning av mRNA må alltid være klargjort (RT-kontroll).

2. Vorteks RT Master Mix. Sentrifuger et kort øyeblikk, og pipetter 5,25 µl for hver reaksjon i 0,2 ml PCR-rør.
3. Resuspender mRNA/kule-kompleksene (trinn 12, side 19) forsiktig med en pipette. Overfør det totale volumet i 0,2 ml PCR-reagensrøret som inneholder RT Master Mix. Bland grundig ved gjentatt pipettering.

Tabell 1. Reaksjonsoppsett for revers transkripsjon

Komponent	Volum
RT Master Mix	
10 × buffer RT	2,0 µl
dNTP Mix (5 mM hver dNTP)	2,0 µl
RNase inhibitor (RNase-hemmer), 40 U/µl (Promega)	0,25 µl
Sensiscript Reverse Transcriptase (Sensiscript revers transkriptase)	1,0 µl
Mal-RNA*	14,75 µl
mRNA/bead complex or RNase free water (mRNA/kule-kompleks eller RNase-fritt vann)	
Totalt volum	20,0 µl

* Som RT-kontroll skal det tilsettes 14,75 µl RNase-fritt vann i stedet for mRNA/kule-kompleks. Volumet av mRNA/kule-komplekset kan variere noe. Bruk uansett hele volumet til revers transkripsjon!

4. cDNA blir syntetisert i en termosyklus under følgende betingelser (tabell 2).

Tabell 2. Program for revers transkripsjon

Temperatur	Klokkeslett
37°C	60 minutter
93°C	5 minutter
4°C	∞

5. Legg reagensrør med cDNA på is, eller oppbevar dem ved -20 °C i maksimalt 4 uker. Fortsett med "Protokoll: Multiplex- og singleplex-PCR", side 20.

Protokoll: Multiplex- og singleplex-PCR

Viktig punkt før du starter

- Før du starter prosedyren, les "Advarsler og forholdsregler" (side 11) og "Håndtering og oppbevaring av reagenset" (side 11).

Ting du skal gjøre før du starter

- Tin HotStarTaq Master Mix (QIAGEN), AdnaTest PrimerMix ProstateDetect, positiv AdnaTest-kontroll for prostata, AdnaTest PrimerMix AR-Detect, positiv AdnaTest-kontroll for AR og RNase-fritt vann. Vorteks, sentrifuger raskt, og oppbevar på is.

Prosedyre A: Multiplex-PCR (AdnaTest ProstateDetect)

1. PCR Master Mix klargjøres som vist i tabell 3 i henhold til antall prøver.

Volumberegningen av PCR Master Mix skal inkludere minst 10 % ekstra volum. Vær oppmerksom på at en positiv AdnaTest-kontroll for prostata, RNase-fritt vann som negativ kontroll og RT-kontrollen alltid må være inkludert.

2. For hvert preparat skal 21,0 µl PCR Master Mix pipetteres til 0,2 ml PCR-reagensrør. Resuspender cDNA/kule-blanding ved pipettering, og tilsett 4,0 µl av denne i hvert reagensrør.

Merk: Som negativ kontroll skal det tilsettes 4,0 µl RNase-fritt vann i stedet for cDNA.

Tabell 3. Klargjøring av multiplex-PCR

Komponent	Volum
Multiplex-PCR Master Mix	
HotStarTaq Master Mix	12,5 µl
RNase-free water (RNase-fritt vann)	4,5 µl
PrimerMix ProstateDetect	4,0 µl
cDNA eller RT-kontroll eller negativ kontroll (RNase-fritt vann) eller positiv kontroll (C+) hver:	4,0 µl
Totalt volum	25,0 µl

3. En termosyklus brukes til PCR i henhold til programmet som er beskrevet i tabell 4. Kjør termosyklusen med en rampe på 2 °C/sekund. PCR blir utført med totalt 42 sykluser.

Tabell 4. PCR-syklusprogram

	Temperatur	Klokkeslett
Innledende aktiveringstrinn:	95°C	15 minutter
3-trinns syklus		
Denaturering:	94 °C	30 sekunder
Temperering:	61°C	30 sekunder
Forlengelse:	72°C	30 sekunder
Antall sykluser:	42	
Endelig forlengelse:	72°C	10 minutter
Nedkjøling:	4°C	∞

Prosedyre B: Singleplex-PCR (AdnaTest AR-Detect)

1. PCR Master Mix klargjøres som vist i tabell 5 i henhold til antall prøver.

Volumberegningen av PCR Master Mix skal inkludere minst 10 % ekstra volum. Vær oppmerksom på at en positiv AdnaTest-kontroll, RNase-fritt vann som negativ kontroll og RT-kontrollen alltid må være inkludert.

2. For hvert preparat skal 21,0 µl PCR Master Mix pipetteres til 0,2 ml PCR-reagensrør. Resuspender cDNA/kule-blanding ved pipettering, og tilsett 4,0 µl av denne i hvert reagensrør.

Merk: Som negativ kontroll skal det tilsettes 4,0 µl RNase-fritt vann i stedet for cDNA.

Tabell 5. Klargjøring av singleplex-PCR

Komponent	Volum
Singleplex-PCR Master Mix	
HotStarTaq Master Mix	12,5 µl
RNase-free water (RNase-fritt vann)	4,5 µl
PrimerMix AR-Detect	4,0 µl
cDNA eller RT-kontroll eller negativ kontroll (RNase-fritt vann) eller positiv kontroll (C+) hver:	4,0 µl
Totalt volum	25,0 µl

3. En termosyklus brukes til PCR i henhold til programmet som er beskrevet i tabell 6. Kjør termosykleren med en rampe på 2 °C/sekund. PCR blir utført med totalt 35 sykluser.

Tabell 6. PCR-syklusprogram

	Temperatur	Klokkeslett
Innledende aktiveringstrinn:	95°C	15 minutter
3-trinns syklus (35 sykluser)		
Denaturering:	94 °C	30 sekunder
Temperering:	60°C	30 sekunder
Forlengelse:	72°C	60 sekunder
Antall sykluser:	35	
Endelig forlengelse:	72°C	10 minutter
Nedkjøling:	4°C	∞

Tolking av resultater

Fragmentanalyse på Agilent 2100 Bioanalyzer

Analyse utføres med Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) på en DNA 1000 LabChip®. Følg instruksjonene i brukerhåndboken for DNA 1000 LabChip, og sørg for at ingen kuler overføres til LabChip. Magnetiske kuler i gelen kan føre til ugyldige resultater.

1. Start Bioanalyzer-programvaren **2100 expert**. Velg **Instrument** under **Contexts** (Kontekster), og klikk deretter på knappen **Assay** (Analyse) ved siden av **Assay Selection** (Analysevalg).
2. Velg **Electrophoresis > DNA 1000 Series II.xsy** (Elektroferese > DNA 1000 Series II.xsy). Klargjør brikken, og start analyseringen.
3. Angi en terskel for påvisning for å evaluere resultatene:
 - 3a. Velg **Data** under **Contexts**, og klikk deretter på fanen **Assay Properties** (Analyseegenskaper). Velg **Global** og **Normal** i rullegardinmenyen til høyre.

- 3b. Velg **Sample Setpoints > Integrator > height threshold (FU)** (Innstillingspunkter for prøver > Integrator > høydeterskel (FU), og angi denne verdien som **0** (standardverdi er **20**) for å påvise alle signaler.

Analyse av resultatene for AdnaTest ProstateDetect

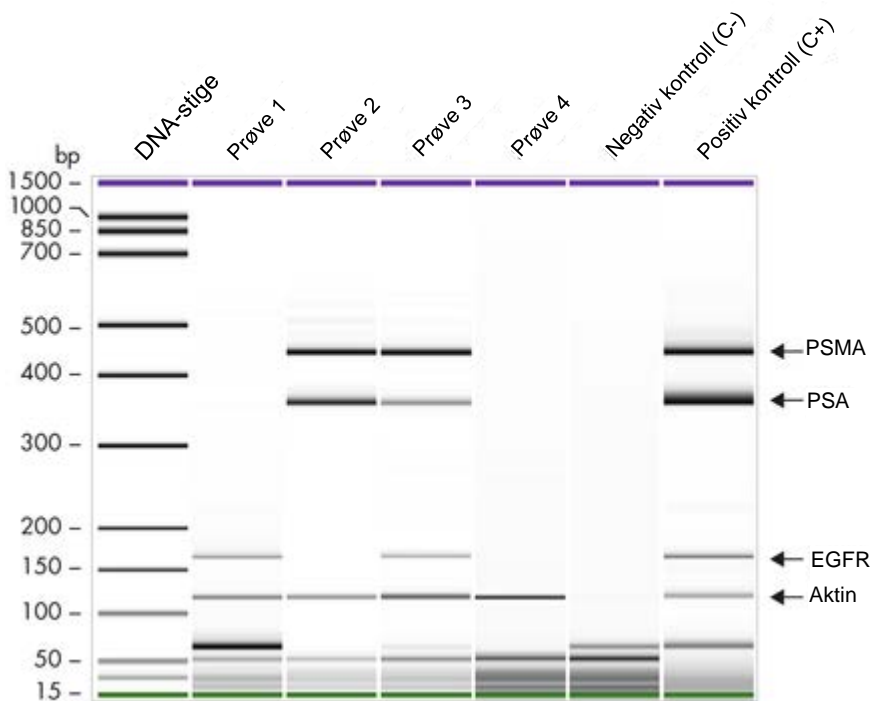
Testen anses som positiv dersom et PCR-fragment av minst ett tumorassosiert transkript (PSMA, PSA eller EGFR) tydelig påvises.

Hvis du bruker Agilent 2100 Bioanalyser, er topper med en konsentrasjon på $\geq 0,10$ ng/ μ l positive (figur 3).

Fragmentet av kontrollgenet aktin må påvises i alle pasientprøver (intern PCR-kontroll). Et aktinsignal gir en positiv kontroll for vellykket celleseparasjon, revers transkripsjon og multiplex-PCR. Negativ kontroll og RT-kontrollprøver må ikke vise noen større bånd enn 80 basepar (primerdimere).

Et fragment som er større enn 900 bp indikerer kontaminering med genomisk DNA. I dette tilfellet var separasjonsprosessen mislykket, og resultatene er ugyldige.

VIKTIG: Hvis ikke protokollen følges til punkt og prikke, kan det føre til falskt negative eller falskt positive resultater.



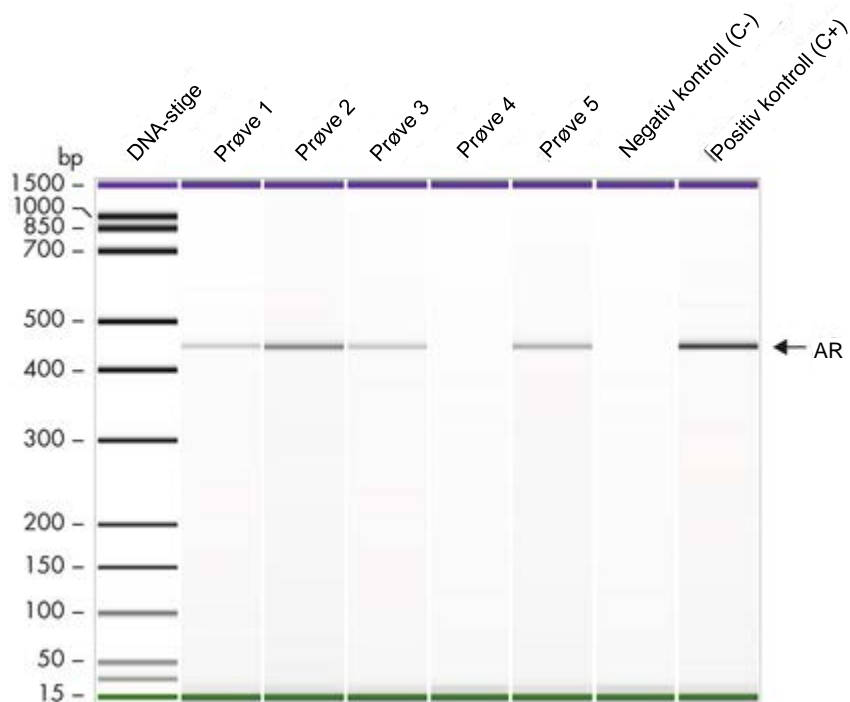
Figur 3. AdnaTest ProstateCancerDetect-resultater fra multiplex-PCR-prøver analysert med en Agilent 2100 Bioanalyzer
 Det første feltet viser DNA-størrelsesstandarden (DNA-stigen). Prøve 1 er positiv for EGFR, prøve 2 er positiv for PSMA og PSA, og prøve 3 er positiv for PSMA, PSA og EGFR. Prøve 4 er negativ. Aktin er påvist i prøve 1 til 4. PCR-negativ (C-) og -positiv kontroll (C+) vises i de siste to feltene.

Analyse av resultatene for AdnaTest AR-Detect

Hvis du bruker Agilent 2100 Bioanalyzer, er topper med en konsentrasjon på $\geq 0,15$ ng/ μ l for AR positive (figur 4).

Fragmentet av kontrollgenet aktin må påvises i alle pasientprøver (intern PCR-kontroll). Et aktinsignal gir en positiv kontroll for vellykket celleseparasjon, revers transkripsjon og singleplex-PCR. Den negative kontrollen og RT-kontrollprøvene må ikke vise noen større bånd enn 80 basepar (primerdimere).

VIKTIG: Hvis ikke protokollen følges til punkt og prikke, kan det føre til falskt negative eller falskt positive resultater.



Figur 4. AdnaTest ProstateCancerDetect-resultater fra singleplex-PCR-prøver. Det første feltet viser DNA-størrelsesstandard (DNA-stigen). Prøve 1 til 3 og prøve 5 er positive for AR. Prøve 4 er negativ. PCR-negativ (C-) og -positiv kontroll (C+) vises i de siste to feltene.

Feilsøkningsveiledning

Denne feilsøkningsveiledningen kan være nyttig for å løse problemer som kan oppstå. For mer informasjon, se også siden med ofte stilte spørsmål på vårt tekniske supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Forskerne ved QIAGENs tekniske serviceavdeling er alltid klare til å besvare eventuelle spørsmål du måtte ha enten om informasjonen og/eller protokollene i denne håndboken eller prøve- og analyseteknologi (for kontaktinformasjon, besøk www.qiagen.com).

Kvalitetskontroll

I henhold til QIAGENs ISO-sertifiserte kvalitetsstyringssystem testes hvert parti med AdnaTest ProstateCancerSelect og AdnaTest ProstateCancerDetect mot forhåndsbestemte spesifikasjoner for å sikre konsekvent produktkvalitet.

Begrensninger

Alle reagenser kan utelukkende brukes i in vitro-diagnostikk.

Produktet skal kun brukes av personale som er spesielt instruert og opplært i in vitro-diagnostiske prosedyrer.

Det er viktig at operatøren leser bruksanvisningen nøye før bruk av systemet.

Strengt samsvar med bruksanvisningen kreves for optimale PCR-resultater.

Kontroller på utløpsdatoene som er angitt på komponentenes esker og etiketter. Ikke bruk komponenter etter utløpt holdbarhetsdato.

Alle diagnostiske resultater som genereres, må tolkes i sammenheng med andre kliniske funn eller laboratoriefunn.

Ytelseegenskaper

Gjenfinning

To dyrkede LnCap-prostatakreftceller ble tilsatt i blodprøver fra friske donorer for å bestemme gjenfinningsrater som ble oppnådd med AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect (tabell 7).

Tabell 7. AdnaTest ProstateCancer-gjenfinningsrate for tumorceller tilsatt i blodprøver fra friske donorer

	Antall positive	Totalt antall prøver
To tumorceller tilsatt i 5 ml blod	38 (95%)	40

Gjenfinningsrate er 95 % for påvisning av 2 tumorceller tilsatt i 5 ml blod fra friske donorer.

Spesifisitet

AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect ble brukt til å analysere 40 friske donorer for å bestemme frekvens av falskt positive ved angitt cut-off (0,10 ng/µl fragmentkonsentrasjon for hvert gen som ble testet, unntatt aktin).

Tabell 8. Bestemmelse av spesifisitet

Kontroller	Totalt antall prøver	Antall falskt positive	Spesifisitet (%)
Friske donorer	40	0 (0 %)	100

AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect viste en spesifisitet på 100 % (tabell 8).

Reproduserbarhet

Tjue blodprøver fra friske donorer ble tilsatt 10 LnCap-prostatakrefteceller per prøve. Blodprøver ble analysert av to operatører med AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect for å bestemme reproduserbarheten. Intra-analyse- og inter-analyse-reproduserbarheten var 100 % (tabell 9).

Tabell 9. Reproduserbarhet for AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect

Operatør	Positive AdnaTest-resultater/-prøver	Intra-analyse-reproduserbarhet (%)	Inter-analyse-reproduserbarhet (%)
A	10/10	100	100
B	10/10	100	100

Presisjon

Presisjonen ble bestemt ved å slå sammen alikvoter av cDNA og analysere dem med AdnaTest ProstateCancerDetect. To operatører analyserte 30 cDNA-prøver som besto av 3 uavhengige målinger av 10 prøver. Intra-analyse- og inter-analyse-presisjonen var 100 % (tabell 10).

Tabell 10. Presisjon for AdnaTest ProstateCancerDetect

Operatør	Positive AdnaTest-resultater/-prøver	Intra-analyse-presisjon (%)	Inter-analyse-presisjon (%)
A	30/30	100	100
B	30/30	100	100

Interfererende substanser

Antikoagulanter

Bruk av antikoagulanter er obligatorisk ved blodprøvetaking og blodtransport. Heparin og sitrat fører imidlertid til aggregatdannelse etter at AdnaTest immunmagnetiske kuler er tilsatt,

noe som kan føre til manglende testresultater eller falske testresultater. EDTA og ACDA (sitratt/dekstrose/adeninløsning A) er imidlertid kompatible med AdnaTest immunmagnetiske kuler.

Hemolyse

Hemolyse i blodprøver (når plasmafraksjonen ser rød ut) skyldes i de fleste tilfeller feil transport eller feil oppbevaringsbetingelser. Slike prøver kan gi falskt negative resultater og skal kastes.

Kjemoterapeutika, legemidler for målrettet behandling og antihormonelle behandlingsregimer

Kjemoterapeutika (taksaner, cisplatin, oksaliplatin, 5-FU, antracyklin, irinotekan, osv.) er potente cytotoxiner og forårsaker skade eller rask celledød i en blodprøve. Dette fører til en stor sannsynlighet for falskt negative resultater ved bruk av AdnaTest immunmagnetiske kuler. Når disse stoffene er administrert, trenger menneskekroppen rundt 5–7 dager til detoksifisering av stoffene (tabell 11). Blodprøver som tas i løpet av denne tiden, må ikke brukes med AdnaTest immunmagnetiske kuler.

Tabell 11. Halveringstid for kjemoterapeutika

Legemiddel	Halveringstid	Referanse
5-Fluoruracil	Opptil 20 minutter	www.drugs.com/pro/fluorouracil-injection.html
Docetaxel	Opptil 11,1 timer	www.drugs.com/pro/docetaxel.html
Cisplatin	Opptil 30 minutter	www.drugs.com/pro/cisplatin.html
Karboplatin	Opptil 5,9 timer	www.drugs.com/pro/carboplatin.html
Paclitaxel	Rundt 25,4 timer	www.drugs.com/pro/paclitaxel.html

Den samme forholdsregelen er også anbefalt for målrettede behandlingsregimer slik som antistoffer (Herceptin®, bevacizumab, cetuximab, osv.), tyrosinkinasehemmere (olaparib, Iressa®, Erbitux®, lapatinib, osv.) og antihormonelle legemidler (tamoksifen, abirateron, enzalutamid, osv.) administrert som et enkelt legemiddel eller i kombinasjon med kjemoterapeutika.

I kliniske forsøk som viser den prognostiske verdien av sirkulerende tumorceller (CTC) identifisert og karakterisert ved hjelp av AdnaTest immunmagnetiske kuler, ble det ikke observert noen negativ interferens fra kjemoterapeutika, målrettet behandling eller antihormonell behandling, forutsatt at venteperioden på minst 7 dager etter administrering av stoffet ble overholdt. En negativ effekt av vanlige medisiner som tas i tillegg (acetylsalisylsyre, ibuprofen, aprepitant, steroider, osv.), er usannsynlig, men blir overvåket.

Interfererende betingelser

Blodkoagulering

I forbindelse med kliniske forsøk observert vi blodkoagulering etter inkubasjon med AdnaTest immunmagnetiske kuler – oftest i blodprøver fra pasienter i en svært fremskreden sykdomsfase. Blodprøver med koagel er vanskelige å behandle under AdnaTest-arbeidsflyten på grunn av økt viskositet, og de er vanskelige å pipettere. De inneholder også et uakseptabelt høyt antall kontaminerende leukocytter, noe som fører til falskt positive resultater. Slike prøver må kastes.

Benign organisk sykdom og kroniske betennelsestilstander

Benign organisk sykdom og kronisk betennelse, for eksempel artritt, benign prostatahyperplasi (BPH), Crohns sykdom, osv., fører ikke til falskt positive AdnaTest-resultater.

Akutt allergi

Ved akutte allergiske tilstander er det et økt antall kontaminerende leukocytter etter CTC-anrikelse ved hjelp av AdnaTest immunmagnetiske kuler. Derfor kan ikke falskt positive resultater utelukkes helt.

Kliniske studier

Totalt 12 pasienter med metastatisk kastrasjonsresistent prostatakreft (CRPC) ble fulgt under docetaxel-behandling. En første prøve ble analysert ved start, og ytterligere 2 prøver ble analysert i løpet av oppfølgingsperioden.

Med hensyn til AR-aktivering ble det tydelig demonstrert at AR-aktivering og -deaktivering samsvarte godt med frekvensen av CTC-eliminering på grunn av terapeutisk intervensjon. CTC-positivitetsraten falt i imidlertid i løpet av behandlingen fra 70 % ved start til ~35 % i løpet av oppfølgingsperioden, og AR-positivitet ble redusert fra 55 % til ~11 %. På grunn av behandlingen er AR-positive CTC-subkloner mer påvirket av docetaxel-behandling enn AR-negative CTC-er. Disse funnene samsvarer godt med funnene fra Darshan et al. 2011, der det ble observert en taksan-indusert blokade av AR-nukleær transport og signalisering.

Disse funnene indikerer den spesifikke og sensitive påvisningen av CTC-er i kliniske prøver med prostatakreft, samt en vurdering av genetiske profiler knyttet til terapeutiske mål.

Referanse

Darshan, M.S. et al. (2011) Taxane-Induced Blockade to Nuclear Accumulation of the Androgen Receptor Predicts Clinical Responses in Metastatic Prostate Cancer. *Cancer Res.* 2011 Sep 15; **71(18)**: 6019–6029. Publisert elektronisk 28. juli 2011. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1417.

Forkortelser

AdnaMag-L	Konsentrator for magnetiske partikler (Large)
AdnaMag-S	Konsentrator for magnetiske partikler (Small)
AR	Androgenreseptor
bp	Basepar
C+	Positiv kontroll
C-	Negativ kontroll
cDNA	Komplementær deoksyribonukleinsyre
DNA	Deoksyribonukleinsyre
dNTP-er	Deoksynukleotidtrifosfater
EGFR	Epidermal vekstfaktorreseptor
kb	kilobaser
mRNA	Budbringer-ribonukleinsyre
PCR	Polymerasekjedereaksjon
PSA	Prostata spesifikt antigen
PSMA	Prostata spesifikt membranantigen
RNase	Ribonuklease
o/min	Omdreining per minutt
RT	Revers transkripsjon

Symboler



Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> tester



Brukes innen



Temperaturbegrensning



Katalognummer



Se bruksanvisningen



Produsent



Medisinsk utstyr for in vitro-diagnostikk



Materialnummer



Globalt artikkelnummer

Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Katalognr.
AdnaTest ProstateCancerSelect	For isolasjon av CTC-er og påfølgende ekstraksjon av mRNA fra humant fullblod for 12 klargjøringer	395432
AdnaTest ProstateCancerDetect	RT-PCR-sett for påvisning av prostatakreft-assosiert genespresjon i anrikede tumorceller	396432
Tilknyttede produkter		
AdnaTubes	12 prøverør som inneholder EDTA. Skal kun brukes med antikoagulert blod som er tatt i A-CDA-blodprøverør fra BD	399932
AdnaMag-L	For 8 rør, 15 ml	399921
AdnaMag-S	For 8 rør, 1,5 ml	399911
Sensiscript RT Kit (50)	For 50 revers transkripsjon-reaksjoner:* Sensiscript revers transkriptase, 150 µl 10x buffer RT, 100 µl dNTP Mix (inneholder 5 mM hver dNTP), 1,1 ml RNase-fritt vann	205211
HotStarTaq Master Mix Kit (250 U)	3 x 0,85 ml HotStarTaq Master Mix (inneholder 250 enheter HotStarTaq DNA-polymerase, PCR-buffer med 3 mM MgCl ₂ og 400 µM av hver dNTP) og 2 x 1,7 ml RNase-fritt vann	203443

* Sensiscript RT-settet (50) rekker kun til 25 prøver med AdnaTest ProstateCancerDetect fordi det kreves dobbelt volum for hver reaksjon.

Hvis du ønsker oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, kan du se i den aktuelle håndboken for QIAGEN-settet eller i bruksanvisningen. Håndbøker og bruksanvisninger for QIAGEN-settet er tilgjengelig på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENS tekniske tjenester eller den lokale distributøren.

Begrenset lisensavtale for AdnaTest ProstateCancerSelect og AdnaTest ProstateCancerDetect

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne håndboken, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i settet. QIAGEN gir ingen lisens i forhold til noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette settet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette settet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne håndboken og andre protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com. Noen av disse andre kontrollene er utarbeidet av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem, og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette settet og/eller bruk av det ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette settet og komponentene i det er lisensiert for engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydnet, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av settet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuelle immaterielle rettigheter forbundet med settet og/eller komponentene.

For oppdaterte lisensvilkår, se www.qiagen.com.

Varemerker: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], HotStarTaq[®], Sensiscript[®] (QIAGEN Group); Agilent[®] (Agilent Technologies, Inc.); ERBITUX[®] (ImClone LLC., et heleid datterselskap av Eli Lilly and Company); Herceptin[®] (Genentech, Inc.); IRESSA[®] (AstraZeneca Group) LabChip[®] (Caliper Life Sciences, Inc.); Sarstedt[®], S-Monovette[®] (Sarstedt AG and Co.); Vacutainer[®] (Becton Dickinson and Company).

HB-2396-001 © 2017 QIAGEN. Med enerett.

Denne siden skal være tom

Denne siden skal være tom

Denne siden skal være tom

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettside www.qiagen.com