

2017. március

AdnaTest ProstateCancerSelect és ProstateCancerDetect Kézikönyv



12 (katalógusszám: 395432)



12 (katalógusszám: 396432)

Prostatarákban szenvedő betegek teljes vérből származó tumorsejtjeinek a dúsítására és a feldúsított tumorsejtek prosztatárákkal társult génextpressziójának detektálására
In vitro diagnosztikai használatra
1. verzió



395432 (AdnaTest ProstateCancerSelect)
396432 (AdnaTest ProstateCancerDetect)



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY



R1 1106692



Tartalomjegyzék

Tervezett használat	4
Összefoglaló és magyarázat	4
A folyamat alapelve	5
AdnaTest ProstateCancerSelect	5
AdnaTest ProstateCancerDetect	5
Biztosított anyagok	7
Kit tartalma	7
Egyéb szükséges anyagok (melyeket a kit nem tartalmaz)	8
AdnaTest ProstateCancerSelect	9
AdnaTest ProstateCancerDetect	9
Figyelmeztetések és óvintézkedések	10
Biztonsági tudnivalók	10
Alkalmazási információk	11
Szabadalmak	11
Reagensek tárolása és kezelése	11
Tárolás	11
Kezelés	11
Mintakezelés és tárolás	12
Mintaelőkészítés	12
Protokoll: Tumorsejtek dúsítása AdnaTest ProstateCancerSelect használatával	14
Protokoll: Prostatára rákhoz köthető génexpresszió meghatározása dúsított tumorsejtekből AdnaTest ProstateCancerDetect használatával	17

Protokoll: Multiplex és Singleplex PCR	22
Eredmények értékelése	25
Az Agilent 2100 Bioanalyzer segítségével történő fragment analízis	25
Hibaelhárítási útmutató	29
Minőség ellenőrzés	29
Korlátok	29
Teljes ítmény jellemzők	30
Kihozatal	30
Specifitás	30
Reprodukálhatóság	31
Pontosság	31
Interferáló anyagok	32
Interferáló körülmények	33
Klinikai vizsgálatok	34
Referencia	35
Rövidítések	35
Jelek	35
Rendelési információk	37

Tervezett használat

Az AdnaTest ProstateCancerSelect egy in vitro diagnosztikai módszer, melyet prosztatarákos páciensek alvadásgátolt teljes vérmintáiból nyert tumorsejtek immunkémiai dúsításra terveztek, epitéliális és tumorhoz köthető antigének kombinációja által.

Az AdnaTest ProstateCancerDetect egy in vitro diagnosztikai assay, amit tumorsejtek expressziós profiljának az elemzésére terveztek, reverz transzkripció-, multiplex PCR- valamint azt követő Agilent 2100 Bioanalyzer készüléken végzett kapilláris elektroforézissel történő denzitometriás analízis által.

Az AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect nem alkalmas screenelésre és nem való a prosztrák jelenlétének diagnosztikus igazolására.

A termék szakemberek általi használatra - például molekuláris biológiai technikákat elsajátított technikusok vagy orvosok – javasolt.

Összefoglaló és magyarázat

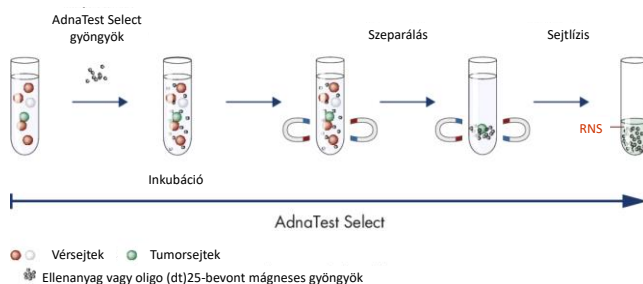
Az AdnaTest ProstateCancerSelect lehetővé teszi tumorsejtek - epitéliális és tumorhoz köthető antigének által történő - immunmágnese dúsítását. Az AdnaTest ProstateCancerDetect immunmágnese módszerrel dúsított tumorsejtek prosztatarákhoz köthető - reverz transzkripció és PCR által megvalósuló - génexpressziós analíziséhez használható.

A folyamat alapelve

AdnaTest ProstateCancerSelect

Mágneses gyöngyökhöz kötött epiteliális- és tumor asszociált antigének ellenanyagainak a segítségével jelölik teljes vér tumorsejtjeit. A jelölt sejtek mágneses részecske gyűjtővel (AdnaMag-L és AdnaMag-S) való eltávolítását a sejtek lízise követi (1. ábra).

A sejtízátum használható az Adna Test ProstateCancerDetect-tel való elemzésre.

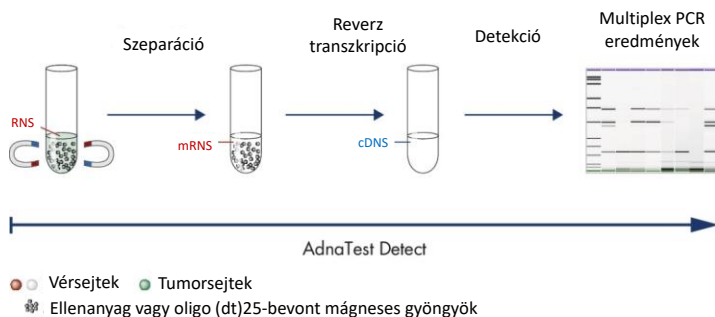


1. ábra. AdnaTest ProstateCancerSelect: Többszörös tumorasszociált antitestekkel történő immunmágneses sejtszelekció. Első lépésben a vérben cirkuláló tumorsejtek - ellenanyaggal bevont mágneses részecskék (gyöngyök) segítségével való - feldúsítása történik (Adna Test Select). Számos ellenanyag használható, amely magas specifitással és affinitással kötődik a megfelelő dagantsejthez. Ezt követően a feldúsított sejtek lízise és több alkalommal való tisztítása történik az mRNS extrakciója céljából.

AdnaTest ProstateCancerDetect

Az AdnaTest ProstateCancerDetect oligoval (dt)₂₅ bevont gyöngyöt tartalmaz, ami a feldúsított tumorsejtek lízátumából származó mRNS izolálásához szükséges. A reverz

transzkripció során cDNS keletkezik, ami ezt követően templátként szolgál tumor a sejtek multiplex PCR által történő detekciójához és karakterizálásához. Az AdnaTest PrimerMix ProstateDetect három tumorasszociált antigén és egy kontroll gén amplifikációját teszi lehetővé. Az AdnaTest PrimerMix AR-Detect segítségével lehetséges az androgen receptor (AR) amplifikációja.



2. ábra. AdnaTest ProstateCancerDetect: Különböző daganatasszociált tumomarker multiplex PCR reakciója. Második lépésben a feldúsított sejtek tumorhoz köthető expressziós mintázatának a vizsgálata történik RT-PCR segítségével. Az mRNS szálak reverz transzkripciója során cDNS képződik. Ezt követően számos tumor asszociált marker amplifikálható, s ezáltal vizualizálható multiplex PCR segítségével.

A két AdnaTest PrimerMIX az alábbi fragmentumokat hozza létre:

PrimerMix ProstateDetect

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

PrimerMix AR-Detect

- AR: 440 bp

Megjegyzés: A fragmenumok mérete kismértékben eltérhet. Győződjön meg az AdnaTest pozitív kontrollok használatáról a detektált jelek kijelölése végett.

Biztosított anyagok

Kit tartalma

AdnaTest ProstateCancerSelect			
Tesztek mennyisége			12
Katalógusszám			395432
Mintavevő cső	Cső (15 ml)	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	3 x 5
Mintavevő cső	Cső (1.5 ml)	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	24
Piros	ProstateSelect gyöngy	PSB	1,2 ml
Piros	AdnaTest Ly sis/Binding puffer	LBB	2 x 1,2 ml
	Kézikönyv		1
AdnaTest RNS Reagensok			1-es doboz
Piros	AdnaTest Ly sis/Binding puffer	LBB	2 ml
Narancssárga	Oligo(dT)25 gyöngy	OdT	280 µl
Fehér	RNS tisztító puffer A	BA	4ml
Fehér	RNS tisztító puffer B	BB	4ml
Lila	Tris-HCL puffer	TB	2 ml

AdnaTest ProstateCancerDetect			
Katalógusszám	396432		
tesztek mennyisége	12		
AdnaTest RNS Reagensok			1-es doboz
Piros	AdnaTest Lysis/Binding puffer	LBB	2 ml
Narancssárga	Oligo(dT)25 gy öngy	OdT	280 µl
Fehér	RNS tisztító puffer A	BA	4ml
Fehér	RNS tisztító puffer B	BB	4ml
Lila	Tris-HCL puffer	TB	2 ml
AdnaTest ProstateCancerDetect			2-es doboz
Kék	AdnaTest PrimerMix ProstateDetect	PMP	144 µl
Narancssárga	AdnaTest pozitív kontroll Prostate (C+)	CONTROL +	40 µl
Sárga	AdnaTest PrimerMix AR-Detect	PMA	144 µl
Rózsaszín	AdnaTest pozitív kontroll AR (C+)	CONTROL +	40 µl
	Kézikönyv		1

Az AdnaTest ProstateCancerDetect reagensok elegendőek 6 PCR kontroll és 12 vérminta elemzéséhez.

Egyéb szükséges anyagok (melyeket a kit nem tartalmaz)

Vegyszerekkel való munka során mindig viseljen megfelelő védőfelszerelést: köpenyt, gumikesztyűt és védőszemüveget. További információ elérhető a forgalmazó által biztosított termék biztonsági adatlapról (Safety Data Sheet).

AdnaTest ProstateCancerSelect

Felszerelés

- 15 ml and 1.5 ml cső rázó gép (pl.: ELMi Ltd., katalógusszám: IMIX-03)
- Mágneses részecske gyűjtők
 - AdnaMag-L (katalógusszám: 399921)
 - AdnaMag-S katalógusszám: 399911)

Tárgyi eszközök

- AdnaTube csövek (katalógusszám: 399932), BD Vacutainer® használata esetén, ACD-A csövek
- Steril, RNáz mentes 10 ml-es üveg vagy műanyag pipetta és pipettor
- Sterile, RNáz mentes 1,5 ml-es reakciós csövek (pl.: Sarstedt, katalógusszám: 72.690)
- Pipetták és RNáz mentes szűrős pipettahegyek (100-1000 µl térfogat bemérésére)

Reagensek

- Phosphate buffered saline (PBS), pH 7.0–7.3 (pl.: Fisher, katalógusszám: VX14190169, D-PBS)

AdnaTest ProstateCancerDetect

Felszerelés

- 1,5 ml csőrázó gép (pl.: ELMi Ltd., katalógusszám: IMIX-03)
- Mágneses részecske gyűjtő AdnaMag-S (katalógusszám: 399911)
- hőblokk vagy vízfürdő (65°C)
- PCR készülék, fűthető tetővel és 2°C/s fűtősebességgel
- Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies)

Tárgyi eszközök

- Steril, RNázmentes, vékonyfalú 0,2 ml PCR csövek
- Steril, RNázmentes 1,5 ml-es reakciós csövek (pl.: Sarstedt, katalógusszám: 72.690)
- Pipetták és RNáz mentes szűrős pipettahegyek (1-200 µl térfogat bemérésére)

Reagensek

- Sensiscript® RT Kit (QIAGEN, katalógusszám: 205211, 50 reakcióhoz)
 - **Megjegyzés:** The Sensiscript RT Kit (katalógusszám: 205211) csak 25 mintához elegendő, mivel minden reakcióhoz kétszeres mennyiség szükséges.
- Recombinant RNasin, Rnáz inhibitor, 2500 U (Promega, katalógusszám: N2511)
- HotStarTaq® Master Mix Kit (QIAGEN, katalógusszám: 203443, 250 U)
- Zúzott jég

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Kizárólag in vitro diagnosztikai használatra

Biztonsági tudnivalók

Vegyszerekkel való munka során mindig viseljen megfelelő védőfelszerelést: köpenyt, gumikesztyűt és védőszemüveget. További információ elérhető a termék biztonsági adatlapról (Safety Data Sheet). A biztonsági adatlapok elérhetőek PDF formátumban a www.qiagen.com/safely weboldalon, ahol megtalálható, illetve ahonnan kinyomtatható az összes QIAgen kit biztonsági adatlapja.

A minta, illetve assay hulladékok megsemmisítéséről gondoskodjon a helyi biztonsági szabályozásnak megfelelően.

Alkalmazási információk

Ezeket a tesztekét molekuláris biológiai technikai készségekkel rendelkező szakszemélyzet használhatja.

Szabadalmak

Az AdnaTest ProstateCancerDetect a Hoffmann-La Roche AG, Basel engedélyét igényli. Az AdnaTest ProstateCancerDetect megvásárlása nem jogosítja fel a felhasználót engedély nélküli PCR elvégzésére.

Reagensek tárolása és kezelése

Tárolás

Az AdnaTest ProstateCancer rendszert három dobozban szállítják. Az AdnaTest ProstateCancerSelect (katalógusszám: 395432) és az AdnaTest RNA Reagent Box 1 (1-es doboza a 396432-es katalógusszámú terméknek) 2–8°C között tárolandó. Az egyes komponensek nem használhatók a lejárat dátumot követően.

Az AdnaTest ProstateCancerDetect Box 2 (a 396432-es katalógusszámú termék 2-es doboza), amely az AdnaTest PrimerMixeket és AdnaTest pozitív kontrollt tartalmazza külön tárolandó, –30 és –15°C közötti hőmérsékleten. Az egyes komponensek nem használhatók a lejárat dátumot követően.

Kezelés

- ProstateSelect Beads (gyöngyök) nátrium azidot tartalmaz tartósítóként. A nátrium azid citotoxikus, ezért a gyöngyök használata előtt eltávolítandó. (lásd "Protokoll: Tumorsejtek dúsítása AdnaTest ProstateCancerSelect használatával, 14. oldal)

- Minden egyéb forrásból származó komponens és további reagens a gyártó utasításainak megfelelően tárolandó. Kövesse az adott gyártó biztonsági információit.
- Viseljen gumikesztyűt a DNS, RNS és RNáz kontamináció elkerülése végett.
- Aliquot-olja a ProstateSelect gyöngyöket a kontamináció elkerülése céljából.
- A teszt lépéseit a megjelölt sorrendben kell elvégezni, eleget téve az összes specifikációnak, tekintettel az inkubációs időre és -hőmérsékletre.
- Dobja ki a mintát, ha a gyöngyök sejtűdítés folyamán összetapadnak.
- Amennyiben lehetséges külön helyiségben végezze el a mintaelőkészítést - a reverz transzkripcióval együtt – és az azt követően amplifikálódó PCR termékek elemzését a keresztkontamináció elkerülésének céljából.
- Az ajánlott gyártóktól eltérő eredetű termékek használata nem kívánatos hatást eredményezhet.
- Tartsa be a laboratórium biztonsági és higiénés szabályait (pl.: laborköpeny, illetve védőszemüveg és kesztyű viselése).

Mintakezelés és tárolás

Mintaelőkészítés

- Vérmintát kell venni a terápiás anyagok adása előtt. Ne használja az AdnaTest ProstateCancerSelect-et a legutolsó terápiás beavatkozást követően 7 napon belül.
- Vérvétel: Amennyiben a minta szállítás kevesebb mint négy óra, használjon EDTA-s csövet antikoagulánsként (pl. S Monovette® K3 EDTA, Sarstedt [katalógusszám: 01.1605.001]) legalább 7,5 ml teljes vér vételéhez.
- Amennyiben a mintaszállítás több, mint négy órát vesz igénybe, használjon BD Vacutainer ACD-A csövet (Becton Dickinson GmbH, katalógusszám: 366645 [EU]; 364606 [US]) legalább 8,5 ml teljes vér vételéhez. További AdnaTest-tel való

felhasználást megelőzően 5 ml ACD-A vérmintát kell átmérni egy AdnaTube Sample Tube csőbe (katalógusszám: 399932).

- A vérmintát azonnal 4–8°C hőmérsékleten kell tárolni.
- A mintafeldolgozást amint lehet el kell végezni, de legkésőbb a mintavétel után négy órán belül standard EDTA csövek használatakor, illetve 30 órán belül BD Vacutainer vérvételi csövekből AdnaTube használattal kombinálva.
- A vérminták nem hemolizálhatnak.

Protokoll: Tumorsejtek dúsítása AdnaTest ProstateCancerSelect használatával

Kezdés előtti fontos tudnivalók

- A folyamat megkezdése előtt olvassa el a „Figyelmeztetések és óvintézkedések” (10. oldal), a „Reagensok tárolása és kezelése” (11. oldal) és a „Mintakezelés és tárolás” (12. oldal) részeket.
- A ProstateSelect Beads használata előtt mosással távolítsuk el a nátrium azidot, ahogy a „ProstateSelect Beads előkészítése” részben leírtak szerint.
- A csomagolásban mellékelt 1,5 ml-es gyűjtő csöveket csak a megjelölt protokoll lépésben használjuk fel.

Kezdés előtti teendők

- Győződjön meg róla, hogy az AdnaTest Lysis/Binding Buffer szobahőre lett ekvilibrálva. Ha kicsapódás figyelhető meg, akkor ekvilibrálja a reagenst szobahőre és keverje, amíg a kicsapódás teljesen feloldódik.

Folyamat A: A ProstateSelect Beads gyöngyök kicsapása

1. Pipettázással keverje fel a ProstateSelect Beads gyöngyöket. Ne vortexelje!
2. Számolja ki az összes feldolgozandó mintára szükséges ProstateSelect Beads térfogatot (100 µl mintánként) és tegye át a kiszámolt mennyiséget egy 1,5 ml-es reakciócsőbe (nem biztosított).

Ha 10-nél több mintaát dolgozunk fel, használjunk további 1,5 ml-es reakciócsöveket (nem biztosított).

3. Tegye a csövet az AdnaMag-S-be.
4. 1 perc után távolítsa el e felülúszót pipettával.

Megjegyzés: Ne érjen hozzá a gyöngyökhöz a felülúszó eltávolításakor!

5. Mosási lépések:
 - 5a. Távolítsa el a csúszómágnest az AdnaMag-S-ből.
 - 5b. Adjon hozzá 1 ml PBS-t és keverje fel a gyöngyöket ismételt pipettázással.
 - 5c. Tegye a csúszómágnest az AdnaMag-S-be.
 - 5d. 1 perc után teljesen távolítsa el a felülúszót pipettával.
 - 5e. 5a - 5d lépéseket ismétlje kétszer (összesen 3 mosás).
6. Távolítsa el a csövet az AdnaMag-S-ből, majd keverje fel a gyöngyöket PBS-ben az eredeti térfogatra (100 µl). Folytassa a „Folyamat B: Tumorsejtek szelektálása” résszel, alább.

Folyamat B: Tumorsejtek szelektálása

1. Ha standard EDTA csöveket használ, pipettázon 5ml vért a 15 ml-es Collection Tube csőbe.
Ha ACD-A-s BD Vacutainer-ben tárolt ACD-A-s vért használ, tegyen 5 ml vért az AdnaTube csőbe.
Megjegyzés: Az AdnaTubes csövek kötelezőek, ha BD Vacutainer ACD-A csöveket használ.
2. Alaposan keverje fel a ProstateSelect gyöngyöket (Folyamat A 6. lépésében előkészítve) pipettázással és adjon fejenként 100 µl gyöngyöt mindegyik vérmintához.
3. Lassan forgassa a csöveket (kb. 5 rpm) 30 percig szobahőn egy olyan eszközön, amely kilendülést és forgást is engedélyez.
4. Helyezze a csöveket AdnaMag-L-be, de a csúszómágnest nélkül. Lendítse az AdnaMag-L-t lefelé, hogy a kupakban ragadt vércseppek kiszabaduljanak.
5. Helyezze be a csúszómágnest és inkubálja a csöveket az AdnaMag-L-ben 3 percig szobahőn.
6. Távolítsa el a vér felülúszót teljesen egy 10 ml-es pipettával anélkül, hogy a gyöngyökhöz érne.

Megjegyzés: Ne érjen a gyöngyökhöz a felülúszó eltávolításakor!

7. Mosó lépések:

- 7a. Vegye ki a csúszómágnest az AdnaMag-L-ből.
- 7b. Adjon hozzá 5 ml PBS-t. Zárja be a csöveket és finoman rázza fel AdnaMag-L-t ötszöri hátra és visszamosogatással, hogy a mágneses gyöngy/sejt komplexumokat felkeverje.
- 7c. Lendítse az AdnaMag-L-t lefelé kétszer, hogy a kupakban ragadt cseppek kiszabaduljanak.
- 7d. Helyezze be a csúszómágnest az AdnaMag-L-be és inkubálja 1 percig szobahőn.
- 7e. Teljesen távolítsa el a felülúszót egy pipettával.
- 7f. 7a - 7e lépéseket ismételje kétszer (összesen 3 mosás).
8. Távolítsa el a csúszómágnest az AdnaMag-L-ből.
9. Keverje fel a mágneses gyöngy/sejt komplexumokat 1 ml PBS-ben és tegye át mindegyik mintát egy 1,5 ml-es reakciócsőbe (nem biztosított).
10. Helyezze a reakciócsöveket a a csúszómágnessel már addigra ellátott AdnaMag-S-be.
Megjegyzés: Az AdnaMag-S csúszómágnest kétféle pozícióban helyezhetjük be. Mindig a fehér műanyag szalag felé nézzen a csúszómágnest, hogy a mágnesek a reakciócsőkhöz legközelebb essenek.
11. After 1 perc után távolítsa el a felülúszót teljesen egy pipettával, hogy a soron következő sejt lízist optimalizálja.
12. Távolítsa el a csúszómágnest az AdnaMag-S-ből.
13. Adjon 200 µl AdnaTest Lysis/Binding puffert (szobahőre ekvilibrálva) mindegyik reakciócsőhöz. Keverje fel legalább ötszöri pipettázással.
14. Helyezze a csúszómágnest az AdnaMag-S-be és inkubálja 1 percig.
15. Helyezze át a felülúszót (sejt lizátum) új 1,5 ml-es reakciócsőbe (biztosítva).
16. Dobja ki a gyöngyöket tartalmazó csöveket.
17. Folytassa az mRNS izolálással (lásd "Protokoll: Prostatata rákhoz köthető génextpresszió meghatározása dúsított tumorsejtekből AdnaTest ProstateCancerDetect használatával", 17. oldal) azonnal vagy tárolja a sejtliázátumokat -20°C-on legfeljebb 2 hétig.

Protokoll: Prostatara kárhoz kóthetó gónepresszió meghatározása dúsitott tumorsejtekből AdnaTest ProstateCancerDetect használatával

Kezdés előtti fontos tudnivalók

- A folyamat megkezdése előtt olvassa el a “Figyelmeztetések és óvintézkedések” (10. oldal) és a “Reagensok tárolása és kezelése” (11. oldal) részeket.
- Az A-C pontokban leírt folyamatok leírják az mRNS izolálást és a reverz transzkripciót.
- Kérjük, csak a megjelölt protokoll lépésben használja a biztosított 1,5 ml-es gyűjtőcsöveket.

Kezdés előtti teendők

- Győződjön meg róla, hogy az AdnaTest Lysis/Binding puffer szobahőre lett kalibrálva. Ha kicsapódás figyelhető meg, akkor ekvilibrálja a reagenst szobahőre és keverje, amíg a kicsapódás teljesen feloldódik.
- Ekvilibrálja RNA Purification Buffer A és RNA Purification Buffer B puffereket szobahőre. Helyezze a Tris-HCL puffert jégre.
- Szobahőn olvassa fel a 10x Buffer RT-t és a dNTP-eket a Sensiscript RT Kit-ből. Vortexeléssel keverje fel. Röviden centrifugálja, majd tárolja jégen. Olvassa fel az RNáz-mentes vizet (Sensiscript RT Kit része).
- Állítson be egy thermo-blokkot vagy vízfürdőt 65°C-ra.

Folyamat A: Oligo(dT)₂₅ Bead-ek előkészítése

1. Használat előtt alaposan keverje fel az Oligo(dT)₂₅ Bead-eket pipettázással; ne vortexelje!

2. Számolja ki az összes feldolgozandó mintára szükséges gyöngy térfogatot (20 µl mintánként + 10%) és tegye át a kiszámolt térfogatot egy RNáz-mentes 1,5 ml-es reakciócsőbe (nem biztosított).

3. Helyezze a csövet az AdnaMag-S-be.

Megjegyzés: Az AdnaMag-S csúszómágnesét kétféle pozícióban helyezhetjük be. Mindig a fehér műanyag szalag felé nézzen a csúszómágnes, hogy a mágnesek a reakciócsőkhöz legközelebb essenek.

4. 1 perc után távolítsa el a felülúszót pipettával.

5. Mosási lépések:

5a. Távolítsa el a csúszómágneset az AdnaMag-S-ből.

5b. Adja hozzá az eredeti térfogatot (2. lépés, 18. oldal) az AdnaTest Lysis/Binding pufferből és keverje fel a gyöngyöket ismételt pipettázással. Óvatosan keverje, hogy a habzást elkerülje.

5c. Helyezze a csúszómágneset az AdnaMag-S-be.

5d. 1 perc után teljesen távolítsa el a felülúszót.

5e. 5a - 5d lépéseket ismétlje egyszer (összesen két mosás).

6. Távolítsa el a csövet az AdnaMag-S-ből, és keverje fel a gyöngyöket AdnaTest Lysis/Binding pufferben az eredeti térfogatra (2. lépés, 18. oldal). Folytassa a "Folyamat B: mRNS izolálás" résszel.

Folyamat B: mRNS izolálás

1. Adjon 20 µl of Oligo(dT)₂₅ Bead-et (6. lépés, fentebb) mindegyik sejtlizátumos csőbe (15. lépés, 16. oldal).

2. Lassan forgassa a csöveket (kb. 5 rpm) 10 percig szobahőn egy olyan eszközön, amely kilendülést és forgást is engedélyez.

3. Helyezze a csöveket az AdnaMag-S-be, de a csúszómágnes nélkül. Lendítse az AdnaMag-S-t lefelé, hogy a kupakban ragadt gyöngyök és folyadék kiszabaduljon.

4. Helyezze meg a csúszómágneset és 1 perc után távolítsa el a felülúszót.

5. Mosó lépések 1:

- 5a. Távolítsa el a csúszómágnest az AdnaMag-S-ből.
- 5b. Adjon 100 µl RNA Purification Buffer A-t mindegyik csőbe és keverje fel a gyöngyöket ismételt pipettázással. Hogy a gyöngyök elvesztését elkerüljük, alaposan öblítse le a kupakot és a cső falát.
- 5c. Helyezze be a csúszómágnest az AdnaMag-S-be.
- 5d. 1 perc után teljesen távolítsa el a felülúszót.
- 5e. 5a - 5d lépéseket ismétlje meg egyezr (összesen két mosás).

6. Mosó lépések 2:

- 6a. Távolítsa el a csúszómágnest az AdnaMag-S-ből.
- 6b. Adjon 100 µl RNA Purification Buffer B-t mindegyik csőbe. Keverje fel a gyöngyöket pipettázással és helyezze át egy új 1,5 ml-es reakciócsőbe (biztosított).
- 6c. Helyezze be a csúszómágnest az AdnaMag-S-be.
- 6d. 1 perc után teljesen távolítsa el a felülúszót. Ezt a lépést óvatossan végezze el (vigyázzon a pellet-re) mivel a gyöngyök lecsúszhatnak, és tévedésből eltávolításra kerülhetnek.
- 6e. 6a - 6d lépéseket ismétlje meg egyszer azonos reakciócsőben (összesen két mosás).

7. Távolítsa el a csúszómágnest az AdnaMag-S-ből.

- 8. Adjon 100 µl jéghideg Tris-HCL puffer-t mindegyik csőhöz és keverje fel a gyöngyöket pipettázással.
- 9. Helyezze be a csúszómágnest az AdnaMag-S-be.
- 10. 1 perc után teljesen távolítsa el a felülúszót.
- 11. Távolítsa el a csúszómágnest az AdnaMag-S-ből.
- 12. Keverje fel a mRNS/gyöngy-komplexet 14.75 µl RNáz-mentes vízben.
- 13. Helyezze át a csöveket egy thermal blokkba vagy vízfürdőbe és inkubálja 5 percig 65°C-on.
- 14. A csöveket helyezze azonnal jégre, legalább 2 percre.

15. Folytassa azonnal (5 percen belül) a reverz transzkripcióval (Folyamat C: Reverz transzkripció a Sensiscript RT Kit használatával).

Ne tárolja a mRNS/gyöngy komplexet!

Folyamat C: Reverz transzkripció a Sensiscript RT Kit használatával

1. Készítse el az RT master mixet jégen. Az RT master mixet az 1. táblázat alapján készítsük el a mintaszám függvényében.

Az RT master mix térfogata 10%-kal nagyobb legyen, mint az összes reverz transzkripció reakcióra szánt mennyiség. Mindig készítsünk hozzá egy, mRNS hozzáadása nélkül készített negatív kontroll reakciót is (RT control).

2. Vortexelje az RT master mixet. Röviden centrifugálja és pipetázzon 5.25 µl-t mindegyik reakcióhoz 0.2 ml-es PCR csövekbe.

3. Óvatosan keverje fel pipettával az mRNS/komplexekeket (12. lépés, 19. oldal). Helyezze át a teljes térfogatot 0.2 ml-es PCR reakciócsövekbe, amelyet már tartalmaznak az RT master mixet. Keverje meg alaposan ismételt pipetázással.

1. táblázat: Reverz transzkripció reakció összeállítása

Összetevő	Térfogat
RT master mix	
10x Buffer RT	2.0 µl
dNTP Mix (5 mM each dNTP)	2.0 µl
RNáz inhibitor, 40 U/µl (Promega)	0.25 µl
Sensiscript Reverse Transcriptase	1.0 µl
Templát RNS*	14.75 µl
mRNS/gyöngy komplex vagy RNáz mentes víz	
Teljes térfogat	20.0 µl

* Mint RT kontroll, adjon 14.75 µl RNáz-mentes vizet a mRNS/gyöngy-komplex helyett. A mRBS/gyöngy komplex térfogata enyhén változhat. Minden esetben a teljes térfogatot használja a reverz transzkripcióhoz!

4. A cDNS-t thermal cycler (PCR) gépben szintetizáljuk az alábbi kondíciókkal (2. táblázat).

2. táblázat: Reverz transzkripció program

Hőmérséklet	Idő
37°C	60 perc
93°C	5 perc
4°C	∞

5. A cDNS-t tartalmazó reakciócsöveket tegyük jégre vagy tároljuk –20 °C-on legfeljebb 4 hétig.

Folytassa a "Protokoll: Multiplex és Singleplex PCR" részszela 22. oldalon.

Protokoll: Multiplex és Singleplex PCR

Kezdés előtti fontos tudnivalók

- A folyamat megkezdése előtt olvassa el a “Figyelmeztetések és óvintézkedések” (10. oldal) és a “Reagensok tárolása és kezelése” (11. oldal) részeket

Kezdés előtti teendők

- Olvassa fel az alábbiakat: HotStarTaq Master Mix (QIAGEN), AdnaTest PrimerMix ProstateDetect, AdnaTest Positive Control Prostate, AdnaTest PrimerMix AR-Detect, AdnaTest Positive Control AR és RNáz-mentes víz. Vortexelje, röviden centrifugálja quickly és jégen tárolja.

Folyamat A: Multiplex PCR (AdnaTest ProstateDetect)

1. A PCR master mixet a 3. táblázat alapján készítsük el a mintaszám függvényében. A PCR Master Mix térfogatának számításakor legalább 10% többlet térfogattal kalkuláljunk. Fegyeljünk arra, hogy egy AdnaTest Positive Control Prostate, RNáz-mentes víz, mint negatív kontroll és az RT kontroll is mindig belekerüljön.
2. Mindegyik elkészítésnél osszunk szét 21.0 µl PCR master mixet 0.2 ml-es PCR reakciócsövekbe. Pipetázással keverjük fel a cDNS/gyöngy mixet és ebből tegyünk 4.0 µl-t mindegyik reakciócsőbe.

Megjegyzés: Mint negatív kontroll, adjunk 4.0 µl of RNáz-mentes vizet cDNS helyett.

3. táblázat: Multiplex PCR elkészítése

Összetevő	Térfogat
Multiplex PCR master mix	
HotStarTaq Master Mix	12.5 µl
RNáz-mentes víz	4.5 µl
PrimerMix ProstateDetect	4.0 µl
cDNS vagy RT kontroll vagy Negatív kontroll (RNáz-mentes víz) vagy Pozitív Kontroll (C+) mindegyikéből:	4.0 µl
Teljes térfogat	25.0 µl

3. A PCR-hez egy thermal cyclert (PCR gép) használunk a 4. táblázatban leírt programmal. A thermal cyclert 2°C/mp ramp idővel futtassa. A PCR reakcióban összesen 42 ciklus van.

4. táblázat: PCR cycling program

	Hőmérséklet	Idő
Kezdő aktiválási lépés	95°C	15 perc
3-step cycling		
Denaturálás:	94°C	30 mp
Bekötődés:	61°C	30 mp
Lánchosszabbítás:	72°C	30 mp
Ciklusok száma:	42	
Végső lánchosszabbítás:	72°C	10 perc
Hűtés:	4°C	∞

Folyamat B: Singleplex PCR (AdnaTest AR-Detect)

1. A PCR master mixet a 5. táblázat alapján készítjük el a mintaszám függvényében.

A PCR Master Mix térfogatának számításakor legalább 10% többlet térfogattal kalkuláljunk. Fegyeljünk arra, hogy egy AdnaTest Positive Control Prostate, RNáz-mentes víz, mint negatív kontroll és az RT kontroll is mindig belekerüljön.

2. Mindegyik elkészítésnél osszunk szét 21.0 µl PCR master mixet 0.2 ml-es PCR reakciócsövekbe. Pipettázással keverjük fel a cDNS/gyöngy mixet és ebből tegyünk 4.0 µl-t mindegyik reakciócsőbe.

Megjegyzés: Mint negatív kontroll, adjunk 4.0 µl of RNáz-mentes vizet cDNS helyett.

5. táblázat: Singleplex PCR elkészítése

Összetevő	Térfogat
Singleplex PCR master mix	
HotStarTaq Master Mix	12.5 µl
RNáz-mentes víz	4.5 µl
PrimerMix AR-Detect	4.0 µl
cDNS vagy RT kontroll vagy Negatív kontroll (RNáz-mentes víz) vagy Pozitív Kontroll (C+) mindegyikéből:	4.0 µl
Teljes térfogat	25.0 µl

3. A PCR-hez egy thermal cyclert (PCR gép) használunk a 6. táblázatban leírt programmal. A thermal cyclert 2°C/mp ramp idővel futtassa. A PCR reakcióban összesen 35 ciklus van.

6. táblázat: PCR ciklus program

	Hőmérséklet	Idő
Initial activation step	95°C	15 perc
3-step cycling (35 cycles)		
Denaturation:	94°C	30 mp
Annealing:	60°C	30 mp
Extension:	72°C	60 mp
Number of cycles:	35	
Final extension:	72°C	10 perc
Cool-down:	4°C	∞

Eredmények értékelése

Az Agilent 2100 Bioanalyzer segítségével történő fragment analízis

A vizsgálatot Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) készülékkal végezték DNA 1000 LabChip® -en. Kövesse a DNA 1000 LabChip kézikönyv utasításait és győződjön meg róla, hogy egyetlen gyöngy sem került át a LabChip-be. A gélben a mágneses gyöngyök érvénytelen eredményt okozhatnak.

1. Indítsa el a Bioanalyzer **2100 expert** szoftverét. Válassza ki az **“Instrument”**-et a **“Contexts”** alatt és kattintson az **“Assay”** gombra az **“Assay Selection”** mellett.
2. Válassza ki az **“Electrophoresis > DNA 1000 Series II.xsy”**-t. Készítse elő a chip-et és indítsa el a futtatást.
3. Az eredmények értékeléséhez állítsa be a detektálási köszöböt:
 - 3a. Válassza ki a **“Data”**-t a **“Contexts”** alatt és kattintson az **“Assay Properties”** földre. Válassza ki a **“Global”** és **“Normal”** -t a legördülő menü job oldalán.

- 3b. Válassza ki a **“Sample Setpoints > Integrator > height threshold (FU)”** -ot és állítsa be ezt az értéket 0-tól (alapértelmezett érték **20**), hogy az összes jelet detektálja.

Az AdnaTest ProstateDetect eredményeinek elemzése

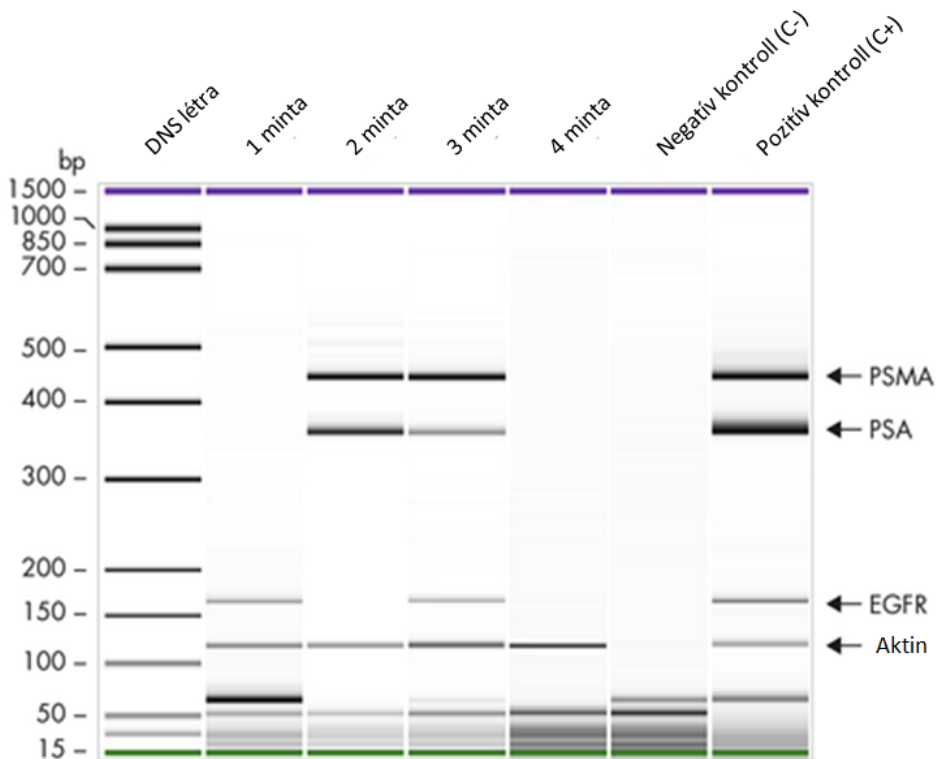
A teszt pozitívnak tekinthető, ha legalább egy tumor asszociált transzkript (PSMA, PSA vagy EGFR) PCR fragmentjét egyértelműen lehet detektálni.

Az Agilent 2100 Bioanalyzer-t használva a ≥ 0.10 ng/ μ l koncentrációjú csúcsok pozitívak. (3.ábra).

Az aktin kontroll gén fragmentjét minden páciens mintájában detektálni kell (belső PCR kontroll). Az aktin jel biztosítja a pozitív kontrollt a sikeres sejtszeparáláshoz, a reverz transzkripcióhoz és a multiplex PCR-hez. A negatív kontroll-, és az RT kontroll minták nem mutathatnak 80 bázispárnál nagyobb sávokat (primer-dimerek).

A 900 bp-nál nagyobb fragmentek a genomi DNS szennyeződését jelzik. Ebben az esetben az eljárás nem volt sikeres és az eredmények érvénytelenek.

FONTOS: Ha a protokollt nem pontosan követi, akkor az fals-negatív és fals-pozitív eredményeket okozhat.



3. ábra: AdnaTest ProstateCancerDetect multiplex PCR minták eredményei az Agilent 2100 Bioanalyzer-el vizsgálva. Az első oszlop a DNS méret standardot mutatja (DNS létra). 1 minta EGFR pozitív, 2 minta PSMA és PSA pozitív és 3. minta PSMA, PSA és EGFR pozitív. 4 minta negatív. Az 1 és 4 mintában az aktin detektálható volt. A PCR negatív (C-) és pozitív kontroll (C+)-t az utolsó két oszlop mutatja.

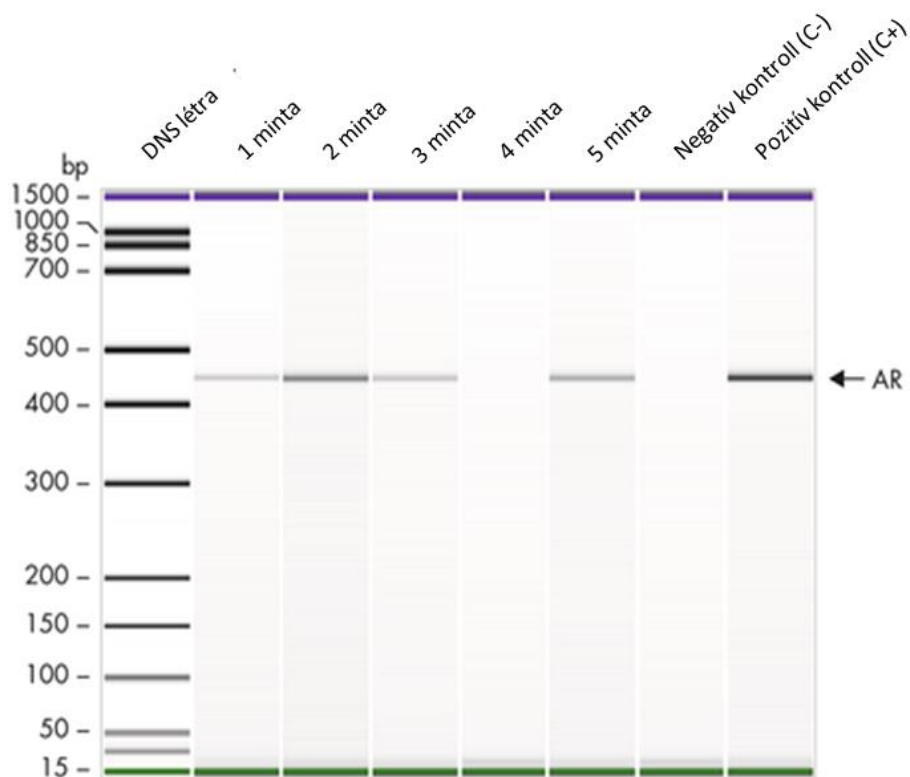
AdnaTest AR-Detect eredményeinek elemzése

Az Agilent 2100 Bioanalyzer használatával a ≥ 0.15 ng/ μ l koncentrációjú AR csúcsok for AR pozitívak (4.ábra).

Az aktin kontroll gén fragmentjét minden páciens mintájában detektálni kell (belső PCR kontroll). Az aktin jel biztosítja a pozitív kontrollt a sikeres sejtszeparáláshoz, a reverz

transzkripcióhoz és a multiplex PCR-hez. A negatív kontroll-, és az RT kontroll minták nem mutathatnak 80 bázispárnál nagyobb sávokat (primer-dimerek).

FONTOS: Ha a protokollt nem pontosan követi, akkor az fals-negatív és fals-pozitív eredményeket okozhat.



4. ábra: AdnaTest ProstateCancerDetect multiplex PCR minták eredményei. Az első oszlop a DNS méret standardot mutatja (DNS létra). Az 1-3. minta és az 5. minta AR pozitívak. A 4. minta negatív. A PCR negatív (C-) és a pozitív kontroll (C+)-t az utolsó két oszlop mutatja.

Hibaelhárítási útmutató

Ez a Hibaelhárítási útmutató segíthet a felmerülő problémák megoldásában. További információért keresse fel a Műszaki Támogatási Központ "Gyakran ismételt kérdések" w eboldalát: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. A QIAGEN Technikai Szolgálat szakemberei mindig örömmel válaszolnak a kézikönyvben szereplő információkra és/vagy protokollokra vonatkozó kérdésekre, illetve a minták-és assay-re vonatkozó technológiákra (a kapcsolattartókkal kapcsolatban, látogasson el a www.qiagen.com w eboldalra).

(for contact information, visit **www.qiagen.com**).

Minőség ellenőrzés

A QIAGEN ISO minősítéssel rendelkező minőségirányítási rendszerének megfelelően az AdnaTest ProstateCancerSelect és az AdnaTest ProstateCancerDetect minden gyártási tételét előre meghatározott specifikációk alapján tesztelik, hogy biztosítsák a következetes termékminőséget.

Korlátok

Az összes reagens kizárólag in vitro diagnosztikai használatra alkalmazható.

A terméket kizárólag az in vitro diagnosztikai eljárásokkal megbízott és képzett személyzet használhatja.

Fontos, hogy az üzemeltető alaposan elolvassa a használati utasítást a rendszer használata előtt.

Az optimális PCR-eredményekhez a használati utasítás szigorú betartása szükséges.

Ellenőrizze a dobozon feltüntetett lejárati dátumokat és a kit összes tartalmának címkéit. Ne használja a kit komponenseit a lejárati dátumuk után.

Minden generált diagnosztikai eredményt más klinikai vagy laboratóriumi eredményekkel együtt kell értelmezni.

Teljesítmény jellemzők

Kihozatal

Egészséges donorokból származó vérmintákat két LnCap prosztatarák sejtrel spike-oltak, hogy megállapítsák azt a kihozatali arányt, mely az AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect kittel érhető el (7. táblázat).

7. táblázat: Az AdnaTest ProstateCancer tumor sejtekkel spike-olt egészséges donorokból származó vérminták kihozatali aránya

	Pozitív esetek	Összes mintaszám
Két tumorsejtrel spike-olt 5 ml vér	38 (95%)	40

Az egészséges donorokból származó 2 tumorsejtrel spike-olt 5 ml vér detektálására a kihozatali aránya 95%.

Specifititás

Az AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect kitet használták 40 egészséges donor vizsgálatára, hogy megállapítsák egy adott cut-off értéknél a fals-pozitív arányát (0.10 ng/μl fragment koncentráció minden egyes génprofil tartalmaz, kivéve az aktint).

8. táblázat: Specifititás meghatározása

Kontrollok	Összes mintaszám	Fals-pozitívák száma	Specifititás (%)
Egészséges donork	40	0 (0%)	100

Az AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect 100%-os specifitást igazolt (8. táblázat).

Reprodukálhatóság

20 egészséges donorból származó mintát, egyenként 10 LnCap prosztatatarákos sejttel spike-olták. A vérmintákat két felhasználó vizsgálata AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect kitet használva, hogy a reprodukálhatóságot megállapítsák. A vizsgálatokon belüli (intra-assay) és a vizsgálatok közötti (inter-assay) reprodukálhatóság 100% volt (9.táblázat).

9. táblázat: Az AdnaTest ProstateCancer Select/Detect reprodukálhatósága

Felhasználó	Pozitív AdnaTest eredmény/minta	Intra-assay reprodukálhatóság (%)	Inter-assay reprodukálhatóság (%)
A	10/10	100	100
B	10/10	100	100

Pontosság

A pontossága megállapításához cDNS alikvótokat pooloztak és AdnaTest ProstateCancerDetect-el vizsgálták. Két felhasználó 30 cDNS mintát vizsgált, amelyből 10 minta 3 független mérésből áll. A vizsgálaton belüli (intra-assay) és a vizsgálaton kívüli (inter-assay) pontosság 100% volt (10.táblázat).

10. táblázat: Az AdnaTest ProstateCancerDetect pontossága

Felhasználó	Pozitív AdnaTest eredmény/minták	Intra-assay pontosság (%)	Inter-assay pontosság (%)
A	30/30	100	100
B	30/30	100	100

Interferáló anyagok

Antikoagulánsok

A vér levételekor és szállításakor az antikoagulánsok használata kötelező. Azonban a heparin és a citrát aggregátumok képződéséhez vezet az AdnaTest immunmágneses gyöngyök hozzáadása után, melyek a teszt eredményeinek vagy a hamis teszt eredményeinek hiányát vonja maga után.

Az EDTA és az ACDA (citrát/dextróz/adenin A oldat) az AdnaTest immunmágneses gyöngyökkel kompatibilis.

Hemolízis

A vérmintákban a hemolízis (a plazma frakció piros színű) a legtöbb esetben kialakulhat, köszönhetően a helytelen szállításnak és tárolási körülményeknek. Az ilyen minták fals-negatív eredményeket adhatnak és hulladékként kezelhetőek.

Kemoterapeutikumok, célzott terápiás gyógyszerek és antihormonális kezelések

Kemoterapeutikumok (taxánok, cisplatin, oxaliplatin, 5-FU, antraciklin, irinotekán etc.) potenciális citotoxinok és a vérmintában lévő sejtek károsodását, gyors sejthalált okozhatnak. Ez az AdnaTest immunmágneses gyöngyök használata esetén a fals-negatív eredmények nagy részét eredményezi. Ezeknek az anyagoknak az adagolása után az emberi szervezet 5-7 napra van szüksége a méregtelenítéshez (11.táblázat). A vérminták levétele ezalatt az idő alatt nem történhet meg az AdnaTest immunmágneses gyöngyök használatával együtt.

11. táblázat: A kemoterapeutikumok féléletideje

Gyógyszer	Féléletidő	Referencia
5-Fluouracil	Legf eljebb 20 perc	www.drugs.com/pro/fluorouracil-injection.html
Docetaxel	Legf eljebb 11.1 óra	www.drugs.com/pro/docetaxel.html
Cis-platinum	Legf eljebb 30 perc	www.drugs.com/pro/cisplatin.html
Carbo-platinum	Legf eljebb 5.9 óra	www.drugs.com/pro/carboplatin.html

Gyógyszer	Féléletidő	Referencia
Paclitaxel	Körülbelül 25.4 óra	www.drugs.com/pro/paclitaxel.html

Hasonló figyelmeztetések érvényesen és ajánlottak a célzott terápiás kezelésekre csakúgy, mint az antitestes terápiákra (Herceptin[®], bevacizumab, cetuximab etc.), tirozin kináz blokkolókra (olaparib, Iressa[®], Erbitux[®], lapatinib etc.) és antihormonális kezelésekre (tamoxifen, abiraterone, enzalutamide stb.) egyetlen hatóanyagként vagy kemoterápiás szerekkel kombinálva.

Az AdnaTest immunmágneses gyöngyökkel azonosított és jellemzett keringő tumorsejtek (CTC) prognosztikai értékét mutató klinikai vizsgálatokban a kemoterápiás szerek, a célzott terápiák vagy a hormonális terápiák negatív interferenciáját nem figyelték meg, feltéve, hogy a várakozási idő betartották legalább 7 nappal a beadás után. Továbbá a közös gyógyszerelés negatív hatása (Aspirin, ibuprofen, aprepitant, szteroidok stb.) nem valószínű, de ellenőrzés alatt áll.

Interferáló körülmények

Véralvadás

A klinikai vizsgálatok összefüggésében az *AdnaTest* immunmágneses gyöngyökkel történő inkubálás után figyelték meg a véralvadást - leggyakrabban a betegség késői stádiumában szenvedő betegek vérmintáin. Az alvadást mutató vérminták az *AdnaTest* munkafolyamat során nehezen feldolgozhatók a megnövekedett viszkozitás miatt és nehéz pipettázni. Elfogadhatatlanul sok szennyező leukocitát is tartalmaznak, amelyek hamis pozitív eredményhez vezetnek. Az ilyen mintákat el kell dobni.

Jóindulatú szervi megbetegedések és krónikus gyulladós állapotok

Jóindulatú szervi megbetegedések és a krónikus gyulladások, mint például az arthritis, jóindulatú prosztata megnagyobbodás, Crohn betegség stb., nem vezet fals-pozitív AdnaTest eredményhez.

Akut allergia

Akut allergiás állapotok esetén az AdnaTest immunmágneses gyöngyök használatával fokozódik a szennyező leukociták száma a CTC-dúsítás után. Ezért a hamis pozitív eredményeket nem lehet teljesen kizárni.

Klinikai vizsgálatok

Összesen 12, metasztatikus kasztráció-rezisztens prosztatarákban (CRPC) szenvedő beteget követtek a docetaxel-kezelés során. Az első mintát az első vonalban vizsgálták és 2 további mintát elemeztek a követés során.

Az AR aktiválással kapcsolatban egyértelműen bebizonyosodott, hogy az AR aktiválása és deaktiválása erősen összefügg a terápiás beavatkozás miatti CTC-elimináció arányával.

Azonban a CTC pozitivitási ráta a kezelés alatt 70% -ról a kiindulási értékről -35% -ra esett vissza a követés során, és az AR pozitivitás 55% -ról 11% -ra csökkent. A terápia miatt az AR-pozitív CTC szubklónokat a docetaxel kezelés jobban befolyásolja, mint az AR-negatív CTC. Ezek a megfigyelések jól korrelálnak a Darshan és mtsai. 2011-ben megfigyelésével, ahol az AR nukleáris transzport és jelátvitel taxán okozta blokádját figyelték meg.

Ezek az eredmények jelzik a CTC-k specifikus és érzékeny kimutatását a prosztatarák klinikai mintáin, valamint a terápiás célokkal kapcsolatos genetikai profilok értékelését.

Referencia

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. Published online 2011 Jul 28. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1417.

Rövidítések

AdnaMag-L	Mágneses részecske koncentrátor (-nagy)
AdnaMag-S	Mágneses részecske koncentrátor (-kicsi)
AR	Androgén receptor
bp	Bázispárok
C+	Pozitív kontroll
C–	Negatív kontroll
cDNA	komplementerdezoxiribonukleinsav
DNA	Dezoxiribonukleinsav
dNTPs	Dezoxinukleotid trifoszfát
EGFR	Epidermális növekedési factor receptor
kb	kilobázisok
mRNA	Messenger ribonukleinsav
PCR	Polimeráz láncreakció
PSA	Prosztata specifikus antigén
PSMA	Prosztata specifikus membrán antigén
RNase	Ribonukleáz
rpm	Percenkénti fordulatszám
RT	Reverse transzkripció

Jelek



<N>

A kit tartalma <N> tesztre elegendő



Lejárat



Hőmérséklet-korlátozás

REF



IVD

MAT

GTIN

Katalógusszám

Olvassa el a használati utasítást

Gyártó

In vitro diagnosztikai orvosi eszköz

Anyagszám

Globális kereskedelmi áruazonosító szám (GTIN)

Rendelési információk

Termék	A kit tartalma	Kat. szám
AdnaTest ProstateCancerSelect	A CTC-k izolálására és az azt követő mRNS kivonásra alkalmas kit teljes humán vérből, 12 minta feldolgozására	395432
AdnaTest ProstateCancerDetect	RT-PCR kit, mely a feldúsított tumorsejtekből a prosztatatarák asszociált génexpresszió detektálására szolgál	396432
Kapcsolódó termékek		
AdnaTubes	12 minta cső EDTA-tartalommal. Kizárólag antikoagulált vérmintához használható, A-CDA vérgyűjtő csőben BD	399932
AdnaMag-L	8 csőhöz, 15 ml	399921
AdnaMag-S	8 csőhöz, 1.5 ml	399911
Sensiscript RT Kit (50)	50 reverz-transzkripció reakcióhoz:* Sensiscript Reverse Transcriptase, 150 µl 10x Buffer RT, 100 µl dNTP Mix (tartalmaz 5 mM-t minden egyes dNTP-ből), 1.1 ml RNáz mentes víz	205211
HotStarTaq Master Mix Kit (250 U)	3 x 0.85 ml HotStarTaq Master Mix (tartalmaz 250 units HotStarTaq DNA Polymerase, PCR Buffer with 3 mM MgCl ₂ , and 400 µM-t minden egyes dNTP-ből) és 2 x 1.7 ml RNáz mentes víz	203443

* The Sensiscript RT Kit (50) 25 darab AdnaTest ProstateCancerDetect-t használó mintához elegendő, mivel mindkét reakcióhoz kétszeres térfogat szükséges.

A naprakész engedélyezési információk és termékspecifikus felelősségbiztosítások tekintetében tekintse meg az erre vonatkozó QIAGEN kit kézikönyvét vagy használati útmutatóját. A QIAGEN kit kézikönyvének és felhasználói kézikönyvek a **www.qiagen.com** címen érhetők el, vagy kérhetők a QIAGEN Műszaki szervizétől vagy a helyi forgalmazótól.

Korlátozott Licenc megállapodás az AdnaTest ProstateCancerSelect és AdnaTest ProstateCancerDetect kitékre

Ennek a terméknek a használatával bármely a kit-et beszerző és használó kinyilvánítja beleegyezését a következő feltételekbe:

1. A termék a hozzá adott kézikönyvben szereplő protokollokkal összhangban és csak a készletben található elemekkel együtt használható. A QIAGEN valamennyi szellemi tulajdonjoga alapján nem járul hozzá, hogy felhasználják és beleépítsék a készletben lévő elemeket a készletben nem megtalálható elemekkel, kivéve abban az esetben, ha az szerepel a termékhez biztosított kézikönyvben, protokollokban vagy a www.qiagen.com honlapon található további protokollok valamelyikében. Néhány ezek közül a további protokollok közül a QIAGEN felhasználók által más QIAGEN felhasználók részére bocsátott protokollok. Ezeket a QIAGEN nem vetette alá alapos teszteknek és nem optimalizálta. A QIAGEN sem garanciát sem szavatosságot nem vállal arra, hogy ezek nem sértek harmadik fél jogait.
2. A kifejezett licenccen kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a készlet és/vagy ennek használata harmadik fél jogait nem sérti
3. A kit és összetevőinek licence csak egyszeri használatra érvényes, nem szabad azt újra felhasználni, felújítani vagy újra értékesíteni.
4. A QIAGEN egyértelműen elutasít minden más (kifejezett vagy hallgatlagosan beleértett) licenct, amelyet külön nem nyilvánított ki.
5. A kit vevője és felhasználója elfogadja, hogy sem ő maga nem teszi és senki másnak sem engedélyez semmilyen lépést, amely a fenti pontokban tiltott cselekményre vezet vagy elősegíti azt. A korlátozott licenc egyezménybe foglalt korlátozásokat a QIAGEN bármely bíróságon keresztül érvényesítheti, továbbá a licenc megszegését a nyomozati és bírósági eljárás teljes költségének megtérítésére kötelezheti, beleértve az ügyvédi díjakat is abban az eljárásban, amelynek célja a korlátozott licenc, valamint a kit-hez és összetevőjéhez kapcsolódó szellemi tulajdonjog betartatása.

A legfrissebb licenc feltételekért látogassa meg a www.qiagen.com honlapot.

Ennek a terméknek a megvásárlása fejjogosítja a vevőt a kit humán in vitro diagnosztikai szolgáltatás teljesítményszinten való használatra. A vásárlással megszerzett használati jogon kívül semmilyen általános szabaddalmi vagy bármilyen más licenz engedélyre nem jogosít ez a megállapodás.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, HotStarTag®, Sensiscript® (QIAGEN Group); Agilent® (Agilent Technologies, Inc.); ERBITUX® (ImClone LLC, a wholly-owned subsidiary of 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, minden jog fenntartva.

Ez az oldal szándékosan maradt üresen

Ez az oldal szándékosan maradt üresen

Ez az oldal szándékosan maradt üresen

