

artus[®] MTHFR LC PCR Kit

Handbok



24 (Katalog nr. 4621063)



96 (Katalog nr. 4621065)

Kvalitativ in vitro-diagnostik

För användning tillsammans med *LightCycler*[®] instrumentet

Juni 2007 – Version 1



4621063, 4621065



1046979SV



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

MAT

1046979SV

artus MTHFR LC PCR Kit

Varumärken och friskrivningar

QIAGEN[®], QIAamp[®], *artus*[®] (QIAGEN Group); *LightCycler*[®] (Roche Diagnostics).

Registrerade namn, varumärken osv. som nämns i detta dokument, även de som inte är specifikt märkta som sådana anses inte oskyddade enligt lag.

artus MTHFR LC PCR Kit är ett CE-märkt diagnostiskt kit i enlighet med EU-direktivet för in vitro-diagnostik 98/79/EG. Kan inte erhållas i alla länder.

QIAamp Kit är endast avsedda för allmän laboratorieanvändning. Anvisningar och beskrivningar skall inte användas som underlag för diagnos, prevention eller behandling av sjukdom.

Vid inköp av *artus* PCR Kit beviljas en begränsad licens för användning vid polymeras-kedjereaktion (PCR) inom human och veterinärmedicinsk in vitro-diagnostik tillsammans med en termocykel, vars användning i samband med automatiserad PCR inkluderar en up-front betalning. Denna innefattar en avgift till Applied Biosystems eller erläggs i samband med inköp av t.ex. en auktoriserad termocykel. PCR förfarandet är skyddat av utländska motsvarigheter till U.S. patent nummer 5,219,727 och 5,322,770 och 5,210,015 och 5,176,995 och 6,040,166 och 6,197,563 och 5,994,056 och 6,171,785 och 5,487,972 och 5,804,375 och 5,407,800 och 5,310,652 och 5,994,056 ägda av F. Hoffmann-La Roche Ltd.

© 2007 QIAGEN, alla rättigheter förbehålles.

Innehållsförteckning

1. Innehåll	4
2. Förvaring	4
3. Material och utrustning som behövs men inte medföljer	4
4. Allmänna försiktighetsåtgärder	5
5. Bakgrundsinformation	5
6. Princip för testförfarandet	6
7. Produktbeskrivning	6
8. Protokoll	7
8.1 DNA-isolering	7
8.2 Förberedelse av PCR.....	8
8.3 Programmering av LightCycler® instrumentet	10
9. Tolkning av resultat	13
10. Felsökning	16
11. Specifikationer	17
11.1 Analytisk sensitivitet	17
11.2 Analytisk specifitet.....	17
11.3 Diagnostisk sensitivitet och specifitet.....	17
12. Särskild information om produktanvändning	18
13. Säkerhetsinformation	18
14. Kvalitetskontroll	18
15. Referenser	19
16. Symbolförklaring	20

artus[®] MTHFR LC PCR Kit*

För användning tillsammans med *LightCycler[®]* instrumentet.

1. Innehåll

	Benämning och innehåll	Art. nr. 4621063 24 reaktioner	Art. nr. 4621065 96 reaktioner
Blå	<i>MTHFR LC Master</i>	2 x 12 rxns	8 x 12 rxns
Röd	<i>MTHFR LC Control</i>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Vit	<i>Water (PCR grade)</i>	1 x 1.000 µl	1 x 1.000 µl

2. Förvaring

Komponenterna hos *artus* MTHFR LC PCR Kit ska förvaras i -20°C och är hållbara till det datum som anges på etiketten. Undvik upprepad tining och frysning (> 2 x), eftersom det minskar sensitiviteten. Reagenser som inte används regelbundet bör därför frysas i portioner. Om det är nödvändigt kan komponenterna förvaras vid +4°C i högst fem timmar.

3. Material och utrustning som behövs men inte medföljer

- Puderfria laboratoriehandskar
- DNA-isoleringskit (se **8.1 DNA-isolering**)
- Pipetter (inställbara)
- Sterila pipettspetsar med filter
- Vortex-blandare
- Bordscentrifug med rotor för 2 ml rör

* MTHFR = metylentetrahydrofolatreduktas

- *Color Compensation Set* (Roche Diagnostics, kat.nr. 2 158 850) för framtagning av en *Crosstalk Color Compensation*-fil
- *LightCycler*[®]-kapillärer (20 µl)
- *LightCycler*[®]-Cooling Block
- *LightCycler*[®] instrument
- *LightCycler*[®] Capping Tool

4. Allmänna försiktighetsåtgärder

Tänk alltid på följande:

- Använd sterila pipettspetsar med filter.
- Positivt material (prover, kontroller, amplikon) ska förvaras, isoleras och tillsättas till reaktionen i utrymme som är skilt från övriga reagenser.
- Tina alla komponenter fullständigt i rumstemperatur innan testet påbörjas.
- Blanda komponenterna väl och centrifugera en kort stund.
- Arbeta snabbt på is eller i *LightCycler*[®] Cooling Block.

5. Bakgrundsinformation

Bortsett från ålder, kön, näring och interaktion mellan olika läkemedel kan speciellt genetiska faktorer påverka enzymaktiviteten. Det är känt att patienter som uppvisar en genetiskt betingad förändrad aktivitet hos metylentetrahydrofolatreduktas (MTHFR) enzymet har en höjd risk för biverkningar (t.ex. allvarliga blodbildsförändringar, mukositis, hyperhomocysteinemi) vid behandling med metotrexat. Metotrexat är en folsyreantagonist och används vid bl.a. behandling av reumatoid artrit och tumörsjukdomar. En undersökning av MTHFR-genen möjliggör en uppskattning av genetiskt betingade risker för behandlingsinducerade biverkningar. Redan innan en behandling påbörjas kan fastställas om en patient är bärare av en genetisk variant av MTHFR-genen. Denne kan då behandlas med en alternativ terapi eller med en betydligt reducerad dosering.

Enzymaktiviteten hos metylentetrahydrofolatreduktas kan bestämmas genom bl.a. förändringar i MTHFR-genen. Genetiska förändringar kan till exempel orsaka aminosyrautbyte. Den därav förändrade konformationen i enzymet har inverkan på enzymets aktivitet. De vanligaste genetiska varianterna i MTHFR-genen finns i nukleotid nt 677 och nt 1298. I litteraturen beskrivs även andra genetiska varianter, vilka emellertid sällan resp. enstaka gånger observerats i en population.

MTHFR enzymet är ett av huvudbeståndsdelarna vid folsyrametabolism. Reducerad aktivitet i enzymet påverkar syntesen av metionin från homocystein. En ökad mängd av homocystein kan framkalla olika sjukdomar (trombos, arterioskleros). Risken för dessa sjukdomar stiger om det förekommer en genetisk variant i MTHFR-genen.

Genotypering kan användas för att individuellt optimera den medikamentösa behandlingen och sänka kostnader (förlängd sjukhusvistelse etc.) som uppstår genom oönskade biverkningar resp. för att i ett tidigt stadium kunna ställa fast en genetiskt betingad risk för hyperhomocysteinemi.

6. Princip för testförfarandet

Vid genetisk diagnostik med hjälp av polymeras-kedjereaktion (PCR) amplificeras specifika regioner på det humana genomet. Vid Realtids-PCR sker detektion med hjälp av fluoroforer. Dessa är i regel bundna till oligonukleotidprober, som binder specifikt till PCR-amplikon. En analys av smältkurvan i direkt anslutning till PCR-amplifiering möjliggör identifiering och diskriminering av genvarianter. Eftersom provrören inte behöver öppnas igen efter PCR-körningen reduceras kontamineringsrisken avsevärt (Mackay, 2004).

7. Produktbeskrivning

Med *artus* MTHFR LC PCR Kit undersöks humant DNA på kliniskt relevanta genetiska varianter i MTHFR-genen på ett enkelt, snabbt och säkert sätt.

Denna analys möjliggör en uppskattning av behandlingsinducerade risker som t.ex. behandling med metotrexat.

Analysen för detektion av de genetiska varianterna i MTHFR-genen genomförs med hjälp av *LightCycler*[®] instrumentet. Reagenserna innehåller primers för amplifiering av avsnitt i den humana MTHFR-genen samt fluorescensmarkerade prober för detektion av de genetiska varianterna i nukleotidpositionerna nt 677C>T och nt 1298A>C. Dessutom medtas en positiv kontroll för kontroll av reaktionen i en separat omgång.

Eftersom testet baserar på amplifiering av humant genomiskt DNA måste fluorescenssignalerna i smältkurveavsnittet kunna iakttas oberoende av närvaro av en allelisk variant. Om detta inte är fallet tyder det på antingen ineffektiv DNA-isolering eller PCR-inhibering. En extra Internkontroll är i detta genetiska test därför inte nödvändig.

Viktigt: Signalerna i smältkurveanalysen har en avgörande betydelse för utvärderingen. I de flesta fall kunde ingen kvantitativ amplifiering iakttas vid *LightCycler*[®]-körningen under användning av *artus* MTHFR LC PCR Kit. Detta har ingen inverkan på smältkurveanalysen.

8. Protokoll

8.1 DNA-isolering

Kits för DNA-isolering av blod kan erhållas från olika tillverkare. Följ tillverkarens protokoll och tillsätt angiven provmängd till isoleringen samt utför DNA-isoleringen enligt anvisningarna. Följande isoleringskit rekommenderas:

Provmaterial	Isoleringskit	Katalognummer	Tillverkare
Blod	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	51 104	QIAGEN

- *artus* MTHFR LC PCR Kit är inte lämpligt för isoleringsförfarande baserade på **fenol**.
- Om isoleringar med **etanolhaltiga** tvättbuffertar används, ska innan eluering ytterligare ett centrifugeringssteg (tre minuter, 13.000 rpm)

utföras så att eventuella etanolrester avlägsnas. Detta förhindrar en eventuell PCR-inhibering orsakad av etanol.

8.2 Förberedelse av PCR

Kontrollera att Cooling Block med de däri ingående adaptrarna (tillbehör till *LightCycler*[®]-instrumentet) är kylt till ca +4°C. Placera det antal *LightCycler*[®]-kapillärer som behövs för de planerade reaktionerna i Cooling Block adaptrarna. Innan testet påbörjas ska alla reagenser tinas fullständigt i rumstemperatur och blandas väl (pipetteras upp och ned flera gånger eller vortexas en kort stund) och därefter kort centrifugeras.

Vid varje användning bör en positiv (*MTHFR LC Control*) och en negativ kontroll (*Water, PCR grade*) som ingår i *artus MTHFR LC PCR Kit* medtas.

Använd följande pipetteringsschema för beredning av PCR-reaktionerna (se även den schematiska översikten i Fig. 1):

	Antal prover	
		1
Beredning av PCR-reaktion	<i>MTHFR LC Master</i>	18 µl
	Prov	2 µl
	Total volym	20 µl

Pipettera i plastbehållaren till varje kapillär 18 µl av *MTHFR LC Master*. Tillsätt därefter 2 µl eluat från DNA-isoleringen. På motsvarande sätt måste 2 µl av *MTHFR LC Control* tillsättas som positiv kontroll och 2 µl vatten (*Water, PCR grade*) som negativ kontroll. Förslut kapillärerna. För att överföra blandningen från plastbehållaren till kapillärerna, centrifugera adaptrarna med de innehållande kapillärerna i en bordscentrifug i tio sekunder vid max. 400 x g (2.000 rpm).

Viktigt: Sätt locken på kapillärerna med hjälp av *LightCycler*[®] Capping Tool för att undvika kontaminering.

Förberedelse av PCR

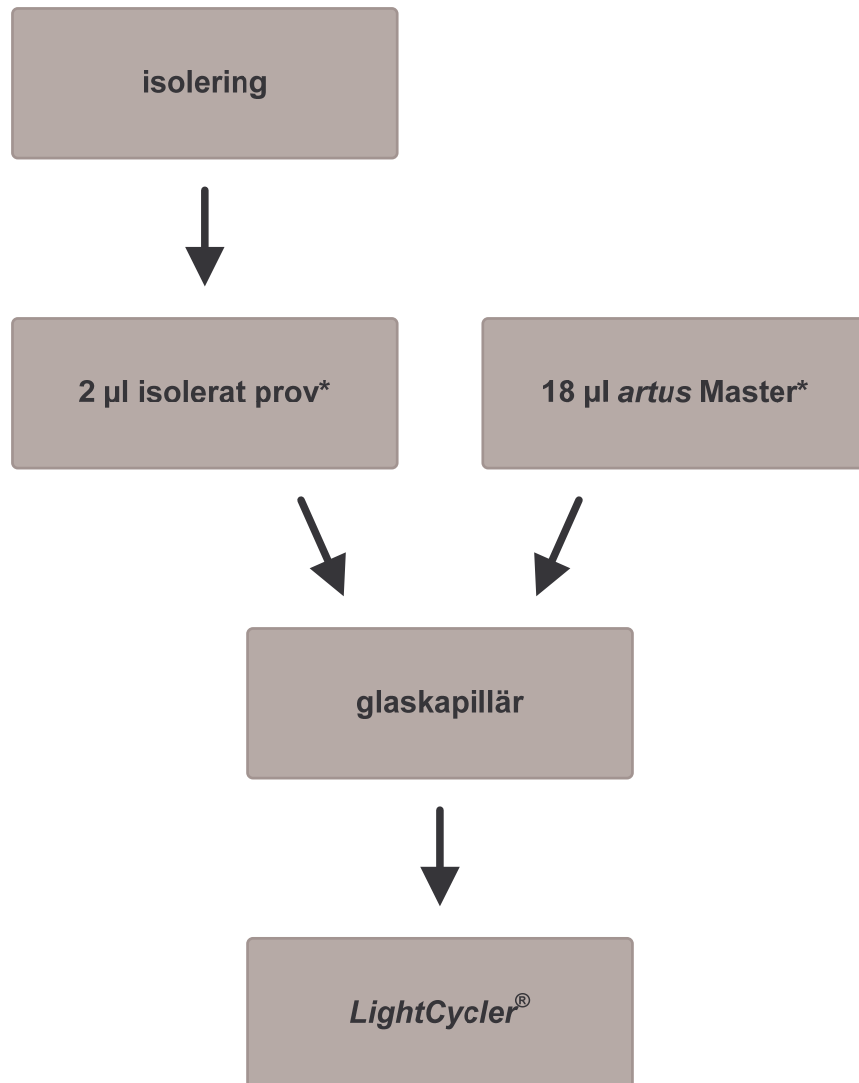


Fig. 1: Schematiskt arbetsförlopp.

Vid varje pipetteringssteg är det mycket viktigt att se till att de lösningar som ska användas är helt upptinade, väl blandade och centrifugerade en kort stund.

8.3 Programmering av *LightCycler*[®] instrumentet

För detektion av de genetiska varianterna i MTHFR-genen programmeras en temperaturprofil på *LightCycler*[®] instrumentet enligt dessa fem steg (se Fig. 2 - 6).

- | | | |
|----|---|--------|
| A. | Initial aktivering av Hot-Start-enzymet | Fig. 2 |
| B. | Touch Down steg | Fig. 3 |
| C. | Amplifiering av DNA | Fig. 4 |
| D. | Smältkurva | Fig. 5 |
| E. | Kylning | Fig. 6 |

Observera speciellt inställningarna för *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* och *Temperature Targets*. Dessa inställningar markeras i figurerna med en svart ram. Mer information om programmering av *LightCycler*[®] instrumentet finner du i *LightCycler Operator's Manual*.

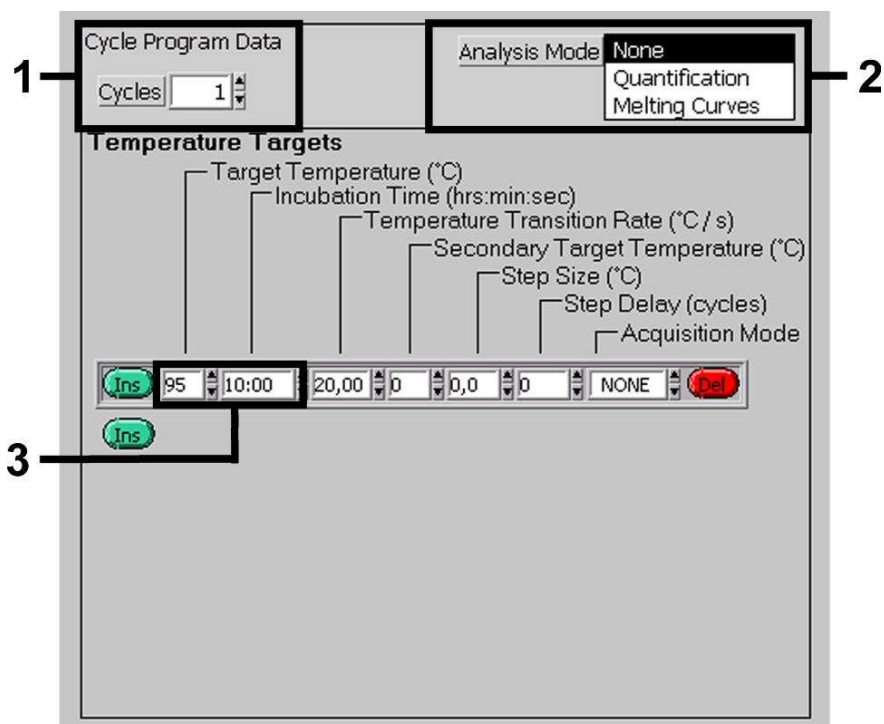


Fig. 2: Initial aktivering av Hot-Start-enzymet.

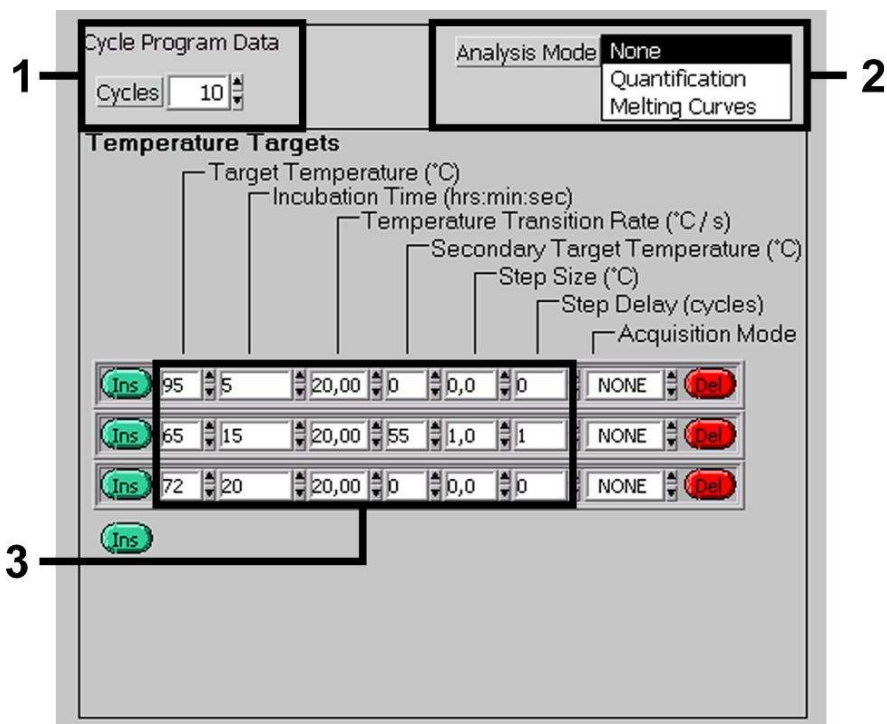


Fig. 3: Touch Down step.

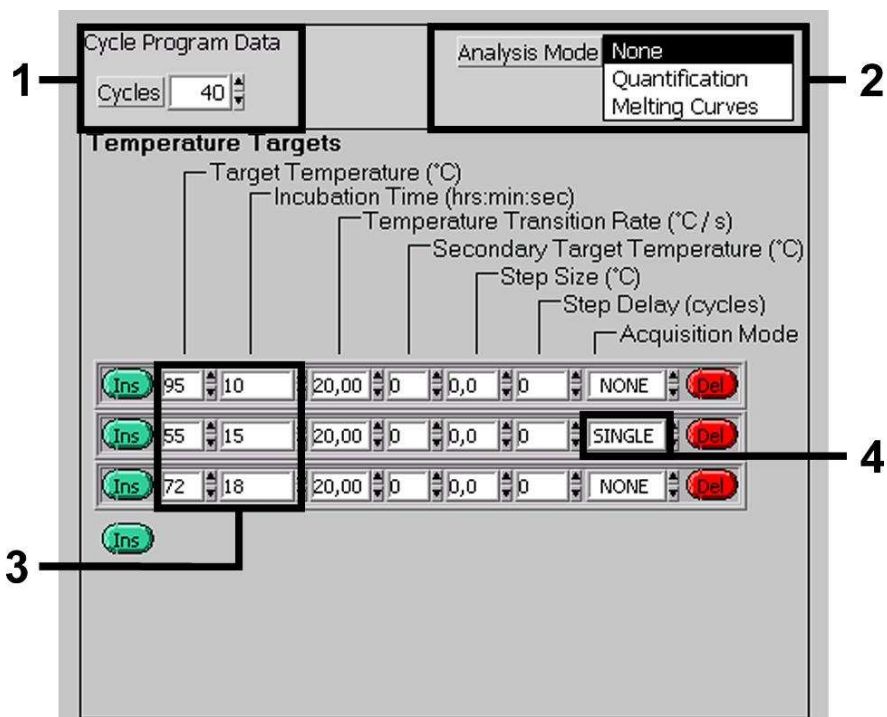


Fig. 4: Amplifying av DNA.

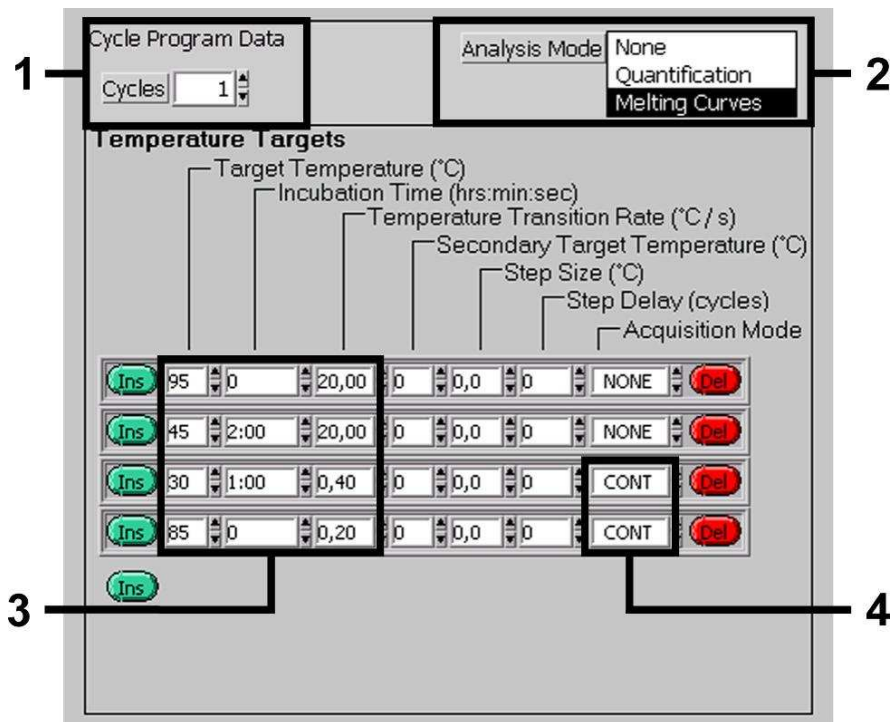


Fig. 5: Smältkurva.

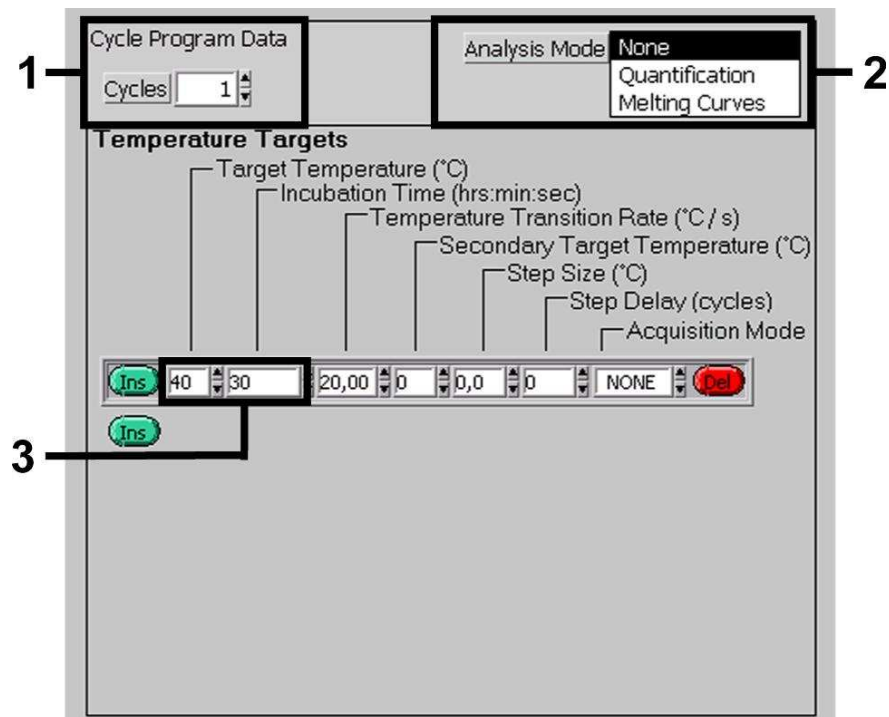


Fig. 6: Kylning.

9. Tolkning av resultat

Vid flerfärgs-analyser uppträder interferenser mellan fluorimeterkanalerna. Programvaran till *LightCycler*[®] instrumentet innehåller en fil som benämns *Color Compensation File*, som kompenserar dessa störningar. Öppna filen innan, under eller omedelbart efter PCR-körningen genom att aktivera knappen *Choose CCC File* resp. *Select CC Data*. Om det inte finns någon *Color Compensation File* installerad, måste du skapa filen enligt anvisningarna i *LightCycler Operator's Manual*. Efter att ha aktiverat *Color Compensation File* visas skilda signaler i fluorimeterkanalerna F1, F2 och F3. För analys av PCR-resultaten, vilka tas fram med *artus* MTHFR LC PCR Kit, väljer du displayfunktionerna F2/Back-F1 och F3/Back-F1 för MTHFR-PCR. I de flesta fall kunde ingen kvantitativ amplifiering iakttas vid *LightCycler*[®]-körningen under användning av *artus* MTHFR LC PCR Kit.

Komponenterna i *artus* MTHFR LC PCR Kits används för påvisning av två genetiska varianter (vildtyp = wt; variant = var) i nukleotidpositionerna nt 677 och nt 1298 i MTHFR-genen. Bestämningen av de genetiska varianterna genomförs med hjälp av *Melting Curve*-programmet. Smältpunkterna i smältkurveanalysen som visas i följande tabell (se Tabell 1) hänvisar till förekomst av vildtyp resp. genetisk variant vid de nämnda temperaturerna. Vid heterozygoti visar kurvan två toppar.

Tabell 1: Smältpunkt för vildtyp (wt) resp. genetisk variant (var).

Kanal F2			Kanal F3		
nt	wt	var	nt	wt	var
677	62°C	53°C	1298	46°C	57°C

Smältpunkterna kan variera med $\pm 2^\circ\text{C}$ från de angivna temperaturerna. Det rekommenderas att stänga av *Digital Filter* för en förbättrad framställning av smältkurveanalysen.

I följande figurer (se Fig. 7 och 8) visas smältkurveanalyserna för detektion av polymorfismerna i nukleotidpositionerna nt 677 och nt 1298 i homozygot vildtyp form, samt i heterozygot resp. homozygot förändrad form.

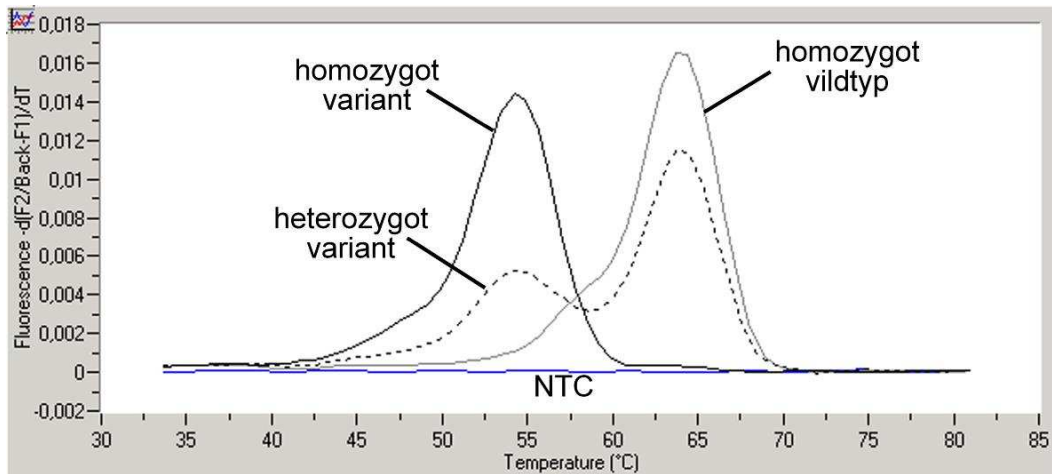


Fig. 7: Analys av smältkurvan för detektion av nukleotidutbyte nt 677 med hjälp av *artus* MTHFR LC PCR Kit i fluorimeterkanal F2/Back-F1. NTC: non-template control. (Negativ kontroll)

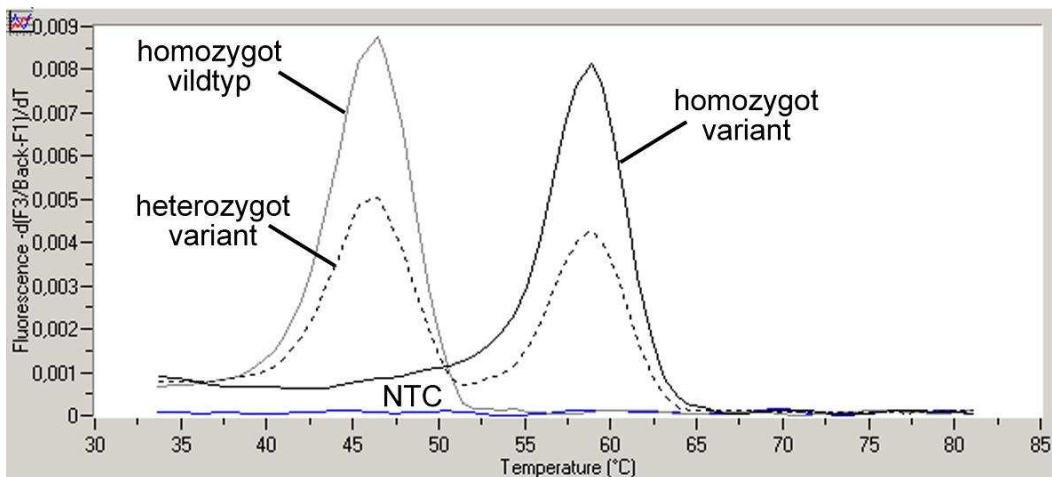


Fig. 8: Analys av smältkurvan för detektion av nukleotidutbyte nt 1298 med hjälp av *artus* MTHFR LC PCR Kit i fluorimeterkanal F3/Back-F1. NTC: non-template control. (Negativ kontroll)

En bestämning av genotyp är möjlig genom kombination av de alleliska varianterna. Förekommer två heterozygota varianter bör observeras att de kan finnas antingen tillsammans på en allel eller på två olika alleler. I litteraturen har tills vidare inget fall nämnts som beskriver en kombinerad förekomst av båda genetiska varianter i homozygot form. Om minst en genetisk variant förekommer kan man räkna med reducerad enzymaktivitet hos MTHFR.

Normal enzymaktivitet förväntas hos bärare av två vildtyp paralleller, förutsatt att inga andra icke-genetiska faktorer påvekar enzymaktiviteten. Reducerad enzymaktivitet kan förväntas hos bärare av minst en genetisk förändrad allel (MTHFR wt677/var677, wt1298/var1298). Risken för genetiskt betingade biverkningar stiger om båda alleler är beträffade.

De alleler som beskrivs ovan resulterar i olika möjliga genotyper. Dessa framgår ur följande tabell (se Tabell 2).

Tabell 2: Påverkan av genotyp på enzymaktivitet.

Homozygot vildtyp genotyp	Heterozygot variant genotyp	Homozygot variant genotyp
MTHFR wt677/wt677 wt1298/wt1298	MTHFR wt677/var677 wt1298/wt1298	MTHFR var677/var677 wt1298/wt1298
	MTHFR wt677/wt677 wt1298/var1298	MTHFR wt677/wt677 var1298/var1298
	MTHFR wt677/var677 wt1298/var1298	
normal enzymaktivitet	reducerad enzymaktivitet	

Den positiv kontroll (*MTHFR LC Control*) som ingår i *artus* MTHFR LC PCR Kit representerar det heterozygota allel tillståndet (se Fig. 7 och 8).

10. Felsökning

Ingen signal för positiv kontrollen (*MTHFR LC Control*) eller proverna i fluorimeterkanal F2/Back-F1 resp. F3/Back-F1:

- Programmeringen av temperaturprofilen för *LightCycler*[®] instrumentet är felaktig.
 - Jämför temperaturprofilen med angivelserna i protokollet (se **8.3 Programmering av *LightCycler*[®] instrumentet**).
- Felaktig sammanställning av PCR-reaktionen.
 - Kontrollera arbetsstegen med hjälp av pipetteringsschemat (se **8.2 Förberedelse av PCR**) och upprepa, om nödvändigt, PCR.
- Förvaringsanvisningarna för en eller flera av kit-komponenterna har inte följts enligt föreskrifterna i **2. Förvaring**, eller hållbarhetsdatumet för *artus MTHFR LC PCR Kit* har löpt ut.
 - Kontrollera både förvaringsförutsättningarna så väl som datumet för reagenserna hållbarhet (se kit-etikett) och använd, om nödvändigt, ett nytt kit.
- PCR har inhiberats.
 - Kontrollera att du har använt ett reningsförfarande som rekommenderas av oss (se **8.1 DNA-isolering**) och var noga med att följa tillverkarens anvisningar exakt.
 - Förvissa dig om att hos DNA-isoleringen det rekommenderade extra centrifugeringssteget för fullständigt avlägsnande av etanol-rester genomfördes innan elueringen (se **8.1 DNA-isolering**).
- Det förekommer DNA-förluster orsakade av reningsförfarandet.
 - Kontrollera att du har använt ett reningsförfarande som rekommenderas av oss (se **8.1 DNA-isolering**) och var noga med att följa tillverkarens anvisningar.

Svag fluorescenstopp:

- Blanda komponenterna väl före användning.
- Kontrollera villkoren för amplifiering.
- Kyl Cooling Block med de däri ingående adaptrarna till ca. +4°C.
- Kyl alla reagenser under pipetteringen.

Om du skulle ha ytterligare frågor eller om andra problem uppträder, ber vi dig kontakta vår tekniska service.

11. Specifikationer

11.1 Analytisk sensitivitet

artus MTHFR LC PCR Kit används för detektion av individuell genetisk konstitution för de genetiska varianterna nt 677 och nt 1298 i den humana MTHFR-genen med hjälp av *LightCycler*[®] teknologin. Humant genomiskt DNA isolerades ur blodprover, kvantifierades spektralfotometriskt och späddes i seriella utspädningssteg. Ett minimum av 0,12 ng genomiskt DNA (20 kopior) per PCR (motsvarar 0,005 - 0,02 µl blod, beroende på donator och isolering) är tillräckligt för detektion av de genetiska varianterna.

11.2 Analytisk specifitet

Specifiteten för *artus* MTHFR LC PCR Kit garanteras i första hand genom val av primers och prober samt val av stringenta reaktionsförhållanden. Primers och prober kontrolleras med en sekvensjämförelse-analys med avseende på eventuella homologier mot alla i genbanker publicerade sekvenser. Ytterligare säkerställdes specifiteten för påvisning av denna genetiska polymorfism genom sekvensering av de enskilda allelvarianterna och därpå följande sekvensjämförelse i internationella gendatabanker.

11.3 Diagnostisk sensitivitet och specifitet

Frekvensen av polymorfimer i den kaukasiska populationen som beskrivs i Botto & Yang (2000) kunde bekräftas med hjälp av 300 DNA prover under användning av kitets beståndsdelar.

12. Särskild information om produktanvändning

- Samtliga reagenser är endast avsedda att användas för in vitro-diagnostik.
- Utförandet bör ske av personal som fått särskild undervisning och utbildning i in vitro-diagnostik-förfarandet (EN375).
- För att erhålla optimala PCR-resultat är det mycket viktigt att protokollet följs exakt.
- Beakta utgångsdatumet som finns på de enskilda komponenternas förpackningar och etiketter. Utgångna reagenser får inte användas.

13. Säkerhetsinformation

Säkerhetsinformation för *artus* MTHFR LC PCR Kit hittar du i tillhörande säkerhetsdatablad (material safety data sheets, MSDS). Detta hittar du som kompakt och användarvänlig PDF-fil under www.qiagen.com/support/msds.aspx.

14. Kvalitetskontroll

Enligt QIAGENs certifierade kvalitets-management-system ISO 9001 och ISO 13485 testades varje tillverknings-sats *artus* MTHFR LC PCR Kit mot fastlagda specifikationer för att garantera en enhetlig produktkvalitet.

15. Referenser

- (1) Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2000 May 1; 151 (9): 862 - 877.
- (2) Junker R, Nowak-Göötli U, Fobker M. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and other genetic causes of hyperhomocysteinemia in venous thrombosis. *J Lab Med.* 2001; 25 (7/8): 239 - 253.
- (3) Kang SS, Wong PW, Susmano A, Sora J, Norusis M, Ruggie N. Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary artery disease. *Am J Hum Genet.* 1991 Mar; 48 (3): 536 - 545.
- (4) Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10 (3): 190 - 212.
- (5) Toffoli G, Veronesi A, Boiocchi M, Crivellari D. MTHFR gene polymorphism and severe toxicity during adjuvant treatment of early breast cancer with cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil (CMF). *Ann Oncol.* 2000 Mar; 11 (3): 373 - 374.

16. Symbolförklaring



Används före



Tillverkningssetsnummer



Tillverkare



Beställningsnummer



Materialnummer



Handbok



Medicinteknisk produkt för in vitro-diagnostik



Innehållet räcker för <N> test



Temperaturintervall

Austria ■ QIAGEN Vertriebs GmbH ■ Löwengasse 47/6 ■ 1030 Wien

Orders 0800/28-10-10 ■ Fax 0800/28-10-19 ■ Technical 0800/28-10-11

Canada ■ QIAGEN Inc. ■ 2800 Argentia Road ■ Unit 7 ■ Mississauga ■ Ontario ■ L5N 8L2

Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

France ■ QIAGEN S.A. ■ 3 avenue du Canada ■ LP 809 ■ 91974 COURTABOEUF CEDEX

Orders 01-60-920-920 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930

Germany ■ QIAGEN GmbH ■ QIAGEN Strasse 1 ■ 40724 Hilden

Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Italy ■ QIAGEN S.p.A. ■ Via Grosio, 10/10 ■ 20151 Milano

Orders 02-33430-411 ■ Fax 02-33430-426 ■ Technical 800-787980

Japan ■ QIAGEN K.K. ■ Forefront Tower II ■ 13-1, Kachidoki 3 Chome ■ Chuo-ku, Tokyo 104-0054

Telephone 03-5547-0811 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-5547-0811

Switzerland ■ QIAGEN AG ■ Garstligweg 8 ■ 8634 Hombrechtikon

Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

USA ■ QIAGEN Inc. ■ 27220 Turnberry Lane ■ Valencia ■ CA 91355

Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

1046979SV 127132193