

2017. gada marts

AdnaTest ColonCancerSelect un ColonCancerDetect rokasgrāmata



12 (kataloga numurs 395422)



12 (kataloga numurs 396422)

No zarnu vēža pacientu nesadalītām asinīm iegūtu audzēja šūnu bagātināšanai un ar zarnu vēzi saistītas gēnu ekspresijas noteikšanai bagātinātās audzēja šūnās

Lietošanai *in vitro* diagnostikā

1. versija



395422 (AdnaTest ColonCancerSelect)

396422 (AdnaTest ColonCancerDetect)



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
VĀCIJA



1106497LV

Sample to Insight



Saturs

Paredzētais lietojums	4
Kopsavilkums un skaidrojums	4
Procedūras princips	5
AdnaTest ColonCancerSelect	5
AdnaTest ColonCancerDetect.....	6
Nodrošinātie materiāli.....	7
Komplekta komponenti.....	7
Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti.....	8
AdnaTest ColonCancerSelect	9
AdnaTest ColonCancerDetect.....	9
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi	10
Informācija par drošību.....	10
Informācija par lietošanu	11
Patenti	11
Reaģentu glabāšana un lietošana	11
Uzglabāšana	11
Lietošana.....	12
Paraugu lietošana un uzglabāšana	13
Paraugu sagatavošana	13
Protokols: audzēja šūnu bagātināšana, izmantojot AdnaTest ColonCancerSelect	14
Protokols: ar gēnu ekspresiju saistīta zarnu vēža noteikšana bagātinātās audzēja šūnās, izmantojot AdnaTest ColonCancerDetect.....	17

Protokols: Multiplex PCR	22
Rezultātu interpretācija	24
Fragmenta analīze bioanalizatorā Agilent 2100	24
Norādījumi par problēmu novēršanu	27
Kvalitātes kontrole	27
Ierobežojumi	27
Darbības raksturojums	28
Atgūšana	28
Specifiskums	28
Atkārtojamība	29
Precizitāte	29
Traucējošas vielas	30
Traucējoši apstākļi	32
Klīniskie pētījumi	32
Atsauce	33
Saīsinājumi	33
Simboli	34
Informācija pasūtīšanai	35

Paredzētais lietojums

AdnaTest ColonCancerSelect ir *in vitro* diagnostikas metode, ko paredzēts izmantot no zarnu vēža pacientu stabilizētiem nesadalītu asiņu paraugiem iegūtu cirkulējošu audzēja šūnu imūnķīmiskai bagātināšanai, izmantojot epitēlija un ar audzējiem saistītu antigēnu kombināciju.

AdnaTest ColonCancerDetect ir *in vitro* diagnostikas tests, ko paredzēts izmantot audzēja šūnu ekspresijas profilu analīzei ar atgriezenisko transkriptāzi, vairāku amplikonu PCR un turpmāku PCR produktu optiskā blīvuma analīzi, izmantojot automatizētu kapilāru elektroforēzi bioanalizatorā Agilent® 2100.

AdnaTest ColonCancerSelect/Detect metodi nav paredzēts izmantot skrīninga nolūkā, un to nedrīkst izmantot kā diagnostikas testu zarnu vēža klātbūtnes apstiprināšanai.

Šo produktu ir paredzēts lietot tikai profesionāliem lietotājiem, piemēram, laborantiem un ārstiem, kuriem ir zināšanas molekulāri bioloģisko metožu izmantošanā.

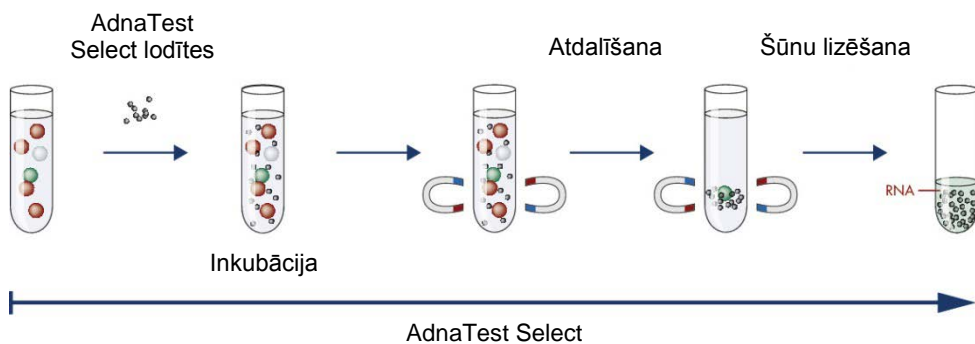
Kopsavilkums un skaidrojums

AdnaTest ColonCancerSelect tests ļauj veikt audzēja šūnu imūnmagnētisku bagātināšanu, izmantojot epitēlija un ar audzējiem saistītus antigēnus. AdnaTest ColonCancerDetect testu izmanto ar zarnu vēzi saistītas gēnu ekspresijas analīzei imūnmagnētiski bagātinātās audzēja šūnās, izmantojot atgriezenisko transkriptāzi un PCR.

Procedūras princips

AdnaTest ColonCancerSelect

Epitēlija un ar audzējiem saistīto antigēnu antivielas tiek konjugētas pie magnētiskām lodītēm, lai varētu marķēt audzēja šūnas nesadalītās asinīs. Marķētās šūnas tiek ekstrahētas, izmantojot magnētisko daļiņu koncentratoru (AdnaMag-L un AdnaMag-S), un pēc tam lizētas (1. un 2. attēls).



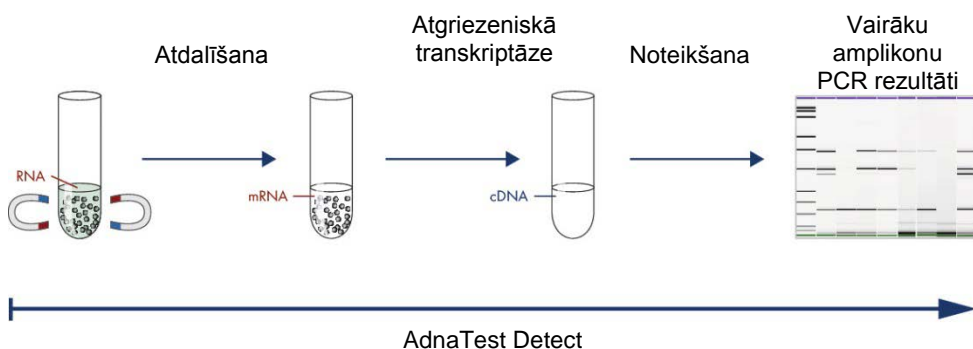
- Asins šūnas ● Audzēja šūnas
- ⊛ Magnētiskas lodītes ar antivielu vai Oligo(dT)25 pārklājumu

1. attēls. AdnaTest ColonCancerSelect: imūnmagnētisko šūnu atlase, izmantojot ar vairākiem audzējiem saistītas antivielas.

Šūnu lizāts tiek izmantots turpmākai analīzei kopā ar AdnaTest ColonCancerDetect.

AdnaTest ColonCancerDetect

AdnaTest ColonCancerDetect satur Oligo (dT)₂₅ lodītes mRNS izolēšanai no iepriekš bagātinātu audzēja šūnu lizāta. Atgriezeniskās transkriptāzes rezultātā rodas kDNS, ko pēc tam izmanto kā šablonu audzēja šūnu noteikšanai un raksturošanai ar vairāku amplikonu PCR. Izmantojot AdnaTest PrimerMix ColonDetect testu, var palielināt trīs ar audzēju saistītus antigēnus un vienu kontrolgēnu.



● Asins šūnas ● Audzēja šūnas

⊗ Magnētiskas lodītes ar antivielu vai Oligo(dT)₂₅ pārklājumu

2. attēls. AdnaTest ColonCancerDetect: dažādi ar vēzi saistīti vairāku amplikonu PCR audzēju marķieri.

Otrajā posmā bagātinātās šūnas pārbauda, izmantojot RT-PCR, kas paredzēts ar audzējiem saistītiem ekspresijas modeļiem. Ar atgriezenisko transkriptāzi mRNS virknes pārvērš kDNS. Tad var palielināt vairākus saistītos audzēju marķierus, izmantojot vairāku amplikonu PCR, kā arī tos vizualizēt.

Praimeri ģenerē tālāk norādīto izmēru fragmentus.

- GA733-2: 395 bp
- CEA: 231 bp
- EGFR: 163 bp
- Aktīns: 120 bp (iekšējā PCR kontrole)

Piezīme. Fragmentu lielums var nedaudz atšķirties. Noteikto signālu piešķirei, lūdzu, izmantojiet AdnaTest Positive Control Colon.

Nodrošinātie materiāli

Komplekta komponenti

AdnaTest ColonCancerSelect			
Kataloga numurs		395422	
Testu skaits		12	
Parauga paņemšanas stobriņi	Collection Tubes (1.5 ml) (Parauga paņemšanas stobriņi (1,5 ml))	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	3 × 5
Parauga paņemšanas stobriņi	Collection Tubes (15 ml) (Parauga paņemšanas stobriņi (15 ml))	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	24
Sarkanā krāsā	ColonSelect Beads (ColonSelect lodītes)	CSB	1,2 ml
Sarkanā krāsā	AdnaTest Lysis/Binding Buffer (AdnaTest līzes/fiksācijas buferšķīdums)	LBB	2 × 1,2 ml
	Rokasgrāmata		1

AdnaTest ColonCancerDetect			
Kataloga numurs		396422	
Testu skaits		12	
AdnaTest RNS reaģenti			1. kaste
Sarkanā krāsā	AdnaTest Lysis/Binding Buffer (AdnaTest līzes/fiksācijas buferšķīdums)	LBB	2 ml
Oranžā krāsā	Oligo(dT) ₂₅ Beads (Oligo(dT) ₂₅ lodītes)	OdT	280 µl
Baltā krāsā	RNA Purification Buffer A (RNS attīrīšanas buferšķīdums A)	BA	4 ml
Baltā krāsā	RNA Purification Buffer B (RNS attīrīšanas buferšķīdums B)	BB	4 ml
Violetā krāsā	Tris-HCL Buffer (Tris-HCL buferšķīdums)	TB	2 ml
AdnaTest ColonCancerDetect			2. kaste
Zilā krāsā	AdnaTest PrimerMix ColonDetect	PMC	144 µl
Oranžā krāsā	AdnaTest Positive Control Colon (C+)	CONTROL +	56 µl
Rokasgrāmata			1

AdnaTest ColonCancerDetect reaģentu daudzums ir pietiekams, lai analizētu 6 PCR kontroles un 12 asins paraugus.

Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai saņemtu papildinformāciju, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (Safety Data Sheets, SDS), kas ir pieejamas pie produkta piegādātāja.

AdnaTest ColonCancerSelect

Aprīkojums

- Tube rotator for 15 ml and 1.5 ml tubes (Stobriņu rotators 15 ml un 1,5 ml stobriņiem) (piem., ELMi Ltd., kat. Nr. IMIX-03)
- Magnētisko daļiņu koncentratori
 - AdnaMag-L (kat. Nr. 399921)
 - AdnaMag-S (kat. Nr. 399911)

Materiāls

- AdnaTube (kat. Nr. 399932), ja tiek izmantoti BD Vacutainer® ACD-A stobriņi
- Sterilas 10 ml stikla vai plastmasas pipetes un pipetētājs bez RNāzes
- Sterile, RNase-free 1.5 ml reaction tubes (Sterili 1,5 ml reakciju stobriņi bez RNāzes) (piem., Sarstedt, kat. Nr. 72.690)
- Pipetes un pipešu uzgaļi bez RNāzes ar aerosola barjeru, piemēroti 100–1000 µl pipetēšanai

Reāģenti

- Phosphate buffered saline (PBS), pH 7.0–7.3 (Fosfāta sāls buferšķīdums (PBS), pH 7,0–7,3) (piem., Fisher, kat. Nr. VX14190169, D–PBS)

AdnaTest ColonCancerDetect

Aprīkojums

- Tube rotator for 1.5 ml tubes (Stobriņu rotators 1,5 ml stobriņiem) (piem., ELMi Ltd., kat. Nr. IMIX-03)
- Magnetic particle concentrator AdnaMag-S (Magnētisko daļiņu koncentrators AdnaMag-S) (kat. Nr. 399911)

- Termālais bloks vai ūdens vanna (50°C)
- Termālais amplifikators ar apsildāmu vāku un karsēšanas ātrumu 2 °C/sek.
- Bioanalizators Agilent 2100 (Agilent Technologies)

Materiāls

- Sterili 0,2 ml PCR stobriņi ar plānām sienīņām bez RNāzes
- Sterile, RNase-free 1.5 ml reaction tubes (Sterili 1,5 ml reakciju stobriņi bez RNāzes) (piem., Sarstedt, kat. Nr. 72.690)
- Pipetes un pipešu uzgaji bez RNāzes ar aerosola barjeru, piemēroti 1–200 µl pipetēšanai

Reāģenti

- Sensiscript® RT komplekts (QIAGEN, kat. Nr. 205211, 50 reakcijas)
 - **Piezīme.** Sensiscript RT komplekts (kat. Nr.205211) ir piemērots tikai 25 paraugiem, jo katrai reakcijai ir nepieciešams divkārsšs apjoms.
- Rekombinēts RNAsin, RNāzes inhibitors, 2,500 U (Promega, kat. nr. N2511)
- HotStarTaq® Master Mix komplekts (QIAGEN, kat. Nr. 203443, 250 V)
- Drupināts ledus

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Lietošanai *in vitro* diagnostikā

Informācija par drošību

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai iegūtu papildinformāciju, lūdzu, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (Safety Data Sheets, SDS). Tās ērtā un kompaktā

PDF formātā ir pieejamas vietnē www.qiagen.com/safety, kur var apskatīt un izdrukāt katra QIAGEN komplekta un tā komponentu SDS.

Izmetiet paraugu un testu atkritumus atbilstoši vietējiem drošības noteikumiem.

Informācija par lietošanu

Šie testi ir jāveic speciālistam, kas pārzina molekulāri bioloģiskās metodes.

Patenti

AdnaTest ColonCancerDetect izmantošanai ir nepieciešama Hoffmann-La Roche AG, Basel licence. AdnaTest ColonCancerDetect iegāde nesniedz lietotājam atļauju veikt PCR bez licences.

Reaģentu glabāšana un lietošana

Uzglabāšana

AdnaTest ColonCancer sistēma tiek piegādāta trīs kastēs. AdnaTest ColonCancerSelect (kat. Nr. 395422) un AdnaTest RNS reaģentu 1. kaste (1. kaste, kat. Nr. 396422) jāglabā 2–8 °C temperatūrā. Komponentus nedrīkst izmantot pēc derīguma termiņa beigām.

AdnaTest ColonCancerDetect 2. kasti (2. kaste, kat. Nr. 396422), kas satur AdnaTest PrimerMix ColonDetect un AdnaTest Positive Control Colon, jāglabā atsevišķi no –30 līdz –15 °C temperatūrā. Lai novērstu iespējamu piesārņošanu un atkārtotas temperatūras izmaiņas, dozējiet praimera maisījumu. Komponentus nedrīkst izmantot pēc derīguma termiņa beigām.

Lietošana

- ColonSelect lodītes satur konservantu — nātrija azīdu. Nātrija azīds ir citotoksisks, tāpēc pirms lodīšu izmantošanas no tā ir jāatbrīvojas (skatiet “Protokols: audzēja šūnu bagātināšana, izmantojot AdnaTest ColonCancerSelect” 14. lpp.).
- Visi citu piegādātāju nodrošinātie komponenti un papildu reaģenti jāuzglabā atbilstoši to norādījumiem. Jāņem vērā atbilstošo ražotāju sniegtie drošības norādījumi.
- Lai nepieļautu kontamināciju ar DNS, RNS un RNāzi, lietojiet aizsargcimdus.
- Lai nepieļautu kontamināciju, dozējiet ColonSelect lodītes.
- Tests ir jāveic norādītajā secībā, un tam ir jāatbilst visām minētajām specifiskajām attiecībām uz inkubācijas laiku un temperatūru.
- Ja šūnu bagātināšanas laikā notiek atlases lodīšu aglutinācija, izmetiet paraugus.
- Ja iespējams, apstrādājiet paraugus (tostarp veicot atgriezenisko transkriptāzi un pēc tās arī analizējot palielinātos PCR produktus) dažādās telpās, lai nepieļautu savstarpēju kontamināciju.
- Citu piegādātāju, nevis ieteikto, produktu izmantošana var negatīvi ietekmēt rezultātu kvalitāti.
- Jāievēro laboratorijas drošības un higiēnas noteikumi (piemēram, jāvalkā laboratorijas halāts, aizsargbrilles un cimdi).

Paraugu lietošana un uzglabāšana

Paraugu sagatavošana

- Asins paraugi ir jāpaņem pirms ārstniecisko vielu lietošanas. AdnaTest ColonCancerSelect drīkst izmantot tikai 7 dienas pēc pēdējās terapeitiskās procedūras.
- Asins parauga ņemšana: ja paraugu transportēšanas laiks ir mazāks nekā 4 stundas, izmantojiet stobriņus, kas kā antikoagulantu satur EDTA (piem., S Monovette® K3 EDTA, Sarstedt [kat. Nr. 01.1605.001]), lai paņemtu vismaz 7,5 ml nesadalītu asiņu.
- Ja paraugu transportēšanas laiks ir garāks nekā 4 stundas, izmantojiet BD Vacutainer ACD-A stobriņus (Becton Dickinson GmbH, kat. Nr. 366645 [ES]; 364606 [ASV]), lai paņemtu vismaz 8,5 ml nesadalītu asiņu. Pirms turpmākas apstrādes, izmantojot AdnaTest, 5 ml ACD-A asiņu jāpārnes AdnaTube stobriņā, kat. Nr. 399932.
- Asinis nekavējoties jānovieto glabāšanai 4 °C temperatūrā.
- Paraugi ir jāapstrādā pēc iespējas ātrāk, bet ne vēlāk kā 4 stundu laikā pēc asins paņemšanas, ja tiek izmantoti standarta EDTA stobriņi, vai 30 stundu laikā, ja tiek izmantoti BD Vacutainer paraugu ņemšanas stobriņi kopā ar AdnaTube.
- Asins paraugs nedrīkst būt hemolizēts.

Protokols: audzēja šūnu bagātināšana, izmantojot AdnaTest ColonCancerSelect

Svarīga informācija pirms darba sākšanas.

- Pirms procedūras izlasiet “Brīdinājumi un piesardzības pasākumi” (10. lpp.), “Reāģentu glabāšana un lietošana” (11. lpp.) un “Paraugu lietošana un uzglabāšana” (13. lpp.).
- Ja ir jāatbrīvojas no nātrija azīda, ColonSelect lodītes pirms izmantošanas ir jāskalo, kā aprakstīts nākamajā sadaļā “A procedūra: ColonSelect lodīšu sagatavošana”.
- Lūdzu, izmantojiet komplektā iekļautos 1,5 ml noņemšanas stobriņus tikai norādītajai protokola darbībai.

Pirms darba sākšanas jāveic šādas darbības

- Pārliecinieties, ka AdnaTest līzes/fiksācijas buferšķīdums ir sasniedzis istabas temperatūru. Ja ir vērojamas nogulsnes, ļaujiet reaģentiem sasniegt istabas temperatūru un sajauciet to, līdz nogulsnes ir pilnībā izšķīdušas.

A procedūra: ColonSelect lodīšu sagatavošana

1. Ar pipetēšanas metodi rūpīgi resuspendējiet ColonSelect lodītes. Nesaskaliniet!
2. Aprēķiniet visu paraugu apstrādei nepieciešamo ColonSelect lodīšu apjomu (100 µl uz vienu paraugu) un pārnesiet aprēķināto daudzumu 1,5 ml reakciju stobriņā (nav iekļauts komplektācijā).

Ja apstrādāti tiek vairāk nekā 10 paraugi, izmantojiet papildu 1,5 ml reakciju stobriņus.

3. Ievietojiet stobriņu iekārtā AdnaMag-S.
4. Pēc 1 minūtes noņemiet supernatantu ar pipeti.

Piezīme. Noņemot supernatantu, nepieskarieties lodītēm!

5. Skalošanas darbības:

5a. Izņemiet magnētisko slīdni no iekārtas AdnaMag-S.

- 5b. Pievienojiet 1 ml PBS un resuspendējiet lodītes, veicot atkārtotu pipetēšanu.
 - 5c. Ievietojiet magnētisko slīdni iekārtā AdnaMag-S.
 - 5d. Pēc 1 minūtes pilnībā noņemiet supernatantu ar pipeti.
 - 5e. Atkārtojiet 5a.–5d. darbību divas reizes (kopumā jāveic trīs skalošanas).
6. Izņemiet stobriņu no iekārtas AdnaMag-S un resuspendējiet lodītes PBS, līdz tiek sasniegts sākotnējais tilpums (100 µl katram paraugam). Pārejiet uz “B procedūra: audzēja šūnu atlase”, zem.

B procedūra: audzēja šūnu atlase

1. Ja tiek izmantoti standarta EDTA stobriņi, ar pipeti pārnēsiet 5 ml asins parauga 15 ml paņemšanas stobriņos (iekļauti komplektācijā).

Izmantojot ACD-A asinis BD Vacutainer ACD-A stobriņā, pārnēsiet 5 ml asins AdnaTube.

Piezīme. AdnaTube ir jālieto obligāti, izmantojot BD Vacutainer ACD-A stobriņus.

2. Ar pipetēšanas metodi rūpīgi resuspendējiet ColonSelect lodītes (sagatavotas A procedūras 6. darbībā) un pievienojiet 100 µl šo lodīšu katram asins paraugam.
3. Lēni rotējiet stobriņus (apmēram 5 apgr./min.) 30 minūtes istabas temperatūrā ierīcē, kurā var veikt gan sasvēršanu, gan rotēšanu.
4. Ievietojiet stobriņus iekārtā AdnaMag-L, neizmantojot magnētisko slīdni. Sašūpojiet AdnaMag-L leju, lai atbrīvotu vāciņā iekērušās asins lāses.
5. Ievietojiet magnētisko slīdni un inkubējiet stobriņus iekārtā AdnaMag-L 3 minūtes istabas temperatūrā.
6. Ar 10 ml pipeti pilnībā noņemiet visu asins supernatantu, nepieskaroties lodītēm.

Piezīme. Noņemot supernatantu, nepieskarieties lodītēm!

7. Skalošanas darbības:

7a. Izņemiet magnētisko slīdni no iekārtas AdnaMag-L.

7b. Pievienojiet 5 ml PBS. Noslēdziet stobriņus un saudzīgi 5 reizes pakratiet AdnaMag-L virzienā uz priekšu un atpakaļ, lai resuspendētu magnētiskās lodītes/šūnu kompleksus.

- 7c. Divas reizes sašūpojiet ar stobriņiem piepildīto AdnaMag-L leju, lai atbrīvotu vāciņā iekērušās lāses.
- 7d. Ievietojiet magnētisko slīdni iekārtā AdnaMag-L un 1 minūti inkubējiet istabas temperatūrā.
- 7e. Noņemiet visu supernatantu, izmantojot pipeti.
- 7f. Atkārtojiet 7a.–7e. darbību divas reizes (kopumā jāveic trīs skalošanas).
8. Izņemiet magnētisko slīdni no iekārtas AdnaMag-L.
9. Resuspendējiet magnētisko lodīšu/šūnu kompleksus 1 ml PBS un pārnēsiet katru paraugu jaunā 1,5 ml reakciju stobriņā (nav iekļauti komplektā).
10. Ievietojiet reakciju stobriņus iekārtā AdnaMag-S, kurā atrodas magnētiskais slīdnis.
Piezīme. Iekārtas AdnaMag-S magnētisko slīdni var ievietot divējādi. Vienmēr ievietojiet slīdni tā, lai baltā plastmasas plēve būtu vērsta uz priekšu, lai pārlicinātos, ka magnēti atrodas blakus reakciju stobriņiem.
11. Pēc 1 minūtes noņemiet pilnīgi visu supernatantu, izmantojot pipeti, lai optimizētu turpmāku šūnu līzi.
12. Izņemiet magnētisko slīdni no iekārtas AdnaMag-S.
13. Pievienojiet katram reakciju stobriņam 200 µl AdnaTest līzes/fiksācijas buferšķīduma (buferšķīdumam jāļauj sasniegt istabas temperatūra). Resuspendējiet, vismaz piecas reizes izmantojot pipeti.
14. Ievietojiet magnētisko slīdni iekārtā AdnaMag-S un inkubējiet 1 minūti.
15. Pārnēsiet supernatantu (šūnu lizātu) jaunos 1,5 ml reakciju stobriņos.
16. Izmetiet stobriņus ar lodītēm.
17. Uzreiz veiciet mRNS izolēšanu (skatīt "Protokols: ar gēnu ekspresiju saistīta zarnu vēža noteikšana bagātinātās audzēja šūnās, izmantojot AdnaTest ColonCancerDetect" 17. lpp.) vai uzglabājiet šūnu lizātus –20 °C temperatūrā ne ilgāk kā 2 nedēļas.

Protokols: ar gēnu ekspresiju saistīta zarnu vēža noteikšana bagātinātās audzēja šūnās, izmantojot AdnaTest ColonCancerDetect

Svarīga informācija pirms darba sākšanas.

- Pirms procedūras izlasiet “Brīdinājumi un piesardzības pasākumi” (10. lpp.) un “Reaģentu glabāšana un lietošana” (11. lpp.).
- A līdž C procedūra apraksta mRNS izolēšanu un atgriezenisko transkriptāzi
- Lūdzu, izmantojiet komplektā iekļautos 1,5 ml noņemšanas stobriņus tikai norādītajai protokola darbībai.

Pirms darba sākšanas jāveic šādas darbības

- Pārlicinieties, ka AdnaTest līzes/fiksācijas buferšķīdums ir sasniedzis istabas temperatūru. Ja ir vērojamas nogulsnes, ļaujiet reaģentiem sasniegt istabas temperatūru un sajauciet to, līdz nogulsnes ir pilnībā izšķīdušas.
- Ļaujiet RNS attīrīšanas buferšķīdumam A un RNS attīrīšanas buferšķīdumam B sasniegt istabas temperatūru. Novietojiet Tris-HCL buferšķīdumu uz ledus.
- Atkausējiet 10 x buferšķīdumu RT un dNTP, kas ietilpst Sensiscript RT komplektā, istabas temperatūrā. Sajauciet, saskalinot. Īsi centrifugējiet un uzglabājiet uz ledus. Atkausējiet ūdeni, kas nesatur RNāzi (ietilpst Sensiscript RT komplektā).
- Noregulējiet termālā bloka vai ūdens vannas temperatūru līdz 50°C.

A procedūra: Oligo(dT)₂₅ lodīšu sagatavošana

1. Ar pipetēšanas metodi resuspendējiet Oligo(dT)₂₅ lodītes. Nesaskaliniet!
2. Aprēķiniet visu paraugu apstrādei nepieciešamo lodīšu apjomu (20 μl uz vienu paraugu un vēl 10 %), un pārnesiet aprēķināto apjomu jaunā 1,5 ml reakcijas stobriņā, kas nesatur RNāzi (nav iekļauts komplektācijā).

3. Ievietojiet stobriņu iekārtā AdnaMag-S.

Piezīme. Iekārtas AdnaMag-S magnētisko slīdņi var ievietot divējādi. Vienmēr ievietojiet slīdņi tā, lai baltā plastmasas plēve būtu vērsta uz priekšu, lai pārliecinātos, ka magnēti atrodas blakus reakciju stobriņiem.

4. Pēc 1 minūtes noņemiet supernatantu ar pipeti.

5. Skalošanas darbības:

5a. Izņemiet magnētisko slīdņi no iekārtas AdnaMag-S.

5b. Pievienojiet sākotnējo AdnaTest līzes/fiksācijas buferšķīduma daudzumu (2. darbība 17. lpp.) un resuspendējiet lodītes, veicot atkārtotu pipetēšanu. Lai nepieļautu putu veidošanos, saudzīgi resuspendējiet.

5c. Ievietojiet magnētisko slīdņi iekārtā AdnaMag-S.

5d. Pēc 1 minūtes pilnībā noņemiet visu supernatantu.

5e. Atkārtojiet 5a. līdz 5d. darbību vienu reizi (kopumā jāveic divas skalošanas).

6. Izņemiet stobriņu no iekārtas AdnaMag-S un resuspendējiet lodītes AdnaTest līzes/fiksācijas buferšķīdumā līdz sākotnējam apjomam (2. darbība 17. lpp.). Pārejiet uz "B procedūra: mRNS izolēšana".

B procedūra: mRNS izolēšana

1. Pievienojiet 20 µl Oligo(dT)₂₅ lodīšu (6. darbība, virs) katrā stobriņā, kas satur šūnu lizātu (15. darbība 16. lpp.).

2. Lēni rotējiet stobriņus (apmēram 5 apgr./min.) 10 minūtes istabas temperatūrā ierīcē, kurā var veikt gan sasvēršanu, gan rotēšanu.

3. Ievietojiet stobriņus iekārtā AdnaMag-S, neizmantojot magnētisko slīdņi. Sašūpojiēt AdnaMag-S lejup, lai atbrīvotu vāciņā iekļērušās lodītes un šķīdumu.

4. Ievietojiet magnētisko slīdņi un pēc 1 minūtes noņemiet supernatantu.

5. Skalošanas 1. darbība.

5a. Izņemiet magnētisko slīdņi no iekārtas AdnaMag-S.

- 5b. Katrā stobriņā pievienojiet 100 µl RNS attīrīšanas buferšķīduma A un resuspendējiet lodītes, veicot atkārtotu pipetēšanu. Lai nepieļautu lodīšu zudumu, rūpīgi noskalojiet vāciņu un stobriņa sienīgas.
- 5c. Ievietojiet magnētisko slīdni iekārtā AdnaMag-S.
- 5d. Pēc 1 minūtes pilnībā noņemiet visu supernatantu.
- 5e. Atkārtojiet 5a. līdz 5d. darbību vienu reizi (kopumā jāveic divas skalošanas).
6. Skalošanas 2. darbība.
 - 6a. Izņemiet magnētisko slīdni no iekārtas AdnaMag-S.
 - 6b. Katrā stobriņā pievienojiet 100 µl RNS attīrīšanas buferšķīduma B. Resuspendējiet lodītes, veicot atkārtotu pipetēšanu, un pārnesiet tās jaunos 1,5 ml reakcijas stobriņos (iekļauti komplektā).
 - 6c. Ievietojiet magnētisko slīdni iekārtā AdnaMag-S.
 - 6d. Pēc 1 minūtes pilnībā noņemiet visu supernatantu. Šis solis ir jāveic uzmanīgi (vērojiet granulū), jo lodītes var slīdēt, un tādā gadījumā tās var nejauši noņemt.
 - 6e. Atkārtojiet 6a. līdz 6d. darbību vienu reizi tajos pašos reakcijas stobriņos (kopumā jāveic divas skalošanas).
7. Izņemiet magnētisko slīdni no iekārtas AdnaMag-S.
8. Katrā stobriņā pievienojiet 100 µl ledusauksta Tris-HCL buferšķīduma un resuspendējiet lodītes, veicot pipetēšanu.
9. Ievietojiet magnētisko slīdni iekārtā AdnaMag-S.
10. Pēc 1 minūtes pilnībā noņemiet visu supernatantu.
11. Izņemiet magnētisko slīdni no iekārtas AdnaMag-S.
12. Resuspendējiet mRNS/lodīšu kompleksu 29,5 µl ūdens, kas nesatur RNāzi.
13. Pārvietojiet stobriņus uz termālo bloku vai ūdens vannu un inkubējiet 5 minūtes 50°C temperatūrā.
14. Nekavējoties novietojiet stobriņus uz ledus un gaidiet vismaz 2 minūtes.
15. Nekavējoties (5 minūšu laikā) uzsāciet atgriezenisko transkriptāzi (C procedūra: atgriezeniskā transkriptāze, izmantojot komplektu Sensiscript RT).
Neuzglabājiet mRNS/lodīšu kompleksu!

C procedūra: atgriezeniskā transkriptāze, izmantojot komplektu Sensiscript RT

1. Sagatavojiet RT Master Mix (RT mastermikss) uz ledus. RT Master Mix sagatavo atbilstoši 1. tabulā sniegtajiem norādījumiem, ņemot vērā paraugu skaitu.

Aprēķinot RT Master Mix tilpumu, kopējam atgriezeniskās transkriptāzes reakciju skaitam aprēķinātajam apjomam jābūt lielākam par 10 %. Obligāti jāgatavo negatīva kontroles reakcija, nepievienojot mRNS (RT kontrole).

2. Saskaliniet RT Master Mix. Īsu centrifugējiet un ar pipeti pārnesiet 0,2 ml PCR stobriņos 10,5 µl maisījuma katrai reakcijai.

3. Ar pipeti uzmanīgi resuspendējiet mRNS/lodīšu kompleksus (10. darbība 19. lpp.). Ievietojiet visu tilpumu jaunā 0,2 ml PCR reakciju stobriņā ar RT mastermikss. Rūpīgi sajauciet, atkārtoti veicot pipetēšanu.

1. tabula. Atgriezeniskās transkriptāzes reakcijas iestatne

Komponents	Tilpums
RT Master Mix	
10 x buferšķīdums RT	4,0 µl
dNTP maisījums (5 mM katra dNTP)	4,0 µl
RNāzes inhibitors, 40 V/µl (Promega)	0,5 µl
Sensiscript atgriezeniskā transkriptāze	2,0 µl
Šablona RNS* mRNS/lodīšu komplekss vai ūdens bez RNāzes	29,5 µl
Kopējais tilpums	40,0 µl

* Lai nodrošinātu RT kontroli, mRNS/lodīšu kompleksa vietā pievienojiet 29,5 µl ūdens bez RNāzes. mRNS/lodīšu kompleksa tilpums var nedaudz atšķirties. Atgriezeniskās transkriptāzes reakcijā jāizmanto šis kopējais tilpums.

4. kDNS tiek sintezēta termālajā amplifikatorā tālāk aprakstītajos apstākļos (2. tabula).

2. tabula. Atgriezeniskās transkriptāzes programma

Darbība	Laiks	Temperatūra
Atgriezeniskā transkriptāze	60 minūtes	37°C
Denaturācija	5 minūtes	93°C
Dzesēšana	∞	4°C

5. Novietojiet reakciju stobriņus ar kDNS uz ledus vai uzglabājiet -20 °C temperatūrā ne ilgāk kā 4 nedēļas.

6. Pārejiet uz "Protokols: Multiplex PCR" 22. lpp.

Protokols: Multiplex PCR

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

- Pirms procedūras izlasiet “Brīdinājumi un piesardzības pasākumi” (10. lpp.) un “Reaģentu glabāšana un lietošana” (11. lpp.).

Pirms darba sākšanas jāveic šādas darbības

- Thaw HotStarTaq Master Mix (QIAGEN), AdnaTest Positive Control Colon, AdnaTest PrimerMix ColonDetect un ūdens, kas nesatur RNāzi Saskaliniet, ātri centrifugējiet un uzglabājiet uz ledus.

Procedūra

1. PCR Master Mix tiek sagatavots atbilstoši 3. tabulā redzamajiem norādījumiem, ņemot vērā paraugu skaitu.

Master Mix tilpumam ir jābūt vismaz par 10% lielākam par paraugu skaitam aprēķināto. Ņemiet vērā, ka, izmantojot AdnaTest Positive Control Colon, vienmēr jābūt pievienotam ūdenim bez RNāzes kā negatīvajai kontrolei, kā arī RT kontrolei.

2. Katram paraugam dozējiet 42,0 µl PCR Master Mix 0,2 ml PCR reakciju stobriņā. Izmantojot pipetēšanas metodi, resuspendējiet kDNS/lodīšu maisījumu un pievienojiet 8,0 µl šī maisījuma katrā reakciju stobriņā.

Piezīme. Lai nodrošinātu negatīvo kontroli, kDNS vietā pievienojiet 8,0 µl ūdens bez RNāzes.

3. tabula. Vairāku amplikonu PCR sagatavošana

Komponents	Tilpums
Vairāku amplikonu PCR Master Mix	
HotStarTaq Master Mix	25,0 µl
Ūdens, kas nesatur RNāzi	13,0 µl
AdnaTest PrimerMix ColonDetect	4,0 µl
kDNS vai RT kontrole, vai negatīvā kontrole (ūdens, kas nesatur RNāzi), vai AdnaTest Positive Control Colon, katram:	8,0 µl
Kopējais tilpums	50,0 µl

3. PCR veikšanai tiek izmantots termālais amplifikators atbilstoši 4. tabulā aprakstītajai programmai. Darbiniet termālo amplifikatoru ar palielinājumu 2 °C/sekundē. PCR tiek kopā veikts 38 ciklos.

4. tabula. PCR ciklēšanas programma

Darbība	Laiks	Temperatūra
Sākotnējās aktivizēšanas darbība	15 minūtes	95°C
3 soļu ciklēšana		
Denaturācija	45 sekundes	94°C
Praimeru hibridizācija	45 sekundes	58°C
Ekstensija	45 sekundes	72°C
Galīgā ekstensija	10 minūtes	72°C
Dzesēšana	∞	4°C

Rezultātu interpretācija

Fragmenta analīze bioanalizatorā Agilent 2100

Analīzes veikšanai izmanto bioanalizatoru Agilent 2100 (Agilent Technologies), kas atrodas uz DNA 1000 LabChip®. Ievērojiet DNA 1000 LabChip rokasgrāmatā minētās norādes un pārliecinieties, ka LabChip nav iekļuvušas lodītes. Magnētiskās lodītes gelā var izraisīt nepatiesus rezultātus.

1. Palaidiet bionalizatora programmatūru “2100 expert”. Atlasiet **Instrument** (rīks) sadaļā **Contexts** (konteksti) un tad klikšķiniet iz pogas **Assay** (tests), kas atrodas blakus **Assay Selection** (testu atlase).
2. Atlasiet **Electrophoresis > DNA 1000 Series II.xsy** (elektroforēze > DNA 1000 Series II.xsy). Sagatavojiet mikroshēmu un sāciet izpildi.
3. Rezultātu novērtēšanai iestatiet noteikšanas sliekšni:
 - 3a. Atlasiet **Data** (dati) sadaļā **Contexts** (konteksti) un tad klikšķiniet uz cilnes **Assay Properties** (testa īpašības). Atlasiet **Global** (viss) un **Normal** (normāls) nolaižamajā izvēlnē labajā pusē.
 - 3b. Atlasiet **Sample Setpoints > Integrator > height threshold (FU)** (parauga iestatījumi > integrators > augstuma sliekšnis (FU)) un iestatiet šo vērtību uz **0** (noklusējuma vērtība ir **20**), lai noteiktu visus signālus.

Rezultātu analīze

Tests tiek uzskatīts par pozitīvu, ja ir skaidri noteikts vismaz viena ar audzēju saistīta transkripta PCR fragments.

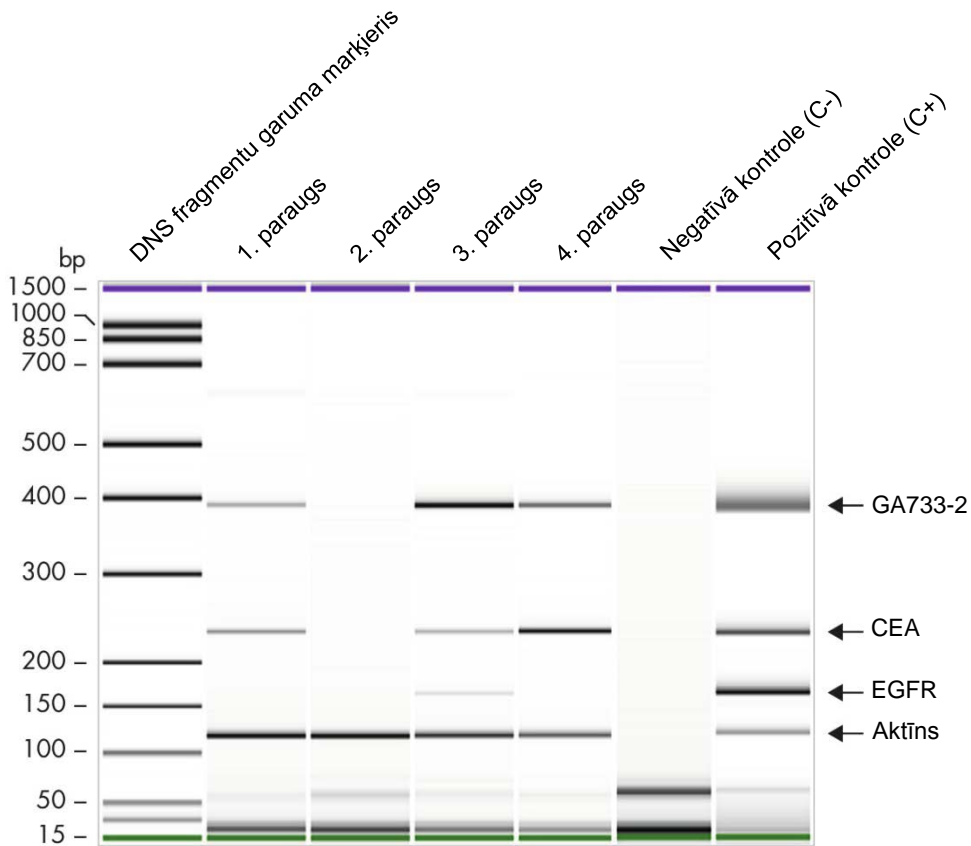
Ja tiek izmantots bioanalizators Agilent 2100, koncentrācijas $\geq 0,10$ ng/ μ l maksimālās vērtības ir pozitīvas (3. attēls).

Kontrolgēna aktīva fragmentam ir jābūt noteiktam visos testa paraugos (iekšējā PCR kontrole). Aktīva signāls nodrošina pozitīvu kontroli veiksmīgai šūnu atdalīšanai, atgriezeniskajai transkriptāzei un vairāku amplikonu PCR procesam. Negatīvās kontroles un RT kontroles paraugos nedrīkst būt joslas ar vairāk nekā 80 bāzes pāriem (primeru dimēri).

Fragments, kurš ir lielāks par 900 bp, liecina par kontamināciju ar gēnu DNS, norādot, ka šūnu atdalīšanas laikā ir radusies problēma. Šajā gadījumā rezultāti nav derīgi.

SVARĪGI! Ja protokols netiek precīzi ievērots, var tikt iegūti nepatiesi negatīvi vai nepatiesi pozitīvi rezultāti.

Ja ir nepieciešama palīdzība saistībā ar rezultātu interpretēšanu, lūdzu, sazinieties ar mūsu atbalsta komandu.



3. attēls. Ar bioanalizatoru Agilent 2100 analizēto paraugu AdnaTest ColonCancerDetect rezultāti. Pirmajā joslā ir redzams DNS izmēra standarts (DNS fragmentu garuma marķieris). 1. un 4. paraugam ir pozitīvs GA733-2 un CEA rezultāts, 2. paraugam ir negatīvs rezultāts, 3. paraugam ir pozitīvs GA733-2, CEA un EGFR rezultāts. Aktīns ir noteikts 1.–4. paraugā. PCR negatīvā kontrole (C–) un pozitīvā kontrole (C+) ir redzama divās pēdējās joslās.

Norādījumi par problēmu novēršanu

Skatiet lapu “Biežāk uzdotie jautājumi” tehniskā atbalsta centrā: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN Tehniskā atbalsta darbinieki vienmēr labprāt atbildēs uz jūsu jautājumiem par informāciju un/vai protokoliem šajā rokasgrāmatā, vai arī paraugu un testu metodēm (kontaktainformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com).

Kvalitātes kontrole

Atbilstoši pēc ISO prasībām sertificētajai QIAGEN Kvalitātes vadības sistēmai katra AdnaTest ColonCancerSelect un AdnaTest ColonCancerDetect partija ir pārbaudīta, salīdzinot ar iepriekš noteiktiem parametriem, lai nodrošinātu pastāvīgu produkta kvalitāti.

Ierobežojumi

Visus reaģentus jāizmanto tikai *in vitro* diagnostikā.

Produktu drīkst lietot tikai īpaši apmācīta persona *in vitro* diagnostikas veikšanai.

Ir svarīgi, ka pirms sistēmas izmantošanas operators pilnībā iepazīstas ar lietošanas instrukcijām.

Lai nodrošinātu optimālus PCR rezultātus, stingri jāievēro lietošanas instrukcijas.

Pārbaudiet derīguma termiņus, ka norādīti uz kastes un visu sastāvdaļu marķējuma. Neizmantojiet komponentus pēc derīguma termiņa beigām.

Visi iegūtie diagnostikas rezultāti jāinterpretē kopā ar citiem klīniskiem konstatējumiem vai laboratoriskiem rezultātiem.

Darbības raksturojums

Atgūšana

Veselu donoru asins paraugiem tika pievienotas divas un 10 kultivētas T84 zarnu vēža šūnas, lai noteiktu atgūšanas pakāpi, kura sasniegta, izmantojot AdnaTest ColonCancerSelect/Detect (5. tabula).

5. tabula. AdnaTest ColonCancer atgūšanas pakāpe attiecībā uz audzēja šūnām, kuras pievienotas veselu donoru asins paraugiem

	Kopējais paraugu skaits	Pozitīvo rezultātu skaits	Atgūšana
5 ml asiņu parauga pievienotas divas audzēja šūnas	63	48	76%
5 ml asiņu parauga pievienotas desmit audzēja šūnas	41	41	100%

No veselīgiem donoriem iegūtām 5 ml asiņu pievienotu 2 audzēja šūnu atgūšanas pakāpe ir 76%. No veselīgiem donoriem iegūtām 5 ml asiņu pievienotu 10 audzēja šūnu atgūšanas pakāpe ir 100%.

Specifiskums

AdnaTest ColonCancerSelect/Detect tika izmantots, lai analizētu 106 veselus donorus un noteiktu nepatiesi pozitīvo rezultātu koeficientu konkrētajā kontroles brīdī (katra iekļautā gēna profila, izņemot aktīva, fragmenta koncentrācija 0,15 ng/μl).

6. tabula. Parametru noteikšana

Kontrolgrupa	Kopējais paraugu skaits	Nepatiesi pozitīvo rezultātu skaits	Specifiskums (%)
Veseli donori	106	2 (2%)	98

AdnaTest ColonCancerSelect/Detect uzrādīja specifiskumu 98% apjomā (6. tabula).

Atkārtojamība

Divdesmit veselu donoru asins paraugiem tika pievienotas 10 T84 zarnu vēža šūnas uz vienu paraugu. Divi operatori izmantoja AdnaTest ColonCancerSelect/Detect asins paraugu analizēšanai, lai noteiktu atkārtojamību. Testa iekšējā un starptestu atkārtojamība bija 100 % (7. tabula).

7. tabula. AdnaTest ColonCancer Select/Detect atkārtojamība

Operators	Pozitīvs AdnaTest rezultāts/paraugi	Testa iekšējā atkārtojamība (%)	Starptestu atkārtojamība (%)
A	10/10	100	100
B	10/10	100	100

Precizitāte

Lai noteiktu precizitāti, tika apkopotas un analizētas kDNS devas, izmantojot AdnaTest ColonCancerDetect. Divi operatori analizēja 30 kDNS paraugus, ietverot 3 neatkarīgus 10 paraugu mērījumus. Testa iekšējā un starptestu precizitāte bija 100 % (8. tabula).

8. tabula. AdnaTest ColonCancerDetect precizitāte

Operators	Pozitīvs AdnaTest rezultāts/paraugi	Testa iekšējā precizitāte (%)	Starptestu precizitāte (%)
A	30/30	100	100
B	30/30	100	100

Traucējošas vielas

Antikoagulanti

Paņemot un pārvadājot asinis, obligāti jāizmanto antikoagulanti. Heparīns un citrāts izraisa agregātu veidošanos pēc AdnaTest imūnmagnētisko lodīšu pievienošanas, tāpēc testam var nebūt rezultātu vai tie var būt nepatiesi. Tomēr EDTA un ACDA (citrāta/dekstrozes/adenīna šķīdums A) ir saderīgi ar AdnaTest imūnmagnētiskajām lodītēm.

Hemolīze

Hemolīzi asins paraugos (plazmas frakcija izskatās sarkana) vairākumā gadījumu izraisa neatbilstoši transportēšanas vai uzglabāšanas apstākļi. Šādi paraugi var radīt nepatiesi negatīvus rezultātus, un tie ir jāatmet.

Ķīmijterapijas preparāti, mērķa terapijas medikamenti un antihormonu režīmi

Ķīmijterapijas preparāti (taksāni, cisplatīns, oksaliplatīns, 5-FU, antraciklīns, irinotekāns u.c.) ir iedarbīgi citotoksīni un izraisa bojājumus vai strauju šūnu bojāeju asins paraugos. Tādējādi ir liela iespējamība iegūt nepatiesi negatīvus rezultātus, izmantojot AdnaTest imūnmagnētiskās lodītes. Pēc šo vielu ievadīšanas cilvēka organismam ir nepieciešamas 5–7 dienas, lai veiktu to detoksificēšanu (9. tabula). Šajā laikā ņemtos asins paraugus nedrīkst izmantot darbā ar AdnaTest imūnmagnētiskajām lodītēm.

9. tabula. Ķīmijterapijas preparātu pussabrukšanas laiks

Medikaments	Pussabrukšanas laiks	Atsauce
5-Fluorouracil	Līdz 20 minūtēm	www.drugs.com/pro/fluorouracil-injection.html
Docetaxel	Līdz 11,1 stundai	www.drugs.com/pro/docetaxel.html
Cis-platinum	Līdz 30 minūtēm	www.drugs.com/pro/cisplatin.html
Carbo-platinum	Līdz 5,9 stundām	www.drugs.com/pro/carboplatin.html
Paclitaxel	Apmēram 25,4 stundas	www.drugs.com/pro/paclitaxel.html

Līdzīgi piesardzības pasākumi ir ieteicami arī tad, ja tiek izmantotas mērķa terapijas shēmas, piemēram, antivielas (Herceptin[®], bevacizumabs, cetuksimabs u.c.), tirozīna kināzes bloķētāji (olaparibs, Iressa[®], Erbitux[®], lapatinibs u.c.) un antihormonu medikamenti (tamoksifēns, abiraterons, enzalutamīds u.c.), kuri tiek lietoti kā atsevišķs medikaments vai kombinācijā ar ķīmijterapijas preparātiem.

Klīniskajos pētījumos, kuros tika konstatēta tādu cirkulējošo audzēja šūnu (circulating tumor cells — CTC) prognozējošā vērtība, kuras identificētas un raksturotas, izmantojot AdnaTest imūnmagnētiskās lodītes, nav novērota negatīva ķīmijterapijas preparātu, mērķa terapiju vai antihormonālu terapiju ietekme, ja pēc medikamentu lietošanas tiek ievērots nogaidīšanas periods — vismaz 7 dienas. Turklāt izplatītāko vienlaicīgi lietoto medikamentu (aspirīna, ibuprofēna, aprepitanta, steroīdu u.c) negatīvā ietekme ir maz ticama, lai gan tā tiek kontrolēta.

Traucējoši apstākļi

Asinsrece

Klīnisko pētījumu kontekstā pēc inkubācijas ar AdnaTest imūnmagnētiskajām lodītēm ir novērota asinsrece — visbiežāk asins paraugos, kuri iegūti no pacientiem vēlīnā slimības stadijā. AdnaTest darbplūsmas gaitā asins paraugos, kuros novērojama asinsrece, paaugstinātās viskozitātes dēļ ir grūti apstrādāt un pipetēt. Šādos asins paraugos ir arī nepieņemami liels kontaminējošu leikocītu skaits, kas izraisa nepatiesi pozitīvus rezultātus. Šādi paraugi ir jāatmet.

Labdabīga organiska saslimšana un hroniskas iekaisuma saslimšanas

Labdabīga organiska saslimšana un hronisks iekaisums, piemēram, artrīts, labdabīga prostatas hiperplāzija (BPH), Krona slimība u.c., neizraisa nepatiesi pozitīvus AdnaTest rezultātus.

Akūta alerģija

Akūtu alerģisku saslimšanu gadījumā pēc CTC bagātināšanas ar AdnaTest imūnmagnētisko lodīšu palīdzību rodas palielināts daudzums kontaminējošo leikocītu. Šī iemesla dēļ nevar pilnīgi izslēgt nepatiesi pozitīvus rezultātus.

Klīniskie pētījumi

Tika analizēti no 18 pacientiem ar metastātisku zarnu vēzi pirms terapijas un terapijas agrīnajā fāzē iegūti asins paraugi, lai sāktu klīnisko DT datu (iegūtu 3 mēnešus pēc terapijas sākšanas) salīdzināšanu ar AdnaTest rezultātiem. Kopējā CTC pozitivitāte pirms terapijas bija 67% (12/18). No šiem 12 pacientiem 4 neradās atbildes reakcija uz terapiju, 2 uzrādīja stabilu slimības stadiju un 6 pacientiem radās atbildes reakcija (daļēja remisija). CTC tika konstatētas 75% pacientu bez atbildes reakcijas, bet tās pilnībā (100%) izzuda terapijas agrīnā fāzē pacientu ar atbildes reakcijas grupā. Rezultāti liecina, ka metastātiska zarnu vēža CTC analīze ir agrīns atbildes reakcijas uz terapiju indikators. (Lankiewicz et al. 2008).

Atsauce

Lankiewicz, S., Zimmermann, S., Hollmann, C., Hillemann, T., and Greten, T.F. (2008) Circulating tumour cells as a predictive factor for response to systemic chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer. *Mol. Oncol.* **2**, 349–55.

Saīsinājumi

AdnaMag-L	Magnētisko daļiņu koncentrators (liels)
AdnaMag-S	Magnētisko daļiņu koncentrators (mazs)
bp	Bāzu pāri
C+	Pozitīva kontrole
C–	Negatīva kontrole
kDNS	Komplementāra dezoksiribonukleīnskābe
CEA	Karcinoembriālais antigēns
DNS	Dezoksiribonukleīnskābe
dNTP	Dezoksiribonukleotīda trifosfāti
EGFR	Epidermas augšanas faktora receptors
GA733-2	Ar kuņģa un zarnu trakta audzēju saistīts antigēns 733-2
kb	kilobāzes
mRNS	Matrices ribonukleīnskābe
PCR	Polimerāzes ķēdes reakcija
RNāze	Ribonukleāze
apgr./min.	Apgrīzieni minūtē
RT	Atgriezeniskā transkriptāze

Simboli



Satur reagentus, kuru daudzums ir pietiekams <N> testu veikšanai



Izlietot līdz



Temperatūras ierobežojumi



Kataloga numurs



Skatīt lietošanas norādījumus



Ražotājs



In vitro diagnostikas medicīnas ierīce



Materiāla numurs



Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs (GTIN)

Informācija pasūtīšanai

Prece	Saturs	Kat. Nr.
AdnaTest ColonCancerSelect	CTC izolēšanai un sekojošai mRNS ekstrācijai no nesadalītām cilvēka asinīm 12 paraugiem	395422
AdnaTest ColonCancerDetect	RT-PCR komplekts ar zarnu vēzi saistītas gēnu ekspresijas noteikšanai bagātinātās audzēja šūnās	396422
Saistītās preces		
AdnaTube	12 paraugu stobriņi ar EDTA. Izmantot tikai ar stabilizētām asinīm, kas paņemtas uzņēmuma BD A-CDA asins ņemšanas stobriņos	399932
AdnaMag-L	8 stobriņiem, 15 ml.	399921
AdnaMag-S	8 stobriņiem, 1,5 ml.	399911
Sensiscrypt RT Kit (50)	50 atgriezeniskās transkriptāzes reakcijām:* Sensiscrypt atgriezeniskā transkriptāze, 150 µl 10 x buferšķīdums RT, 100 µl dNTP maisījums (satur 5 mM katra dNTP), 1,1 ml ūdens bez RNāzes	205211
HotStarTaq Master Mix Kit (250 V)	3 x 0,85 ml HotStarTaq Master Mix (satur 250 vienības HotStarTaq DNS polimerāzes, PCR buferšķīdumu ar 3 mM MgCl ₂ , 400 µM katra dNTP) un 2 x 1,7 ml ūdens bez RNāzes	203443

* Sensiscrypt RT komplekts (50) ir piemērots tikai 25 paraugiem, izmantojot AdnaTest ColonCancerDetect, jo katrai reakcijai ir nepieciešams divkārsšs apjoms.

Jaunāko informāciju par licencēšanu un preču juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja instrukcijā. QIAGEN komplektu lietotāja rokasgrāmatas un lietotāja instrukcijas ir pieejamas www.qiagen.com, kā arī tās var pieprasīt QIAGEN tehniskā atbalsta centros vai pie vietējiem preču izplatītājiem.

AdnaTest ColonCancerSelect un AdnaTest ColonCancerDetect ierobežots licences līgums

Šī produkta izmantošana apliecina katra pircēja un tā lietotāja piekrišanu šādiem nosacījumiem:

1. Šo precī drīkst lietot tikai saskaņā ar protokoliem, kas nodrošināti kopā ar precī, un šo rokasgrāmatu, un to drīkst lietot tikai kopā ar sastāvdaļām, kas ietvertas šajā komplektā. Uzņēmums QIAGEN nepiešķir nekāda veida licenci uz nevienu no tā intelektuālajiem īpašumiem, lai šajā komplektā ietvertās sastāvdaļas izmantotu kopā ar jebkādam sastāvdaļām, kas nav ietvertas šajā komplektā, vai ar tām apvienotu, izņemot gadījumus, kas aprakstīti kopā ar precī piegādātajos protokolos un šajā rokasgrāmatā, kā arī papildu protokolos, kas pieejami tīmekļa vietnē www.qiagen.com. Dažus no šiem papildu protokoliem QIAGEN lietotāji nodrošina QIAGEN lietotājiem. Šie protokoli nav rūpīgi testēti vai optimizēti uzņēmumā QIAGEN. Uzņēmums QIAGEN nedz apliecina, nedz garantē, ka tie nepārkāpj trešo personu tiesības.
2. Uzņēmums QIAGEN negarantē, ka šis komplekts un/vai tā lietošana neaizskar trešo personu tiesības, ja vien tas nav nepārprotami norādīts.
3. Šis komplekts un tā komponenti ir licencēti vienreizējai lietošanai, un tos nedrīkst izmantot atkārtoti, atjaunot vai pārdot tālāk.
4. Uzņēmums QIAGEN īpaši atsakās no jebkādas citas tiesības vai netiesības atļaujas, kas nav skaidri norādīta.
5. Komplekta pircējs un lietotājs piekrīt neveikt un neatļaut citiem veikt jebkādas darbības, kas varētu izraisīt vai veicināt jebkuras no iepriekš aizliegtajām darbībām. Uzņēmums QIAGEN var pieprasīt šī ierobežotā licences līguma aizliegumu īstenošanu jebkurā tiesā un apņemas atgūt visus savus izmeklēšanas un tiesas izdevumus, ieskaitot advokātu honorārus, kas radušies, īstenojot šo ierobežoto licences līgumu vai jebkuru no uzņēmuma intelektuālā īpašuma tiesībām saistībā ar komplektu un/vai tā sastāvdaļām.

Jaunākos licences nosacījumus skatiet tīmekļa vietnē www.qiagen.com.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, HotStarTaq®, Sensiscript® (QIAGEN grupa); Agilent® (Agilent Technologies, Inc.); ERBITUX® (ImClone LLC., Eli Lilly and Company pilnībā piederošs meitasuzņēmums); Herceptin® (Genentech, Inc.); IRESSA® (AstraZeneca grupa) LabChip® (Caliper Life Sciences, Inc.); Sarstedt®, S-Monovette® (Sarstedt AG and Co.); Vacutainer® (Becton Dickinson and Company).

HB-2343-001 © 2017 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

Šī lappuse atstāta tukša ar nolūku

Pasūtišana www.qiagen.com/shop | Tehniskais atbalstssupport.qiagen.com | Tīmekļa vietne www.qiagen.com