

artus[®] MTHFR LC PCR Kit

Manuál



24 (Katalogové čís. 4621063)



96 (Katalogové čís. 4621065)

In vitro diagnostikum pro kvalitativní stanovení

Pro použití s přístrojem *LightCycler[®]*

Červen 2007 – Verze 1



4621063, 4621065



1046979CS



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

MAT

1046979CS

artus MTHFR LC PCR Kit

Ochranné známky a vyloučení odpovědnosti

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

Registrované názvy, ochranné známky etc. použité v tomto manuálu nelze považovat za nechráněné zákonem, ani když nejsou jako takové označeny.

artus MTHFR LC PCR Kit je diagnostická souprava označená značkou CE v souladu s evropskou směrnicí 98/79/ES o diagnostických zdravotnických prostředcích in vitro. Souprava není dostupná ve všech zemích.

Soupravy QIAamp Kit jsou určeny pro obecné laboratorní použití. Údaje produktu nebo jeho prezentace nejsou určeny k tomu, aby podávaly informace o diagnóze, prevenci nebo léčení nemoci.

Koupě souprav *artus* PCR Kit zahrnuje limitovanou licenci pro jejich použití v procesu polymerázové řetězové reakce (PCR) v rámci humánní a veterinární in vitro diagnostiky, ve spojení s termocyklerem, jehož použití při automatizovaném provedení PCR je kryto předem splatným licenčním poplatkem, který se odvádí buď platbou společnosti Applied Biosystems nebo koupí autorizovaného termocykleru. Technologie PCR je chráněna národními patentními právy ekvivalentními k USA patentům čísl. 5.219.727 a 5.322.770 a 5.210.015 a 5.176.995 a 6.040.166 a 6.197.563 a 5.994.056 a 6.171.785 a 5.487.972 a 5.804.375 a 5.407.800 a 5.310.652 a 5.994.056; vlastněno firmou F. Hoffmann-La Roche Ltd.

© 2007 QIAGEN, všechna práva vyhrazena.

Obsah

1. Obsah	4
2. Skladování.....	4
3. Další potřebné vybavení.....	4
4. Všeobecná preventivní opatření.....	5
5. Obecné údaje	5
6. Princip testu	6
7. Popis produktu	6
8. Protokol	7
8.1 Izolace DNA	7
8.2 Příprava PCR	7
8.3 Programování přístroje <i>LightCycler</i> [®]	10
9. Vyhodnocení	13
10. Řešení problémů.....	16
11. Specifikace.....	17
11.1 Analytická senzitivita	17
11.2 Analytická specifita	17
11.3 Diagnostická senzitivita a specifita	17
12. Zvláštní pokyny pro použití produktu	18
13. Bezpečnostní informace	18
14. Kontrola kvality.....	18
15. Literatura.....	19
16. Vysvětlení symbolů	20

artus[®] MTHFR LC PCR Kit*

Pro použití s přístrojem *LightCycler[®]*.

1. Obsah

	Označení a obsah	Kat. čís. 4621063 24 reakcí	Kat. čís. 4621065 96 reakcí
Modrá	<i>MTHFR LC Master</i>	2 x 12 rxns	8 x 12 rxns
Červená	<i>MTHFR LC Control</i>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Bílá	<i>Water (PCR grade)</i>	1 x 1 000 µl	1 x 1 000 µl

2. Skladování

Komponenty *artus MTHFR LC PCR Kit* se skladují při -20 °C a mají trvanlivost do data uvedeného na štítku. Zabraňte opakovanému rozmrazení a zmrazení (> 2 x), snižuje se tím senzitivita. Při nepravidelném používání by proto měly být reagenty alikvotovány. V případě, že je nutné komponenty skladovat při teplotě +4 °C, skladujte je takto maximálně po dobu pěti hodin.

3. Další potřebné vybavení

- Laboratorní rukavice bez pudru
- DNA-izolační souprava (viz **8.1 Izolace DNA**)
- Pipety (nastavitelné)
- Sterilní pipetovací špičky s filtrem
- Vortex mixer
- Stolní centrifuga s rotorem pro 2 ml zkumavky
- *Color Compensation Set* (Roche Diagnostics, kat.č. 2 158 850) pro vytvoření souboru *Crosstalk Color Compensation*

* MTHFR = methylenetetrahydrofolát reduktáza

- *LightCycler*[®] kapiláry (20 µl)
- *LightCycler*[®] Cooling Block
- *LightCycler*[®] přístroj
- *LightCycler*[®] Capping Tool

4. Všeobecná preventivní opatření

Uživatel by měl dbát na následující:

- Používejte sterilní pipetovací špičky s filtrem.
- Skladujte, izolujte a přidávejte pozitivní materiál (vzorky, kontroly, amplifikáty) do reakce na jiném místě než ostatní reagenty.
- Všechny komponenty před počátkem testu úplně rozmrazte při pokojové teplotě.
- Následně komponenty řádně promíchejte a krátce centrifugujte.
- Pracujte plynule na ledu nebo v *LightCycler*[®] Cooling Blocku.

5. Obecné údaje

Kromě vlivů jako věk, pohlaví, výživa a komedikace je enzymová aktivita ovlivněna především genetickými faktory. Je známo, že pacienti, kteří vykazují geneticky podmíněnou změnu aktivity enzymu methylenetetrahydrofolát reduktázy (MTHFR), mají při léčbě metotrexátem zvýšené riziko výskytu vážných vedlejších účinků (např. vážné změny krevního obrazu, mukositis, hyperhomocysteinémie). Metotrexát je antagonist kyseliny listové a používá se mimo jiné v léčbě revmatické artritidy a nádorových onemocnění. Analýza genu MTHFR umožňuje odhad geneticky podmíněného rizika vážných vedlejších účinků. Nosiči genetické varianty genu MTHFR mohou být takto před začátkem terapie rozpoznáni a popř. léčeni alternativní metodou nebo výrazně nižší dávkou.

Enzymatická aktivita methylenetetrahydrofolát reduktázy je určena mj. změnami v MTHFR genu. Genetické modifikace mohou např. způsobit výměnu aminokyselin. Tímto změněná konformace enzymu má vliv na aktivitu enzymu. Nejčastější genetické varianty genu MTHFR postihují nukleotidy nt

677 a nt 1298. V literatuře jsou popsány další genetické varianty, které jsou ovšem jen velmi vzácné popř. byly v populaci pozorovány jen jednou.

Enzym MTHFR je hlavní součástí metabolismu kyseliny listové. Důsledkem redukované enzymatické aktivity je ovlivnění syntézy methioninu z homocysteinu. Protože zvýšená koncentrace homocysteinu může způsobit různá onemocnění (trombózu, arteriosklerózu), znamená přítomnost genetické varianty genu MTHFR zvýšené riziko výskytu těchto onemocnění.

Genotypizace může pomoci individuálně optimalizovat medikamentózní terapie a snížit náklady vznikající kvůli nežádoucím účinkům (delší pobyt v nemocnici ap.) popř. včas rozpoznat geneticky podmíněné riziko hyperhomocysteinémie.

6. Princip testu

Při genetické diagnostice pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) se amplifikují specifické oblasti lidského genomu. Detekce probíhá při PCR v reálném čase pomocí fluorescenčních barviv. Barviva jsou zpravidla vázaná na oligonukleotidové sondy, které se specificky vážou na PCR amplifikát. Analýza křivek tání bezprostředně po PCR amplifikaci umožňuje identifikaci a diferenciaci genových variant. Protože již není po PCR nutné znovu otevírat testovací kapiláry, výrazně se snižuje riziko kontaminace (Mackay, 2004).

7. Popis produktu

artus MTHFR LC PCR Kit umožňuje jednoduché, rychlé a spolehlivé testování lidské DNA na přítomnost klinicky relevantních genetických variant v MTHFR genu. Tato analýza umožňuje odhad rizik spojených s terapií, např. s léčbou metotrexátem.

Analýza se provádí s pomocí přístroje *LightCycler*[®] na základě průkazu genetických variant v MTHFR genu. Reagencie obsahují primery k amplifikaci úseku lidského MTHFR genu a také fluorescenčně značené sondy k průkazu genetických variant na nukleotidových pozicích nt 677C>T a nt 1298A>C. Dodatečně se v oddělené reakci provádí pozitivní kontrola.

Protože se test zakládá na amplifikaci lidské genomické DNA, musí být fluorescenční signály v úseku křivek tání rozpoznatelné nezávisle na přítomnosti alelické varianty. Absence detekovatelného signálu poukazuje na neefektivní extrakci DNA nebo PCR inhibici. Dodatečná interní kontrola není tedy při tomto genetickém testu zapotřebí.

Upozornění: Signály analýzy křivek tání jsou rozhodující pro vyhodnocení dat. Ve většině případů nelze během běhu na přístroji *LightCycler*[®] za užití *artus* MTHFR LC PCR Kit pozorovat kvantitativní amplifikaci. To však nemá negativní vliv na analýzu křivek tání.

8. Protokol

8.1 Izolace DNA

Diagnostické soupravy k izolaci DNA z krve nabízejí různí výrobci. V závislosti na protokolu zvoleného výrobce použijte dané množství vzorku a proveďte izolaci DNA podle návodu. Doporučujeme následující izolační soupravy:

Vzorek	Izolační souprava	Katalogové číslo	Výrobce
krev	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	51 104	QIAGEN

- Při izolaci využívající promývací pufr s obsahem **etanolu** bezpodmínečně zajistěte, aby byl před elucí proveden ještě jeden centrifugační krok (tři minuty, 13 000 ot/min) a tím se odstranily zbytky etanolu. Předejdete tak možným inhibicím PCR.
- *artus* MTHFR LC PCR Kit není vhodný pro izolace na bázi **fenolu**.

8.2 Příprava PCR

Ověřte, že je Cooling Block s uvnitř obsaženými adaptéry (příslušenství přístroje *LightCycler*[®]) předem vychlazen přibližně na +4 °C. Do adaptéru Cooling Blocku vložte takový počet kapilár *LightCycler*[®], který je potřebný pro plánované reakce. Všechny reagenty se musí před začátkem testu zcela

rozmrazit při pokojové teplotě, musí být dobře promíchány (opakovaný náběh pipetou a vypuštění pipety nebo krátký vortex) a následně centrifugovány.

Dbejte na to, aby byla společně s každým během PCR provedena alespoň jedna pozitivní (*MTHFR LC Control*) a negativní kontrola (*Water, PCR grade*).

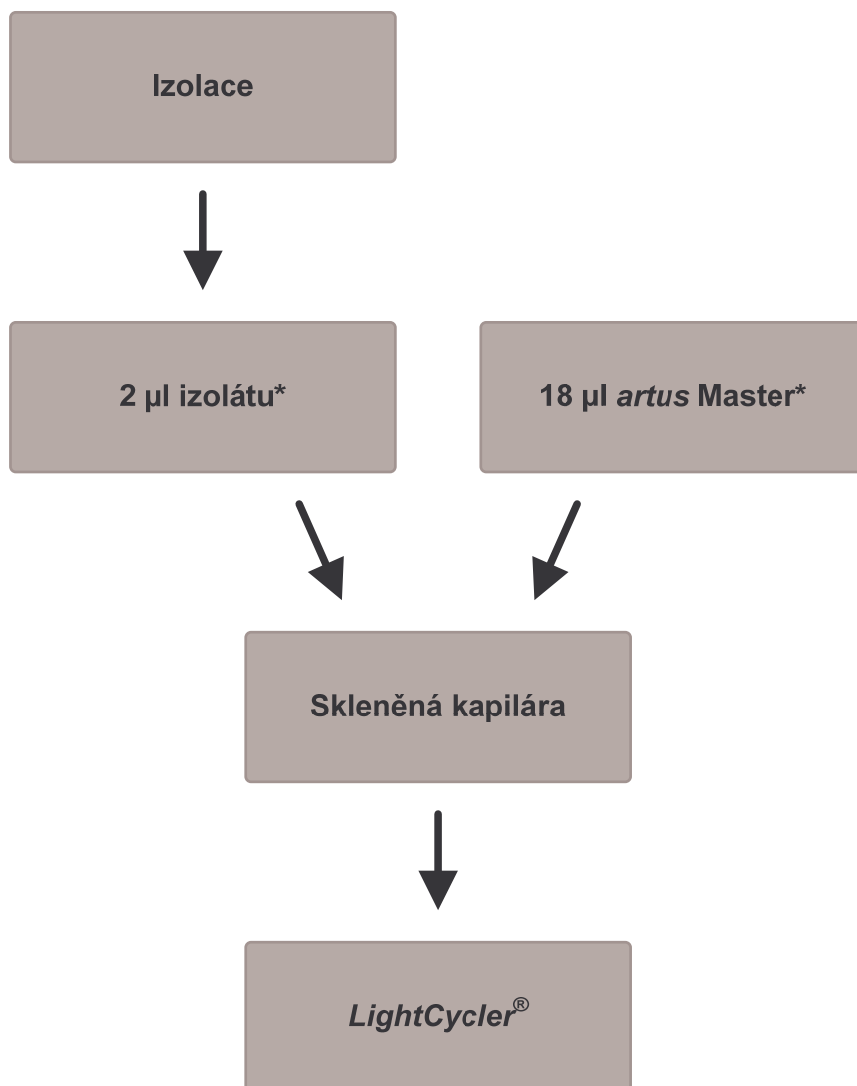
Při přípravě PCR reakcí používejte následující schéma pipetování (viz také schématický přehled na Obr. 1):

Příprava PCR reakce	Počet vzorků		1
	<i>MTHFR LC Master</i>		18 µl
	vzorek		2 µl
	celkový objem		20 µl

Do plastického zásobníku každé kapiláry pipetujte 18 µl *MTHFR LC Master*. Následně přidejte 2 µl eluátu z izolace DNA. Podobně musíte přidat jako pozitivní kontrolu 2 µl *MTHFR LC Control* a jako negativní kontrolu 2 µl vody (*Water, PCR grade*). Uzavřete kapiláry. Směs převedete z plastického zásobníku do kapiláry tak, že na stolní centrifuze centrifugujete adaptéry s uvnitř obsaženými kapilárami po dobu deseti sekund při maximálně 400 x g (2 000 ot/min).

Upozornění: Aby se zabránilo kontaminacím, měla by se víčka na kapiláry nasadit pomocí *LightCycler®* Capping Tool.

Příprava PCR



Obr. 1: Schéma pracovního postupu.

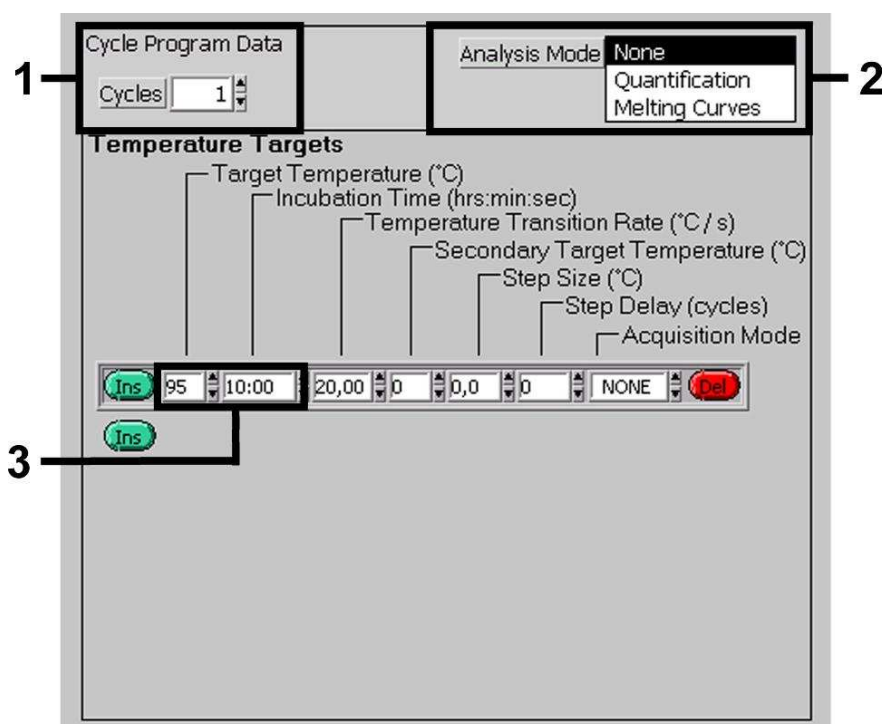
* Při každém pipetovacím kroku je třeba bezpodmínečně dbát na to, aby byly používané roztoky dokonale roztáté, řádně promíchané a krátce centrifugované.

8.3 Programování přístroje *LightCycler*[®]

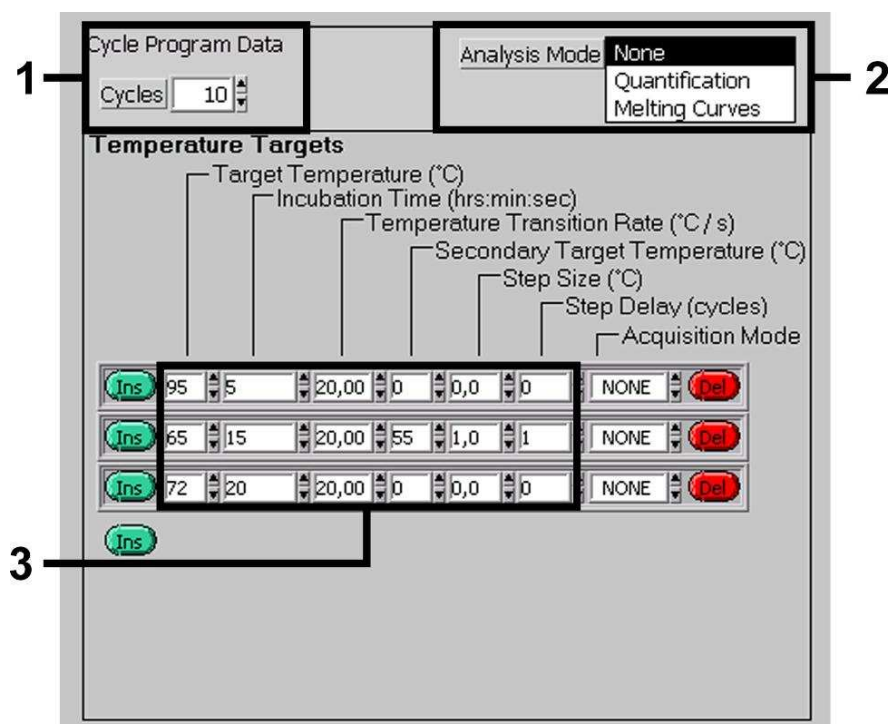
Pro detekci genetických variant v MTHFR genu vytvořte na přístroji *LightCycler*[®] teplotní profil následujícími pěti pracovními kroky (viz Obr. 2 - 6):

- | | | |
|----|-------------------------------------|--------|
| A. | Počáteční aktivace Hot Start enzymu | Obr. 2 |
| B. | Krok "Touch Down" | Obr. 3 |
| C. | Amplifikace DNA | Obr. 4 |
| D. | Křivka tání | Obr. 5 |
| E. | Chlazení | Obr. 6 |

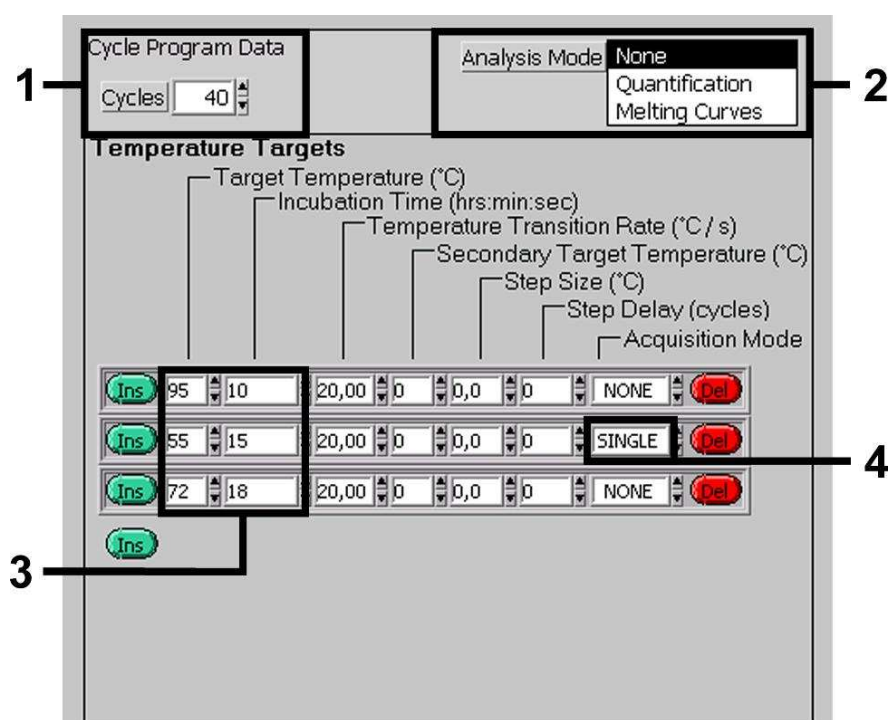
Dbejte zvláště na nastavení *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* a *Temperature Targets*. Na obrázcích jsou tato nastavení zvýrazněna černými rámečky. Pokyny pro programování přístroje *LightCycler*[®] naleznete v příručce *LightCycler Operator's Manual*.



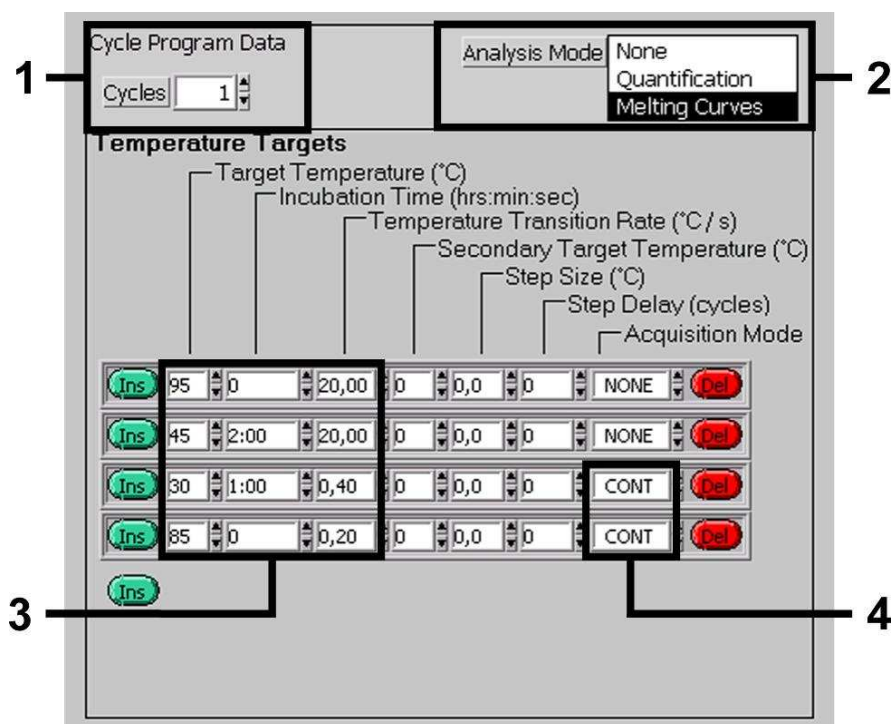
Obr. 2: Počáteční aktivace Hot Start enzymu.



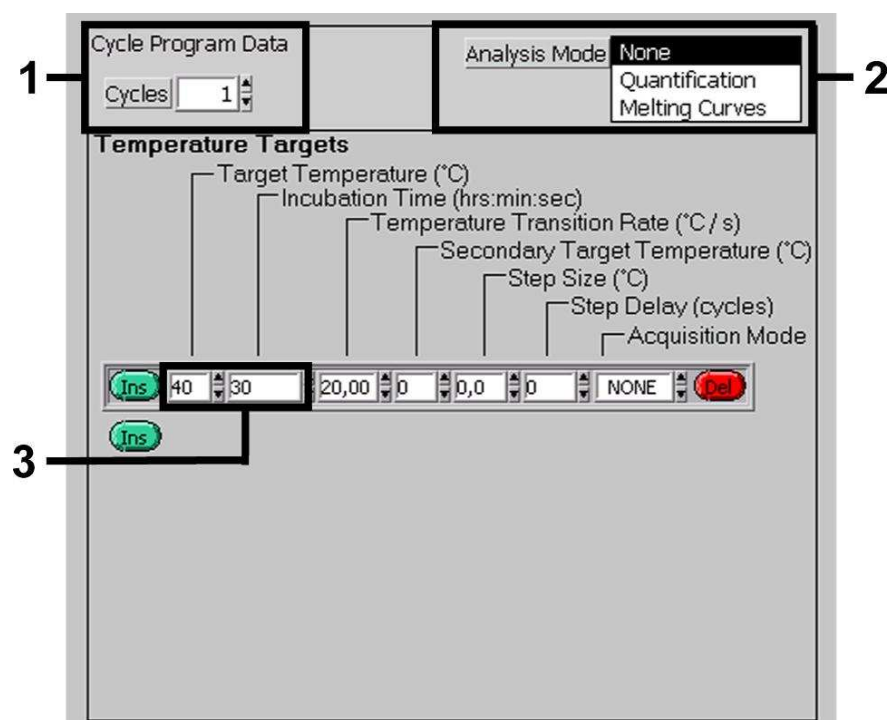
Obr. 3: Krok "Touch Down".



Obr. 4: Amplifikace DNA.



Obr. 5: Křivka tání.



Obr. 6: Chlazení.

9. Vyhodnocení

U vícebarevných analýz se mezi fluorimetrickými kanály vyskytují interference. Software přístroje *LightCycler*[®] obsahuje soubor označený jako *Color Compensation File*, který tato záření kompenzuje. Tento soubor otevřete před, v průběhu nebo po skončení PCR aktivací přepínací plochy *Choose CCC File* resp. *Select CC Data*. Není-li instalován žádný soubor *Color Compensation File*, vytvořte soubor podle návodu v *LightCycler Operator's Manual*. Po aktivaci souboru *Color Compensation File* se ve fluorimetrických kanálech F1, F2 a F3 objeví oddělené signály. Pro analýzu výsledků PCR, které byly získány pomocí *artus* MTHFR LC PCR Kit, zvolte prosím pohledovou funkci F2/Back-F1 a F3/Back-F1 pro MTHFR PCR. Při použití *artus* MTHFR LC PCR Kit nelze ve většině případů během běhu přístroje *LightCycler*[®] pozorovat kvantitativní amplifikace.

Komponenty soupravy *artus* MTHFR LC PCR Kit slouží k průkazu dvou genetických variant (divoký typ = wt; varianta = var) na nukleotidových pozicích nt 677 a nt 1298 v MTHFR genu. Určení genetických variant probíhá pomocí programu *Melting Curve*. V analýze křivek tání poukazují body tání u teplot uvedených v následující tabulce (viz Tabulka 1) na přítomnost divokého typu resp. genetické varianty. V případě heterozygoty vykazuje křivka dva vrcholy.

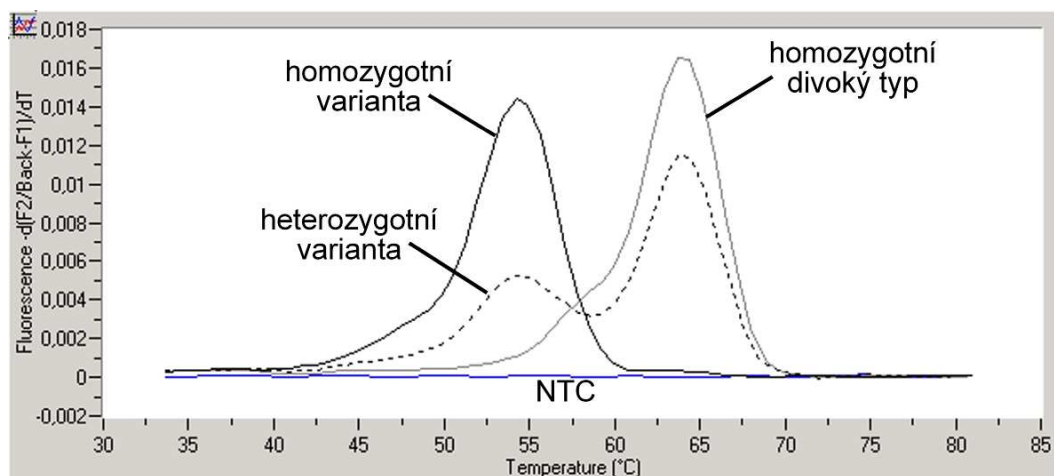
Tabulka 1: Body tání divokého typu (wt) resp. genetických variant (var).

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

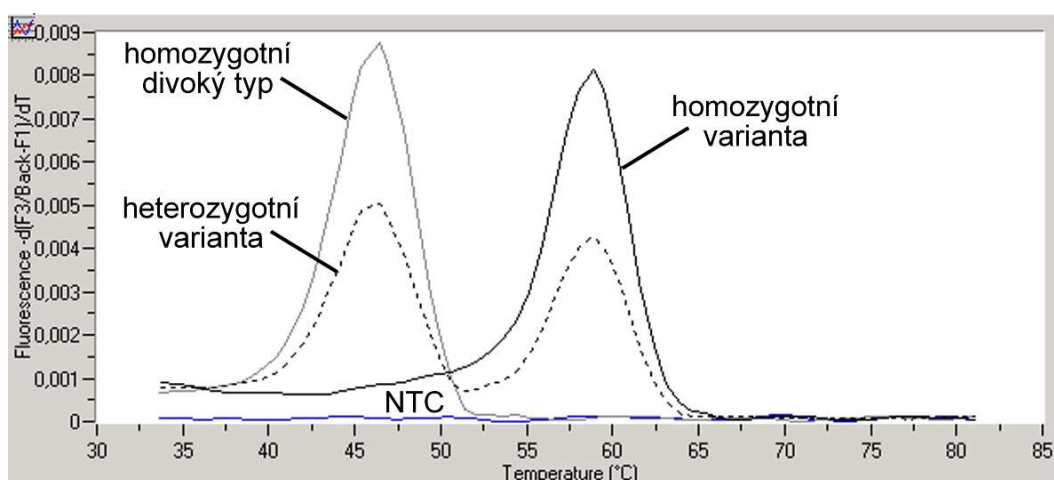
Prosím povšimněte si, že se body tání mohou od uvedených teplot odlišovat o $\pm 2^\circ\text{C}$. V mnoha případech se k lepšímu zobrazení analýzy křivek tání doporučuje vypnout *Digital Filter*.

Následující vyobrazení (viz Obr. 7 a 8) zobrazují analýzu křivek tání průkazu polymorfismů na nukleotidových pozicích nt 677 a nt 1298 v homozygotní

formě divokého typu, a také v heterozygotní popř. homozygotní modifikované formě.



Obr. 7: Analýza křivek tání k průkazu nukleotidové výměny nt 677 pomocí *artus* MTHFR LC PCR Kit ve fluorimetrickém kanálu F2/Back-F1. NTC: non-template control (negativní kontrola).



Obr. 8: Analýza křivek tání k průkazu nukleotidové výměny nt 1298 pomocí *artus* MTHFR LC PCR Kit ve fluorimetrickém kanálu F3/Back-F1. NTC: non-template control (negativní kontrola).

Určení genotypu je možné díky kombinaci alelických variant. Přitom se musí dbát na to, že v případě přítomnosti dvou heterozygotních variant mohou být tyto lokalizovány buďto na jedné nebo na dvou alelách. Dosud nebyl v literatuře popsán žádný případ výskytu sloučení obou genetických variant

v homozygotní formě. V každém případě lze při přítomnosti nejméně jedné genetické varianty očekávat redukci enzymatické aktivity MTHFR.

U nosičů dvou alel divokého typu lze předpokládat normální enzymatickou aktivitu, pokud není ovlivněna jinými negenetickými faktory. Snížená enzymatická aktivita se očekává u nosičů nejméně jedné modifikované alely (MTHFR wt677/var677, wt1298/var1298). Jsou-li postiženy obě alely, zvyšuje se riziko geneticky podmíněných vedlejších účinků.

Výše popsané alely resultují v různých možných genotypech. Tyto jsou uvedeny v následující tabulce (viz Tabulka 2).

Tabulka 2: Vliv genotypu na enzymatickou aktivitu.

Homozygotní genotyp divokého typu	Heterozygotní genotyp varianty	Homozygotní genotyp varianty
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	
normální enzymatická aktivita	redukována enzymatická aktivita	

Pozitivní kontrola (*MTHFR LC Control*), dodávaná se soupravou *artus MTHFR LC PCR Kit*, vykazuje heterozygotní stav alel (viz Obr. 7 a 8).

10. Řešení problémů

Žádný signál při pozitivní kontrole (*MTHFR LC Control*) nebo u vzorků ve fluorimetrickém kanálu F2/Back-F1 popř. F3/Back-F1:

- Naprogramování teplotního profilu přístroje *LightCycler*[®] je chybné.
 - Porovnejte teplotní profil s údaji protokolu (viz **8.3 Programování přístroje *LightCycler*[®]**).
- PCR reakce byla chybně sestavena.
 - Porovnejte Vaše pracovní kroky s pipetovacím schématem (viz **8.2 Příprava PCR**) a popř. PCR zopakujte.
- Podmínky skladování jednoho nebo více komponentů soupravy neodpovídají předpisům uvedeným v kapitole **2. Skladování** nebo byla překročena doba použitelnosti soupravy *artus MTHFR LC PCR Kit*.
 - Prosím zkontrolujte jak podmínky skladování, tak i dobu použitelnosti reagensů (viz štítek soupravy) a použijte popř. novou soupravu.
- PCR byla inhibována.
 - Ujistěte se, že používáte námi doporučený postup izolace (viz **8.1 Izolace DNA**) a držte se přesně předpisů výrobce.
 - Přesvědčte se, že byl při izolaci DNA před elucí proveden dodatečný doporučený centrifugační krok k úplnému odstranění zbytků etanolu (viz **8.1 Izolace DNA**).
- Během izolace dochází k úbytku DNA.
 - Ujistěte se, že používáte námi doporučený postup izolace (viz **8.1 Izolace DNA**) a držte se přesně předpisů výrobce.

Slabé maximum fluorescence

- Před použitím komponenty důkladně promíchejte.
- Zkontrolujte podmínky amplifikace.
- Cooling Block s obsaženými adaptéry předchladte na +4 °C.
- Udržujte všechny reagensie během pipetování v chladu.

Pokud se vyskytnou další otázky nebo problémy, kontaktujte prosím naši technickou podporu.

11. Specifikace

11.1 Analytická senzitivita

artus MTHFR LC PCR Kit slouží za pomoci technologie *LightCycler*[®] k průkazu individuální genetické konstituce vzhledem ke genetickým variantám nt 677 a nt 1298 v lidském genu MTHFR. Lidská genomická DNA byla purifikována z krevních vzorků, spektrofotometricky kvantifikována a zředěna v sériových fázích ředění. Minimum o 0,12 ng genomické DNA (20 kopií) pro PCR (odpovídá 0,005 – 0,02 µl krve, podle dárce krve a izolace) vystačí pro detekci genetické varianty.

11.2 Analytická specificita

Specificita *artus* MTHFR LC PCR Kit je v první řadě zaručena výběrem primerů a sond, jakož i volbou přísných reakčních podmínek. Primery a sondy byly na základě sekvenční analýzy přezkoušeny na eventuální homologie se všemi sekvencemi publikovanými v genových bankách. Dále byla specificita k průkazu tohoto genetického polymorfismu zajištěna sekvencováním jednotlivých alelických variant a následným sekvenčním srovnáním v mezinárodních genových bankách.

11.3 Diagnostická senzitivita a specificita

Frekvence polymorfismu v europoidní populaci, jak byla popsána v Botto & Yang (2000), byla na základě 300 DNA vzorků a za užití komponentů diagnostické soupravy potvrzena.

12. Zvláštní pokyny pro použití produktu

- Všechny reagenty se smí používat výhradně pro diagnostiku in vitro.
- Prostředek by měli používat pouze pracovníci, kteří jsou speciálně poučeni a vyškoleni v metodice diagnostiky in vitro (EN375).
- Přesné dodržování protokolu je bezpodmínečně nutné k dosažení optimálních výsledků PCR.
- Dbejte na konec doby použitelnosti uvedený na balení a na štítcích jednotlivých komponent. Nepoužívejte reagenty s prošlou trvanlivostí.

13. Bezpečnostní informace

Bezpečnostní informace k soupravě *artus* MTHFR LC PCR Kit naleznete v odpovídajících bezpečnostních listech (material safety data sheets, MSDS). Tyto listy jsou k dispozici v podobě kompaktního a snadno použitelného PDF souboru na www.qiagen.com/support/msds.aspx.

14. Kontrola kvality

V souladu se systémem managementu jakosti společnosti QIAGEN certifikovaným podle norem ISO 9001 a ISO 13485 byla každá šarže *artus* MTHFR LC PCR Kit testována podle předem stanovených specifikací, aby byla zaručena jednotná kvalita produktu.

15. Literatura

- (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-Gööt 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. Vysvětlení symbolů



Použitelné do



Číslo šarže



Výrobce



Katalogové číslo



Číslo materiálu



Manuál



Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro



Obsah postačující pro <N> testů



Teplotní rozmezí

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)

1046979CS 127132193