

Marts 2017

Håndbog til AdnaTest ProstateCancerSelect og ProstateCancerDetect



12 (katalognr. 395432)



12 (katalognr. 396432)

Til berigelse af tumorceller fra fuldblod fra prostatacancerpatienter og påvisning af
prostatacancerassocieret genskspresion i berigede tumorceller
Til in vitro-diagnostisk brug
Version 1

IVD

CE

REF

395432 (AdnaTest ProstateCancerSelect)
396432(AdnaTest ProstateCancerDetect)



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, TYSKLAND

R1 **MAT**

1106692DA

Sample to Insight



Indhold

Tilsligtet anvendelse	4
Opsummering og forklaring	4
Procedureprincip	5
AdnaTest ProstateCancerSelect	5
AdnaTest ProstateCancerDetect	5
Medfølgende materialer	7
Kit-indhold	7
Nødvendige materialer, som ikke medfølger	9
AdnaTest ProstateCancerSelect	9
AdnaTest ProstateCancerDetect	10
Advarsler og forholdsregler	11
Sikkerhedsinformationer	11
Oplysninger om anvendelse	11
Patenter	11
Opbevaring og håndtering af reagenser	12
Opbevaringsforhold	12
Behandling	12
Håndtering og opbevaring af prøver	13
Prøveforberedelse	13
Protokol: Berigelse af tumorceller ved hjælp af AdnaTest ProstateCancerSelect	14
Protokol: Påvisning af prostatacancerassocieret genekspression i berigede tumorceller ved anvendelse af AdnaTest ProstateCancerDetect	17

Protokol: Multiplex og Singleplex PCR	22
Fortolkning af resultater	25
Fragmentanalyse på Agilent 2100 Bioanalyser	25
Fejlfindingsvejledning	29
Kvalitetskontrol	29
Begrænsninger	29
Ydelsesegenskaber	30
Genvinding	30
Specificitet.....	30
Reproducerbarhed.....	31
Præcision	31
Interfererende stoffer	31
Interfererende forhold	33
Kliniske undersøgelser.....	34
Reference	34
Forkortelser	34
Symboler	36
Bestillingsinformation.....	37

Tilsigtet anvendelse

AdnaTest ProstateCancerSelect er en in vitro-diagnostisk metode, der er beregnet til immunokemisk berigelse af cirkulerende tumorceller fra antikoagulerede fuldblodsprøver fra prostatacancerpatienter via en kombination af epitel- og tumorassocierede antigener.

AdnaTest ProstateCancerDetect er en in vitro-diagnostisk analyse, der er beregnet til analyse af ekspressionsprofiler af tumorceller ved revers transkription og multiplex PCR og efterfølgende densitometrisk analyse af PCR-produkter ved automatiseret kapillærelektroforese ved hjælp af Agilent® 2100 Bioanalyser.

AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect er hverken beregnet til screeningsformål eller til anvendelse som en diagnostisk test til bekræftelse af forekomst af prostatacancer.

Produktet er beregnet til brug af professionelle brugere, såsom laboratorieteknikere og læger, der er uddannet i molekylærbiologisk teknik.

Opsummering og forklaring

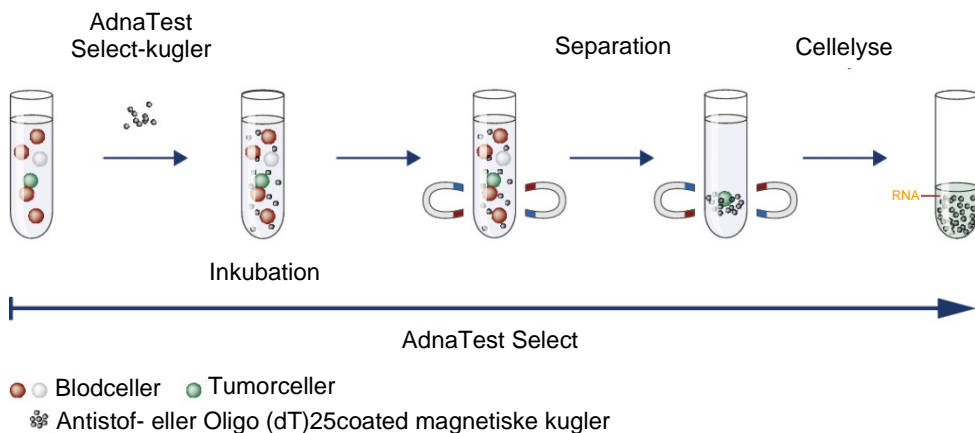
AdnaTest ProstateCancerSelect muliggør immunomagnetisk berigelse af tumorceller via epitel- og tumorassocierede antigener. AdnaTest ProstateCancerDetect anvendes til analyse af prostatacancerassocieret genekspression i immunomagnetiskberigede tumorceller ved revers transkription og PCR.

Procedureprincip

AdnaTest ProstateCancerSelect

Antistoffer mod epitel- og tumorassocierede antigener er konjugeret til magnetiske kugler til mærkning af tumorceller i fuldblod. Mærkede celler ekstraheres af en magnetisk partikkelkoncentrator (AdnaMag-L og AdnaMag-S) og lyses efterfølgende (Figur 1).

Cellelysatsat anvendes til yderligere analyse med AdnaTest ProstateCancerDetect.

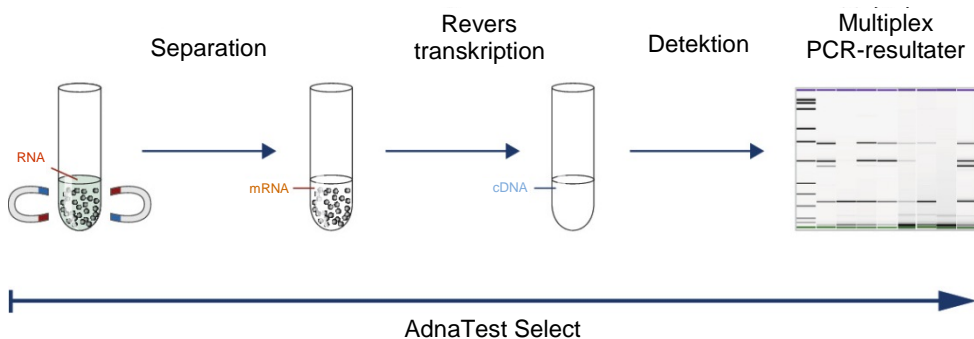


Figur 1. AdnaTest ProstateCancerSelect: Immunomagnetisk cellevalg med mange tumorassocierede antistoffer. I det første trin beriges CTC'er i blodet (AdnaTest Select). Dette opnås med antistofcoatede magnetiske partikler (kugler). Der anvendes adskillige antistoffer, som binder med højspecificitet og affinitet til de tilsvarende cancerceller. De berigede celler lyses og oprenses efterfølgende adskillige gange for at ekstrahere mRNA.

AdnaTest ProstateCancerDetect

AdnaTest ProstateCancerDetect indeholder Oligo (dT)₂₅-kugler til isolering af mRNA fra lysatsat af præberigede tumorceller. Revers transkription resulterer i cDNA, som efterfølgende

anvendes som skabelon for påvisning af tumorceller og karakteristik via multiplex PCR. AdnaTest PrimerMix ProstateDetect muliggør amplifikation af tre tumorassocierede antigener og et kontrolgen. AdnaTest PrimerMix AR-Detect muliggør amplifikation af androgenreceptor (AR).



● ● Blodceller ● Tumorceller

⊗ Antistof- eller Oligo (dT)25coated magnetiske kugler

Figur 2. AdnaTest ProstateCancerDetect: Multiplex PCR af forskellige cancerassocierede tumormarkører. I et andet trin undersøges de berigede celler af RT-PCR for tumorassocierede ekspressionsmønstre. mRNA-strengene er revers transkriberet i cDNA. Efterfølgende kan adskillige associerede tumormarkører forstærkes ved hjælp af 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-kontrol)

PrimerMix AR-Detect

- AR: 440 bp

Bemærk: Fragmentstørrelser kan variere lidt. Sørg for at anvende AdnaTest positive kontroller til tildeling af de påviste signaler.

Medfølgende materialer

Kit-indhold

AdnaTest ProstateCancerSelect			
Antal tests		12	
Katalognummer		395432	
Collection Tubes (prøvetagningsrør)	Collection Tubes (prøvetagningsrør) (15 ml)	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	3 x 5
Collection Tubes (prøvetagningsrør)	Collection Tubes (prøvetagningsrør) (1,5 ml)	<input type="checkbox"/> COL <input type="checkbox"/> TUBE	24
Rød	ProstateSelect Beads (ProstateSelect-kugler)	PSB	1,2 ml
Rød	AdnaTest Lysis/Binding Buffer (AdnaTest-lyse-/bindingsbuffer)	LBB	2 x 1,2 ml
	Håndbog		1

AdnaTest ProstateCancerDetect			
Katalognr.	396432		
Antal tests	12		
AdnaTest RNA-reagenser			Æske 1
Rød	AdnaTest Lysis/Binding Buffer (AdnaTest-lyse-/bindingsbuffer)	LBB	2 ml
Orange	Oligo(dT)25 Beads (Oligo(dT)25-kugler)	OdT	280 µl
Hvid	RNA Purification Buffer A (RNA-oprensningbuffer A)	BA	4ml
Hvid	RNA Purification Buffer B (RNA-oprensningbuffer B)	BB	4ml
Lilla	Tris-HCL Buffer (Tris-HCL-buffer)	TB	2 ml
AdnaTest ProstateCancerDetect			Æske 2
Blåt	AdnaTest PrimerMix ProstateDetect	PMP	144 µl
Orange	AdnaTest Positive Control Prostate (C+) (AdnaTest positiv prostatakontrol (C+))	CONTROL +	40 µl
Gul	AdnaTest PrimerMix AR-Detect	PMA	144 µl
Lyserød	AdnaTest Positive Control AR (C+) (AdnaTest positiv kontrol AR (C+))	CONTROL +	40 µl
	Håndbog		1

AdnaTest ProstateCancerDetect-reagenser er tilstrækkelige til at analysere 6 PCR-kontroller og 12 blodprøver.

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (safety data sheets, SDS'er), som kan fås hos produktets leverandør.

AdnaTest ProstateCancerSelect

Udstyr

- Rørrotator til 15 ml og 1,5 ml rør (f.eks. ELMi Ltd., katalognr. IMIX-03)
- Magnetiske partikelkoncentratorer
 - AdnaMag-L (katalognr. 399921)
 - AdnaMag-S (katalognr. 399911)

Materiale

- AdnaTube Tubes (AdnaTube-rør) (katalognr. 399932) ved arbejde med BD Vacutainer® ACD-A-rør
- Sterile, RNase-fri 10 ml glas- eller plastpipetter og pipette
- Sterile, RNase-free 1.5 ml reaction tubes (Sterile, RNase-fri 1,5 ml reaktionsrør) (f.eks. Sarstedt, katalognr. 72.690)
- Pipetter og RNase-frie pipettespidser med aerosolbarrierer, som passer til pipetteringsvolumener fra 100 µl til 1.000 µl

Reagenser

- Phosphate buffered saline (PBS) (Phosphatbufferet saltvand (PBS), pH 7,0-7,3) (f.eks. Fisher, katalognr. VX14190169, D-PBS)

AdnaTest ProstateCancerDetect

Udstyr

- Tube rotator 1.5 ml tubes (Rørrotator til 1,5 ml rør) (f.eks. ELMI Ltd., katalognr. IMIX-03)
- Magnetic particle (Magnetisk partikkelkoncentrator AdnaMag-S) (katalognr. 399911)
- Termisk blok eller vandbad (65 °C)
- Termocykler med et opvarmet låg og en opvarmingshastighed på 2°C/s.
- Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies)

Materiale

- Sterile, RNase-fri tyndvæggede 0,2 ml PCR-rør
- Sterile, RNase-free 1.5 ml reaction tubes (Sterile, RNase-fri 1,5 ml reaktionsrør) (f.eks. Sarstedt, katalognr. 72.690)
- Pipetter og RNase-frie pipettespidser med aerosolbarrierer, som passer til pipetteringsvolumener fra 1 µl til 200 µl

Reagenser

- Sensiscript® RT-kit (QIAGEN, katalognr. 205211, 50 reaktioner)
 - **Bemærk:** Sensiscript RT-kittet (katalognr. 205211) er kun tilstrækkeligt til 25 prøver, fordi den dobbelte volumen er påkrævet til hver reaktion.
- Recombinant RNasin, RNase-inhibitor, 2500 U (Rekombinant RNasin, RNase-hæmmer, 2500 E (Promega, katalognr. N2511)
- HotStarTaq® Master Mix Kit (HotStarTaq®-masterblandingskit) (QIAGEN, katalognr. 203443, 250 E)
- Knust is

Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk brug

Sikkerhedsinformationer

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (SDS'er). Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN-kit og hver kitkomponent.

Kassér prøve- og analyseaffald i henhold til de lokale sikkerhedsbestemmelser.

Oplysninger om anvendelse

Disse tests skal udføres af personale med erfaring i molekylærbiologiske teknikker.

Patenter

AdnaTest ProstateCancerDetect kræver licenser fra Hoffmann-La Roche AG, Basel. Købet af AdnaTest ProstateCancerDetect giver ikke brugeren tilladelse til at udføre PCR uden licens.

Opbevaring og håndtering af reagenser

Opbevaringsforhold

AdnaTest ProstateCancer System leveres i tre æsker. AdnaTest ProstateCancerSelect (katalognr. 395432) og AdnaTest RNA-reagensæske 1 (æske 1 af katalognr. 396432) skal opbevares ved 2-8 °C. Komponenterne må ikke anvendes efter udløbsdatoen.

AdnaTest ProstateCancerDetect æske 2 (æske 2 af katalognr. 396432) indeholdende AdnaTest PrimerMixes og AdnaTest positive kontroller skal opbevares separat ved -30 til -15 °C. Afmål primerblandingen for at forhindre mulig kontamination og gentagne temperaturændringer. Komponenterne må ikke anvendes efter udløbsdatoen.

Behandling

- ProstateSelect-kugler indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Natriumazid er cytotoxisk og skal derfor fjernes, før kuglerne anvendes. (Se "Protokol: Berigelse af tumorceller ved hjælp af AdnaTest ProstateCancerSelect, side 14.)
- Alle komponenter og yderligere reagenser, der leveres af andre leverandører, skal opbevares i henhold til deres instruktioner. Overhold sikkerhedsoplysningerne fra de respektive producenter.
- Bær beskyttelseshandsker for at undgå kontaminering med DNA, RNA og RNaser.
- Afmål ProstateSelect-kuglerne for at undgå kontaminering.
- Testen skal udføres i den angivne sekvens og overholde alle specifikationer, der er anført med hensyn til inkubationstider og inkubationstemperaturer.
- Bortskaf prøverne, hvis valgkuglerne agglutinerer under celleberigelse.
- Udfør prøvebehandling, herunder revers transkription og efterfølgende analyse af forstærkede PCR-produkter i forskellige rum, hvis det er muligt, for at undgå krydskontaminering.

- Brugen af produkter fra andre leverandører end de foreslåede kan påvirke resultaterne negativt.
- Overhold laboratoriets sikkerheds- og hygiejnebestemmelser (f.eks. laboratoriekitler, beskyttelsesbriller og handsker).

Håndtering og opbevaring af prøver

Prøveforberedelse

- Der skal tages blodprøver før anvendelse af terapeutiske stoffer. Anvend ikke AdnaTest ProstateCancerSelect tidligere end 7 dage efter den sidste terapeutiske intervention!
- Blodprøvetagning: Anvend rør med EDTA som antikoagulant (f.eks. S Monovette® K3 EDTA, Sarstedt [katalognr. 01.1605.001]) til at prøvetage mindst 7,5 ml fuldblod, hvis prøvetransporten er under 4 timer.
- Anvend BD Vacutainer ACD-A-rør (Becton Dickinson GmbH, katalognr. 366645 [EU]; 364606 [US]) til at prøvetage mindst 8,5 ml fuldblod, hvis prøvetransporten er længere end 4 timer. Før yderligere behandling med AdnaTest skal der overføres 5 ml ACD-A blod til et AdnaTube-prøverør, katalognr. 399932.
- Blodet skal omgående opbevares ved 4-8 °C.
- Prøver skal behandles så hurtigt som muligt, men ikke senere end 4 timer efter blodprøvetagning ved anvendelse af EDTA-standardrør eller indenfor 30 timer ved brug af BD Vacutainer-blodprøvetagningsrør sammen med AdnaTubes.
- Blodprøven må ikke hæmolyseres.

Protokol: Berigelse af tumorceller ved hjælp af AdnaTest ProstateCancerSelect

Vigtige anvisninger før start

- Læs "Advarsler og forholdsregler" (side 11), "Opbevaring og håndtering af reagenser" (side 12) og "Håndtering og opbevaring af prøver" (side 13), før proceduren påbegyndes.
- Det er nødvendigt at fjerne natriumazid ved at vaske ProstateSelect-kuglerne før brug som beskrevet herunder i "Procedure A: Klargøring af ProstateSelect-kuglerne".
- Anvend kun de medfølgende 1,5 ml prøvetagningsrør til det angivne protokoltrin.

Ting, der skal gøres før start

- Sørg for, at AdnaTest-lyse-/bindingsbufferen er ækvilibreret til stuetemperatur. Hvis der observeres bundfald, ækvilibreres reagentet til stuetemperatur og blandes, til bundfaldet er helt opløst.

Procedure A: Klargøring af ProstateSelect-kuglerne

1. Resuspender ProstateSelect-kuglerne grundigt ved at pipettere. Undlad at vortexe!
2. Beregn den mængde ProstateSelect-kugler, der er påkrævet til alle prøver, der skal behandles (100 µl pr. prøve), og overfør den beregnede mængde til et 1,5 ml reaktionsrør (medfølger ikke).

Anvend yderligere 1,5 ml reaktionsrør (medfølger ikke), hvis der behandles mere end 10 prøver.

3. Anbring røret i AdnaMag-S.
4. Efter 1 minut fjernes supernatanten med en pipette.

Bemærk: Berør ikke kuglerne, når supernatanten fjernes!

5. Vasketrin:

- 5a. Fjern magnetskyderen fra AdnaMag-S.
 - 5b. Tilsæt 1 ml PBS, og resuspender kuglerne ved gentagen pipettering.
 - 5c. Anbring magnetskyderen i AdnaMag-S.
 - 5d. Efter 1 minut fjernes supernatanten helt med en pipette.
 - 5e. Gentag trin 5a til 5d to gange (tre vaske i alt).
6. Fjern røret fra AdnaMag-S, og resuspender kuglerne i PBS til den oprindelige mængde (100 µl pr. prøve). Fortsæt med "Procedure B: Valg af tumorceller", herunder.

Procedure B: Valg af tumorceller

1. Pipetter 5 ml af en blodprøve ned i et 15 ml prøvetagningsrør ved anvendelse af EDTA-standardrør.

Overfør 5 ml blod ned i et AdnaTube ved anvendelse af ACD-A-blod i et BD Vacutainer ACD-A-rør.

Bemærk: AdnaTubes er obligatoriske ved anvendelse af BD Vacutainer ACD-A-rør.

2. Resuspender ProstateSelect-kuglerne grundigt (forberedt i trin 6 af procedure A) ved at pipettere og tilsætte 100 µl af disse kugler i hver blodprøve.
3. Roter rørene langsomt (ca. 5 rpm) i 30 minutter ved stuetemperatur på en enhed, der muliggør både hældning og rotation.
4. Anbring rørene i AdnaMag-L uden magnetskyderen. Sving AdnaMag-L nedad for at frigøre bloddråber, der er fanget i hættten.
5. Indsæt magnetskyderen, og inkuber rørene i AdnaMag-L i 3 minutter ved stuetemperatur.
6. Fjern blodsupernatanten helt med en 10 ml pipette uden at røre kuglerne.

Bemærk: Berør ikke kuglerne, når supernatanten fjernes!

7. Vasketrin:

- 7a. Fjern magnetskyderen fra AdnaMag-L.
 - 7b. Tilsæt 5 ml PBS. Luk rørene, og ryst AdnaMag-L forsigtigt frem og tilbage 5 gange for at resuspendere de magnetiske kugle-/cellekomplekser.
 - 7c. Sving AdnaMag-L med rørene nedad to gange for at frigøre dråber, som sidder fast i hættten.
 - 7d. Placer magnetskyderen i AdnaMag-L, og inkuber i 1 minut ved stuetemperatur.
 - 7e. Fjern supernatanten helt med en pipette.
 - 7f. Gentag trin 7a til 7e to gange (tre vaske i alt).
8. Fjern magnetskyderen fra AdnaMag-L.
9. Resuspender de magnetiske kugle-/cellekomplekser i 1 ml PBS, og overfør hver prøve til et 1,5 ml reaktionsrør (medfølger ikke).
10. Placer reaktionsrørene i AdnaMag-S med en indsat magnetskyder.

Bemærk: Magnetskyderen til AdnaMag-S kan indsættes i to positioner. Indsæt altid skyderen med hvide plastikfilm fremadvendt for at sikre, at magneterne er tæt på reaktionsrørene.

11. Efter 1 minut fjernes supernatanten helt med en pipette for at optimere følgende cellelyse.
12. Fjern magnetskyderen fra AdnaMag-S.
13. Tilsæt 200 µl lyse-/bindingsbuffer (ækvilibreret til stuetemperatur) til hvert reaktionsrør. Resuspender ved at pipettere mindst fem gange.
14. Indsæt magnetskyderen i AdnaMag-S, og inkuber i 1 minut.
15. Overfør supernatanten (cellelysat) til nye 1,5 ml reaktionsrør (medfølger).
16. Bortskaf rørene med kuglerne.
17. Fortsæt omgående med mRNA-isolation (se "Protokol: Påvisning af prostatacancerassocieret genekspression i berigede tumorceller ved anvendelse af AdnaTest ProstateCancerDetect", side 17), eller opbevar cellelysaterne ved -20 °C i højst 2 uger.

Protokol: Påvisning af prostatacancerassocieret genekspression i berigede tumorceller ved anvendelse af AdnaTest ProstateCancerDetect

Vigtige anvisninger før start

- Læs "Advarsler og forholdsregler" (side 11) og "Opbevaring og håndtering af reagenser" (side 12), før proceduren påbegyndes.
- Procedurene A til C beskriver isolationen af mRNA og revers transkription.
- Anvend kun de medfølgende 1,5 ml prøvetagningsrør til det angivne protokoltrin.

Ting, der skal gøres før start

- Sørg for, at AdnaTest-lyse-/bindingsbufferen er ækvilibreret til stuetemperatur. Hvis der observeres bundfald, ækvilibreres reagentet til stuetemperatur og blandes, til bundfaldet er helt opløst.
- Ækvilibrer RNA-oprensingsbuffer A og RNA-oprensingsbuffer B til stuetemperatur. Anbring Tris-HCL-buffer på is.
- Optø 10x Buffer RT og dNTPs fra Sensiscript RT-kittet ved stuetemperatur. Bland ved at vortexe. Centrifuger kortvarigt, og opbevar på is. Optø RNase-frit vand (del af Sensiscript RT-kittet).
- Juster en termisk blok eller et vandbad til 65 °C.

Procedure A: Klargøring af Oligo(dT)₂₅-kugler

1. Resuspender Oligo(dT)₂₅-kuglerne grundigt ved at pipettere før brug. Undlad at vortexe!
2. Beregn den mængde kugler, der er påkrævet til alle prøver, der skal behandles (20 µl pr. prøve plus 10 %), og overfør den beregnede mængde til et RNase-frit 1,5 ml reaktionsrør (medfølger ikke).

3. Anbring røret i AdnaMag-S.

Bemærk: Magnetskyderen til AdnaMag-S kan indsættes i to positioner. Indsæt altid skyderen med hvide plastikfilm fremadvendt for at sikre, at magneterne er tæt på reaktionsrørene.

4. Efter 1 minut fjernes supernatanten med en pipette.

5. Vasketrin:

5a. Fjern magnetskyderen fra AdnaMag-S.

5b. Tilsæt den oprindelige mængde (trin 2, side 17) AdnaTest-lyse-/bindingsbuffer, og resuspender kuglerne ved gentagen pipettering. Resuspender forsigtigt for at undgå skumdannelse.

5c. Indsæt magnetskyderen i AdnaMag-S.

5d. Efter 1 minut fjernes supernatanten helt.

5e. Gentag trin 5a til 5d en gang (to vaske i alt).

6. Fjern røret fra AdnaMag-S, og resuspender kuglerne i AdnaTest-lyse-/bindingsbuffer til den oprindelige mængde (trin 2, side 17). Fortsæt med "Procedure B: mRNA-isolation".

Procedure B: mRNA-isolation

1. Tilsæt 20 µl Oligo(dT)₂₅-kugler (trin 6 ovenfor) til hvert rør med cellelysat (trin 15, side 16).

2. Roter rørene langsomt (ca. 5 rpm) i 10 minutter ved stuetemperatur på en enhed, der muliggør både hældning og rotation.

3. Anbring rørene i AdnaMag-S uden magnetskyderen. Sving AdnaMag-S nedad for at frigøre kugler og væske, der er fanget i hættten.

4. Indsæt magnetskyderen, og fjern supernatanten efter 1 minut.

5. Vasketrin 1:

5a. Fjern magnetskyderen fra AdnaMag-S.

5b. Tilsæt 100 µl RNA-oprensingsbuffer A til hvert rør, og resuspender kuglerne ved gentagen pipettering. Skyl låget og glasvæggen grundigt for at undgå tab af kugler.

- 5c. Indsæt magnetskyderen i AdnaMag-S.
- 5d. Efter 1 minut fjernes supernatanten helt.
- 5e. Gentag trin 5a til 5d en gang (to vaske i alt).
6. Vasketrin 2:
 - 6a. Fjern magnetskyderen fra AdnaMag-S.
 - 6b. Tilsæt 100 µl RNA-oprensingsbuffer B til hvert rør. Resuspender kuglerne ved pipettering, og overfør dem til nye 1,5 ml reaktionsrør (medfølger).
 - 6c. Indsæt magnetskyderen i AdnaMag-S.
 - 6d. Efter 1 minut fjernes supernatanten helt. Dette trin skal udføres forsigtigt (hold øje med pelleten), da kuglerne kan rulle og blive fjernet ved et uheld.
 - 6e. Gentag trin 6a til 6d en gang i de samme reaktionsrør (to vaske i alt).
7. Fjern magnetskyderen fra AdnaMag-S.
8. Tilsæt 100 µl iskold Tris-HCL-buffer til hvert rør, og resuspender kuglerne ved pipettering.
9. Indsæt magnetskyderen i AdnaMag-S.
10. Efter 1 minut fjernes supernatanten helt.
11. Fjern magnetskyderen fra AdnaMag-S.
12. Resuspender mRNA-/kuglekomplekset i 14,75 µl RNase-frit vand.
13. Overfør rørene til en termisk blok eller et vandbad, og inkuber i 5 minutter ved 65 °C.
14. Anbring med det samme rørene på is i mindst 2 minutter.
15. Fortsæt omgående (indenfor 5 minutter) med revers transkription (Procedure C: Revers transkription ved hjælp af Sensiscript RT-kittet).
Opbevar ikke mRNA-/kuglekomplekset!

Procedure C: Revers transkription ved hjælp af Sensiscript RT-kittet.

1. Klargør RT-masterblandingen på is. RT-masterblandingen klargøres som vist i Tabel 1 i overensstemmelse med antallet af prøver.

Mængden af RT-masterblandingen skal være 10 % større end beregnet for det samlede antal revers-transkriptionsreaktioner. Der skal altid klargøres en negativ kontrolreaktion uden tilsætning af mRNA (RT-kontrol).

2. Vortex RT-masterblandingen. Centrifuger kortvarigt, og pipetter 5,25 µl for hver reaktion ned i 0,2 ml PCR-rør.
3. Resuspender forsigtigt mRNA-/kuglekomplekser (trin 12, side 19) med en pipette. Overfør den samlede mængde til 0,2 ml PCR-reaktionsrøret med RT-masterblandingen. Bland grundigt ved gentagen pipettering.

Table 1. Opsætning af revers-transkriptionsreaktion

Komponent	Volumen
RT-masterblanding	
10x Buffer RT	2,0 µl
dNTP-blanding (5 mM hver dNTP)	2,0 µl
RNase-inhibitor (RNase-hæmmer), 40 E/µl (Promega)	0,25 µl
Sensiscript Reverse Transcriptase (Sensiscript revers transkriptase)	1,0 µl
Skabelon RNA*	14,75 µl
mRNA/bead complex or RNase free water (mRNA-/kuglekompleks eller RNase-frit vand)	
Samlet mængde	20,0 µl

* Som RT-kontrol tilsættes 14,75 µl RNase-frit vand i stedet for mRNA-/kuglekompleks. Mængden af mRNA-/kuglekompleks kan variere lidt. Anvend under alle omstændigheder den samlede mængde til revers transkription!

4. cDNA syntetiseres i en termocykler under følgende forhold (Tabel 2).

Tabel 2. Program for revers transkription

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

5. Anbring reaktionsrørene sammen med cDNA på is, eller opbevar dem ved -20 °C i maksimalt 4 uger.

Fortsæt med "Protokol: Multiplex og Singleplex PCR", side 21.

Protokol: Multiplex og Singleplex PCR

Vigtig anvisning før start

- Læs "Advarsler og forholdsregler" (side 11) og "Opbevaring og håndtering af reagenser" (side 12), før proceduren påbegyndes.

Ting, der skal gøres før start

- Optø HotStarTaq-masterblanding (QIAGEN), AdnaTest PrimerMix ProstateDetect, AdnaTest positiv prostatakontrol, AdnaTest PrimerMix AR-Detect, AdnaTest positiv kontrol AR og RNase-frit vand. Vortex, centrifuger hurtigt, og opbevar på is.

Procedure A: Multiplex PCR (AdnaTest ProstateDetect)

1. PCR-masterblandingen klargøres som vist i Tabel 3 i overensstemmelse med antallet af prøver.

Volumenberegningen af PCR-masterblandingen skal indeholde mindst 10 % overskydende volumen. Bemærk, at der altid skal være inkluderet en AdnaTest positiv prostatakontrol, RNase-frit vand som negativ kontrol og RT-kontrol.

2. For hver klargøring dispenseres 21,0 µl PCR-masterblanding ned i 0,2 ml PCR-reaktionsrør. Resuspender cDNA-/kugleblandingen ved pipettering, og tilsæt 4,0 µl af denne til hvert reaktionsrør.

Bemærk: Som negativ kontrol tilsættes 4,0 µl RNase-frit vand i stedet for cDNA.

Tabel 3. Klargøring af multiplex PCR

Komponent	Volumen
Multiplex PCR-masterblanding	
HotStarTaq Master Mix (HotStarTaq-masterblanding)	12,5 µl
RNase-free water (RNase-frit vand)	4,5 µl
PrimerMix ProstateDetect	4,0 µl
cDNA eller RT-kontrol eller Negativ kontrol (RNase-frit vand) eller Positiv kontrol (C+) hver:	4,0 µl
Samlet mængde	25,0 µl

3. Der anvendes en termocykler til PCR ifølge programmet, der er beskrevet i Tabel 4. Kør termocykleren med en ramp på 2°C/sekund. PCR'en udføres med i alt 42 cyklusser.

Tabel 4. PCR-cyklusprogram

	Temperatur	Tid
Første aktiveringstrin	95°C	15 minutter
3-trinscyklus		
Denaturering:	94°C	30 sekunder
Afhærdning:	61 °C	30 sekunder
Udvidelse:	72 °C	30 sekunder
Antal cyklusser:	42	
Endelig udvidelse:	72 °C	10 minutter
Nedkøling:	4°C	∞

Procedure B: Singleplex PCR (AdnaTest AR-Detect)

1. PCR-masterblandingen klargøres som vist i Tabel 5 i overensstemmelse med antallet af prøver.

Volumenberegningen af PCR-masterblandingen skal indeholde mindst 10 % overskydende volumen. Bemærk, at der altid skal være inkluderet en AdnaTest positiv kontrol, RNase-frit vand som negativ kontrol og RT-kontrol.

2. For hver klargøring dispenseres 21,0 µl PCR-masterblanding ned i 0,2 ml PCR-reaktionsrør. Resuspender cDNA-/kugleblandingen ved pipettering, og tilsæt 4,0 µl af denne til hvert reaktionsrør.

Bemærk: Som negativ kontrol tilsættes 4,0 µl RNase-frit vand i stedet for cDNA.

Tabel 5. Klargøring af singleplex PCR

Komponent	Volumen
Singleplex PCR-masterblanding	
HotStarTaq Master Mix (HotStarTaq-masterblanding)	12,5 µl
RNase-free water (RNase-frit vand)	4,5 µl
PrimerMix AR-Detect	4,0 µl
cDNA eller RT-kontrol eller Negativ kontrol (RNase-frit vand) eller Positiv kontrol (C+) hver:	4,0 µl
Samlet mængde	25,0 µl

3. Der anvendes en termocykler til PCR ifølge programmet, der er beskrevet i Tabel 6. Kør termocykleren med en ramp på 2°C/sekund. PCR'en udføres med i alt 35 cyklusser.

Tabel 6. PCR-cyklusprogram

	Temperatur	Tid
Første aktiveringstrin	95°C	15 minutter
3-trinscyklus (35 cyklusser)		
Denaturering:	94°C	30 sekunder
Afhærdning:	60°C	30 sekunder
Udvidelse:	72 °C	60 sekunder
Antal cyklusser:	35	
Endelig udvidelse:	72 °C	10 minutter
Nedkøling:	4°C	∞

Fortolkning af resultater

Fragmentanalyse på Agilent 2100 Bioanalyzer

Der udføres analyse med Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies) på en DNA 1000 LabChip®. Følg instruktionerne i DNA 1000 LabChip-brugervejledningen, og sørg for, at ingen kugler overføres i LabChip. Magnetiske kugler i gelen kan forårsage ugyldige resultater.

1. Start Bioanalyzer-softwaren **2100 expert**. Vælg **Instrument** under **Contexts** (kontekster), og klik derefter på knappen **Assay** (analyse) ud for **Assay Selection** (valg af analyse)
2. Vælg **Electrophoresis (elektroforese) > DNA 1000 Series II.xsy**. Forbered chippen, og start kørslen.
3. Indstil en tærskel for påvisning til evaluering af resultaterne.
 - 3a. Vælg **Data** under **Contexts**, og klik derefter på fanen **Assay Properties** (analyseegenskaber). Vælg **Global** og **Normal** på rullemenuen til højre.

- 3b. Vælg **Sample Setpoints (indstillingspunkter for prøve) > Integrator > height threshold (FU) (højdetærskel (FU))**, og indstil denne værdi til **0** (standardværdien er **20**) for at påvise alle signaler.

Analyse af resultaterne for AdnaTest ProstateDetect

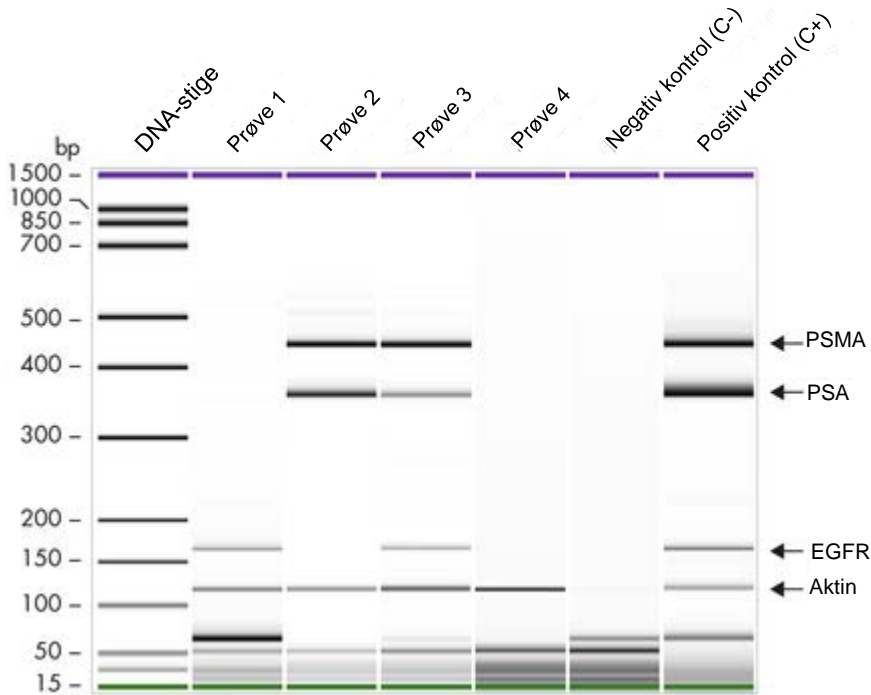
Testen anses for at være positiv, hvis et PCR-fragment på mindst ét tumorassocieret transkript (PSMA, PSA eller EGFR) klart kan påvises.

Ved anvendelse af Agilent 2100 Bioanalyser er spidser med en koncentration på $\geq 0,10$ ng/ μ l positive (Figur 3).

Fragmentet af kontrolgenet aktin skal påvises i alle patientprøver (intern PCR-kontrol). Et aktin-signal giver en positiv kontrol til en vellykket celleseparation, revers transkriptase og multiplex PCR. Negative kontrol- og RT-kontrolprøver må ikke vise bånd, som er større end 80 basepar (primer-dimere).

Et fragment på over 9000 bp angiver en kontaminering med genomisk DNA. Separationsprocessen lykkedes ikke, og resultaterne er ugyldige i dette tilfælde.

VIGTIGT: Hvis protokollen ikke følges nøje, kan dette resultere i falske negative eller falske positive resultater.



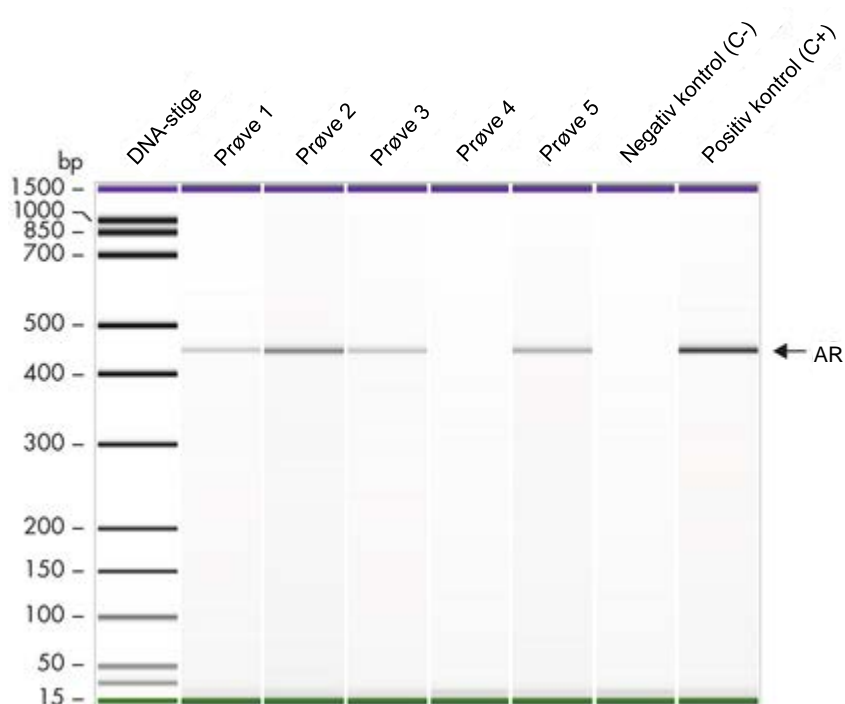
Figur 3. AdnaTest ProstateCancerDetect-resultater af multiplex PCR-prøver, der er analyseret med en Agilent 2100 Bioanalyser. Den første bane viser standarden for DNA'ens størrelse (DNA-stige). Prøve 1 er positiv for EGFR, prøve 2 er positiv for PSMA og PSA, og prøve 3 er positiv for PSMA, PSA og EGFR. Prøve 4 er negativ. Aktin påvises i prøve 1 til 4. PCR-negativ (C-) og -positiv kontrol (C+) vises i de sidste to baner.

Analyse af resultaterne for AdnaTest AR-Detect

Ved anvendelse af Agilent 2100 Bioanalyser er spidser med en koncentration på $\geq 0,15$ ng/ μ l for AR positive (Figur 4).

Fragmentet af kontrolgenet aktin skal påvises i alle patientprøver (intern PCR-kontrol). Et aktin-signal giver en positiv kontrol til en vellykket celleseparation, revers transkriptase og singleplex PCR. Den negative kontrol og RT-kontrolprøverne må ikke vise bånd, som er større end 80 basepar (primer-dimere).

VIGTIGT: Hvis protokollen ikke følges nøje, kan dette resultere i falske negative eller falske positive resultater.



Figur 4. AdnaTest ProstateCancerDetect-resultater af singleplex PCR-prøver. Den første bane viser standarden for DNA'ens størrelse (DNA-stige). Prøverne 1 til 3 og prøve 5 er positive for AR. Prøve 4 er negativ. PCR-negativ (C-) og -positiv kontrol (C+) vises i de sidste to baner.

Fejlfindingsvejledning

Denne fejlfindingsvejledning kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. For yderligere information henvises også til siden "Frequently Asked Questions" (Hyppigt stillede spørgsmål) hos vores Technical Support Center: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Derudover svarer personalet fra QIAGENS tekniske service gerne på spørgsmål vedrørende enten informationen og/eller protokollerne i denne håndbog eller prøve- og analyseteknologier (kontaktinformation: Besøg www.qiagen.com).

Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med QIAGENS ISO-certificerede kvalitetsstyringssystem testes hvert lot af AdnaTest ProstateCancerSelect og AdnaTest ProstateCancerDetect efter fastlagte specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

Begrænsninger

Alle reagenser kan kun anvendes til in vitro-diagnostik.

Produktet må kun anvendes af personale, som er specielt instrueret og uddannet i in vitro-diagnostiske procedurer.

Det er vigtigt, at operatøren læser brugervejledningen grundigt, inden systemet tages i brug.

Det er nødvendigt nøje at følge brugervejledningen for at opnå optimale PCR-resultater.

Kontroller udløbsdatoerne, der er trykt på æsken og etiketterne til alle komponenter. Anvend ikke komponenterne efter udløbsdatoen.

De fremkomne diagnostiske resultater skal fortolkes i forbindelse med andre kliniske fund eller laboratoriefund.

Ydelsesegenskaber

Genvinding

Der blev tilsat to dyrkede LnCap-prostatacancerceller til blodprøver fra raske donorer til bestemmelse af genvindingsrater opnået med AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect (Tabel 7).

Tabel 7. AdnaTest ProstateCancer-genvindingsraten for tumorceller tilsat i blodprøver fra raske donorer

	Antal positive	Samlet antal prøver
To tumorceller, som blev tilsat i 5 ml blod	38 (95 %)	40

Genvindingsraten er 95 % for påvisning af 2 tumorceller, som blev tilsat i 5 ml blod fra raske donorer.

Specificitet

AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect blev anvendt til at analysere 40 raske donorer til bestemmelse af raten af falske positive ved den givne cut-off (0,10 ng/ μ l fragmentkoncentration for hver inkluderet genprofil, undtagen for aktin).

Tabel 8. Bestemmelse af specificitet

Kontroller	Samlet antal prøver	Antal falske positive	Specificitet (%)
Raske donorer	40	0 (0%)	100

AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect udviste en specificitet på 100 % (tabel 8).

Reproducerbarhed

Tyve blodprøver fra raske donorer fik tilsat 10 LnCap prostatacancer celler pr. prøve. Blodprøverne blev analyseret af to operatører med AdnaTest ProstateCancerSelect/Detect for at bestemme reproducerbarheden. Inden for samme analyse og mellem analyserne var reproducerbarheden på 100 % (tabel 9).

Tabel 9. Reproducerbarhed af AdnaTest ProstateCancer Select/Detect

Operatør	Positive AdnaTest-resultater/prøver	Reproducerbarhed inden for samme analyse (%)	Reproducerbarhed mellem analyser (%)
A	10/10	100	100
B	10/10	100	100

Præcision

For at bestemme præcisionen blev alikvoter af cDNA poolen og analyseret med AdnaTest ProstateCancerDetect. To operatører analyserede 30 cDNA prøver, bestående af 3 selvstændige målinger af 10 prøver. Inden for samme analyse og mellem analyserne var præcisionen på 100 % (tabel 10).

Tabel 10. Præcision af AdnaTest ProstateCancerDetect

Operatør	Positive AdnaTest-resultater/prøver	Præcision inden for samme analyse (%)	Præcision mellem analyser (%)
A	30/30	100	100
B	30/30	100	100

Interfererende stoffer

Antikoagulanter

Anvendelse af antikoagulanter er obligatorisk ved blodprøvetagning og transport af blod. Heparin og citrat fører imidlertid til aggregatdannelse efter tilsætning af AdnaTest

immunomagnetiske kugler, som kan resultere i manglende eller falske testresultater. EDTA og ACDA (citrat-/dextrose-/adeninopløsningA) er kompatible med AdnaTest immunomagnetiske kugler.

Hæmolyse

Hæmolyse i blodprøver (plasmafraktion forekommer rød) skyldes i de fleste tilfælde forkerte transport- eller opbevaringsforhold. Sådanne prøver kan give falsk negative resultater og skal bortskaffes.

Kemoterapeutika, målrettet behandlingsmedicin og antihormonelle regimener

Kemoterapeutika (taxaner, cisplatin, oxaliplatin, 5-FU, antracyclin, irinotecan osv.) er potente cytotoxiner og kan forårsage skader eller hurtigt celledød i en blodprøve. Dette resulterer i en høj sandsynlighed for falsk negative resultater ved anvendelse af AdnaTest immunomagnetiske kugler. Efter administration af disse stoffer har menneskekroppen brug for ca. 5-7 dage til afgiftning (Tabel 11). Blodprøver, der er taget i dette tidsrum, må ikke anvendes med AdnaTest immunomagnetiske kugler.

Tabel 11. Halveringstider for kemoterapeutika

Lægemiddel	Halveringstid	Reference
5-Fluorouracil	Op til 20 minutter	www.drugs.com/pro/fluorouracil-injection.html
Docetaxel	Op til 11,1 time	www.drugs.com/pro/docetaxel.html
Cis-platinum	Op til 30 minutter	www.drugs.com/pro/cisplatin.html
Carboplatin	Op til 5,9 time	www.drugs.com/pro/carboplatin.html
Paclitaxel	Ca. 25,4 timer	www.drugs.com/pro/paclitaxel.html

Den samme forholdsregel anbefales også for målrettede terapiregimener som f.eks. antistoffer (Herceptin[®], bevacizumab, cetuximab osv.), tyrosinkinaseblokkere (olaparib, Iressa[®], Erbitux[®], lapatinib osv.) og antihormonelle lægemidler (tamoxifen, abirateron, enzalutamid osv.) administreret som et enkelt lægemiddel eller i kombination med kemoterapeutika.

I kliniske forsøg, der påviste den prognostiske værdi af cirkulerende tumorceller (CTC) identificeret og karakteriseret med AdnaTest immunomagnetiske kugler, blev der ikke observeret negativ interferens af kemoterapeutika. målrettede terapier eller antihormonelle terapier, forudsat at ventetiden på mindst 7 dage efter administration af lægemidlet blev overholdt. Ydermere er en negativ påvirkning fra almindelige samtidige medicinske behandlinger (Aspirin, ibuprofen, aprepitant, steroider osv.) usandsynlig men monitoreres.

Interfererende forhold

Blodkoagulation

I kontaksten af kliniske forsøg observerede vi blodkoagulation efter inkubation med *AdnaTest* immunomagnetiske kugler – hyppigst i blodprøver fra patienter i et sent sygdomsstadie. Blodprøver, der udviser koagulation, er vanskelige at behandle under *AdnaTest* arbejdsgangen på grund af forøget viskositet, og de er vanskelige at pipettere. De indeholder også et uacceptabelt højt antal kontaminerende leukocytter, som fører til falske positive resultater. Sådanne blodprøver skal bortskaffes.

Benign organisk sygdom og kroniske inflammatoriske tilstande

Benign organisk sygdom og kronisk inflammation, som f.eks. arthritis, benign prostatisk hyperplasi (BPH), Crohns sygdom osv., fører ikke til falske positive AdnaTest-resultater.

Akut allergi

I forbindelse med akutte allergiske tilstande er der et øget antal kontaminerende leukocytter efter CTC-berigelse med AdnaTest immunomagnetiske kugler. Derfor kan falske positive resultater ikke helt udelukkes.

Kliniske undersøgelser

I alt 12 patienter med metastatisk kastratresistent prostatacancer (CRPC) blev fulgt under behandling med docetaxel. En første prøve blev analyseret ved baseline, og 2 yderligere prøver blev analyseret under opfølgning.

Med hensyn til AR-aktivering blev det klart påvist, at AR-aktivering og deaktivering korrelerede stærkt med raten af CTC-elimination, der skyldtes terapeutisk intervention. CTC-positivitetens frekvensen faldt dog i løbet af behandlingen fra 70 % ved baseline til ~35 % under opfølgningen, og AR-positiviteten faldt fra 55 % til ~11 %. På grund af behandlingen påvirkes AR-positive CTC-subkloner mere af behandling med docetaxel end AR-negativ CTC. Disse fund korrelerer godt med dem fra Darshan et al. 2011, hvor der blev observeret en taxan-induceret blokade af nuklear AR-transport og signalering.

Disse fund indikerer den specifikke og sensitive påvisning af CTC'er i kliniske prostatacancerprøver tillige med en vurdering af genetiske profiler med relation til terapeutiske mål.

Reference

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. Udgivet online den 28. juli 2011. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1417.

Forkortelser

AdnaMag-L	Magnetisk partikelkoncentrator (-stor)
AdnaMag-S	Magnetisk partikelkoncentrator (-lille)
AR	Androgenreceptor

bp	Basepar
C+	Positiv kontrol
C-	Negativ kontrol
cDNA	Komplementær deoxyribonukleinsyre
DNA	Deoxyribonukleinsyre
dNTPs	Deoxynukleotidtriphosphater
EGFR	Epidermal vækstfaktorreceptor
kb	kilobaser
mRNA	Messenger-ribonukleinsyre
PCR	Polymerasekædereaktion (Polymerase chain reaction)
PSA	Prostata-specifikt antigen
PSMA	Prostata-specifikt membranantigen
RNase	Ribonuklease
rpm	Omdrejninger pr. minut
RT	Revers transkription

Symboler



Indeholder tilstrækkelige reagenser til <N> test



Anvendes inden



Temperaturbegrænsning



Katalognummer



Se de informationer, der er angivet i håndbogen



Producent



In vitro-diagnostisk medicinsk produkt



Materialenummer



Globalt handelsvarenummer

Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
AdnaTest ProstateCancerSelect	Til isolation af CTC'er og efterfølgende ekstraktion af mRNA fra humant fuldblod for 12 præparater	395432
AdnaTest ProstateCancerDetect	RT-PCR-kit til påvisning af prostatacancerassocieret genekspression i berigede tumorceller	396432
Relaterede produkter		
AdnaTubes	12 prøverør med EDTA. Må kun anvendes med antikoaguleret blod, der er indsamlet i A-CDA-blodprøvetagningsrør fra BD	399932
AdnaMag-L	Til 8 rør, 15 ml	399921
AdnaMag-S	Til 8 rør, 1,5 ml	399911
Sensiscript RT Kit (50)	Til 50 revers-transkriptionsreaktioner:* Sensiscript revers transkriptase, 150 µl 10x buffer RT, 100 µl dNTP-blanding (indeholder 5 mM hvert dNTP), 1,1 ml RNase-frit vand	205211
HotStarTaq Master Mix Kit (250 U)	3 x 0,85 ml HotStarTaq-masterblanding (indeholder 250 enheder HotStarTaq DNA-polymerase, PCR-buffer med 3 mM MgCl ₂ og 400 µM af hvert dNTP) og 2 x 1,7 ml RNase-frit vand	203443

* Sensiscript RT-kittet (50) er kun tilstrækkeligt til 25 prøver ved anvendelse af AdnaTest ProstateCancerDetect, fordi den dobbelte volumen er påkrævet til hver reaktion.

For opdateret licensinformation og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser henvises til den aktuelle håndbog eller brugervejledning til QIAGEN-kittet. QIAGEN kit-håndbøger og brugervejledninger kan findes på www.qiagen.com eller kan rekvireres fra QIAGENS tekniske serviceafdeling eller den lokale leverandør.

Begrænset licensaftale for AdnaTest ProstateCancerSelect og AdnaTest ProstateCancerDetect

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne håndbog og kun med de komponenter, der er i kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne håndbog og andre protokoller, der er tilgængelige på www.qiagen.com. Nogle af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette kit, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, gendannes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

For opdaterede licensbetingelser henvises til www.qiagen.com.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, HotStarTaq®, Sensiscript® (QIAGEN Group); Agilent® (Agilent Technologies, Inc.); ERBITUX® (ImClone LLC., et helejet datterselskab under 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, alle rettigheder forbeholdes.

Denne side er med vilje tom

Denne side er med vilje tom

Denne side er med vilje tom

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com