

artus[®] MTHFR LC PCR Kit

Handbuch



24 (Katalog Nr. 4621063)



96 (Katalog Nr. 4621065)

Qualitatives In-vitro-Diagnostikum

Zur Verwendung mit dem *LightCycler*[®] Instrument

Juni 2007 – Version 1



4621063, 4621065



1046979DE



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

MAT

1046979DE



artus MTHFR LC PCR Kit

Marken und Disclaimer

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

Registrierte Namen, Warenzeichen, usw. in diesem Dokument können nicht, auch bei fehlender Kennzeichnung als solche, als gesetzlich ungeschützt betrachtet werden.

Der *artus* MTHFR LC PCR Kit ist ein CE-markierter diagnostischer Kit in Übereinstimmung mit der Europäischen Richtlinie 98/79/EG über In-vitro-Diagnostika. Nicht in allen Ländern erhältlich..

Die QIAamp Kits sind für den allgemeinen Laborgebrauch. Die Produktangaben oder Produktdarstellungen sind nicht dazu vorgesehen, Informationen für die Diagnose, Prävention oder Behandlung einer Erkrankung zu liefern.

Der Erwerb der *artus* PCR Kits beinhaltet eine limitierte Lizenz für ihre Verwendung zur Durchführung des Polymerasekettenreaktion-Verfahrens (PCR) in der humanen und veterinären In-vitro-Diagnostik in Verbindung mit einem Thermocycler, dessen Einsatz bei der automatisierten Durchführung der PCR durch die up-front Lizenzgebühr abgedeckt ist, die entweder an Applied Biosystems abgeführt wird oder durch den Erwerb eines autorisierten Thermocyclers entrichtet wird. Das PCR Verfahren ist geschützt durch entsprechende nationale Schutzrechte der U.S. Patente der Nummern 5.219.727 und 5.322.770 und 5.210.015 und 5.176.995 und 6.040.166 und 6.197.563 und 5.994.056 und 6.171.785 und 5.487.972 und 5.804.375 und 5.407.800 und 5.310.652 und 5.994.056; Eigentum der F. Hoffmann-La Roche Ltd.

© 2007 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Inhaltsverzeichnis

1. Inhalt.....	4
2. Lagerung	4
3. Zusätzlich benötigte Materialien und Geräte.....	4
4. Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	5
5. Hintergrund-Informationen	5
6. Prinzip des Testverfahrens	6
7. Produktbeschreibung.....	7
8. Protokoll	8
8.1 DNA-Isolierung	8
8.2 Vorbereitung der PCR	9
8.3 Programmierung des <i>LightCycler</i> [®] Instruments	11
9. Auswertung	14
10. Troubleshooting	17
11. Spezifikationen	18
11.1 Analytische Sensitivität.....	18
11.2 Analytische Spezifität	18
11.3 Diagnostische Sensitivität und Spezifität.....	19
12. Besondere Hinweise zum Produkt-Gebrauch	19
13. Sicherheitsinformationen.....	19
14. Qualitätskontrolle	19
15. Literatur	20
16. Erklärung der Symbole	21

artus[®] MTHFR LC PCR Kit*

Für die Verwendung mit dem *LightCycler[®]* Instrument.

1. Inhalt

	Beschriftung und Inhalt	Art. Nr. 4621063 24 Reaktionen	Art. Nr. 4621065 96 Reaktionen
Blau	<i>MTHFR LC Master</i>	2 x 12 rxns	8 x 12 rxns
Rot	<i>MTHFR LC Control</i>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
Weiß	<i>Water (PCR grade)</i>	1 x 1.000 µl	1 x 1.000 µl

2. Lagerung

Die Komponenten des *artus MTHFR LC PCR Kits* werden bei -20°C gelagert und sind bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum haltbar. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren (> 2 x) sollte vermieden werden, da dadurch die Sensitivität verringert wird. Bei unregelmäßigem Gebrauch sollten deshalb die Reagenzien aliquotiert werden. Sollte die Notwendigkeit bestehen, die Komponenten bei +4°C zu lagern, darf ein Zeitraum von fünf Stunden nicht überschritten werden.

3. Zusätzlich benötigte Materialien und Geräte

- Puderfreie Laborhandschuhe
- DNA-Isolierungskit (siehe **8.1 DNA-Isolierung**)
- Pipetten (einstellbar)
- Sterile Pipettenspitzen mit Filter
- Vortex-Mixer
- Tischzentrifuge mit Rotor für 2 ml-Reaktionsgefäße
- *Color Compensation Set* (Roche Diagnostics, Kat.-Nr. 2 158 850) zur Erstellung einer *Crosstalk Color Compensation-Datei*

* MTHFR = Methylentetrahydrofolat-Reduktase

- *LightCycler*[®] Kapillaren (20 µl)
- *LightCycler*[®] Cooling Block
- *LightCycler*[®] Instrument
- *LightCycler*[®] Capping Tool

4. Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Sterile Pipettenspitzen mit Filter verwenden.
- Positivmaterial (Proben, Kontrollen, Amplifikate) räumlich getrennt von den übrigen Reagenzien lagern, aufreinigen und zur Reaktion zusetzen.
- Alle Komponenten vor Testbeginn vollständig bei Raumtemperatur auftauen.
- Anschließend die Komponenten gründlich durchmischen und kurz zentrifugieren.
- Zügig auf Eis oder im *LightCycler*[®] Cooling Block arbeiten.

5. Hintergrund-Informationen

Neben Einflüssen wie Alter, Geschlecht, Ernährung und Komedikation können insbesondere genetische Faktoren die Enzymaktivität beeinflussen. Es ist bekannt, dass Patienten, die eine genetisch bedingt veränderte Aktivität des Enzyms Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR) aufweisen, unter Therapie mit Methotrexat ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von Nebenwirkungen (z. B. schwere Blutbildveränderungen, Mukositis, Hyperhomocysteinämie) haben. Methotrexat ist ein Folsäure-Antagonist und wird u. a. zur Therapie der rheumatoiden Arthritis und bei Tumorerkrankungen eingesetzt. Eine Untersuchung des MTHFR-Gens erlaubt die Einschätzung des genetisch bedingten Risikos von therapieinduzierten Nebenwirkungen. Träger einer genetischen Variante des MTHFR-Gens können vor Beginn einer Therapie ermittelt und ggf. mit einer alternativen Therapie oder mit deutlich reduzierter Dosierung behandelt werden.

Die Enzymaktivität der Methylentetrahydrofolat-Reduktase wird u. a. durch Veränderungen im MTHFR-Gen bestimmt. Genetische Veränderungen können beispielsweise einen Aminosäureaustausch zur Folge haben. Die dadurch veränderte Konformation des Enzyms hat Auswirkungen auf die Aktivität des Enzyms. Die häufigsten genetischen Varianten im MTHFR-Gen betreffen die Nukleotide nt 677 und nt 1298. Es sind weitere genetische Varianten in der Literatur beschrieben, die aber selten bzw. nur einmalig in einer Population beobachtet wurden.

Das MTHFR-Enzym ist eine der Hauptkomponenten im Folsäurestoffwechsel. Folge einer reduzierten Aktivität des Enzyms ist eine Beeinflussung der Methioninsynthese aus Homocystein. Da eine Anreicherung von Homocystein verschiedene Krankheiten hervorrufen kann (Thrombosen, Arteriosklerose), bedeutet das Vorliegen einer genetischen Variante im MTHFR-Gen ein erhöhtes Risiko für ein Auftreten dieser Krankheiten.

Die Genotypisierung kann helfen, medikamentöse Therapien individuell zu optimieren und die durch unerwünschte Nebenwirkungen entstehenden Kosten (verlängerter Krankenhausaufenthalt etc.) zu senken bzw. das Auftreten eines genetisch bedingten Risikos für eine Hyperhomocysteinämie frühzeitig zu erkennen.

6. Prinzip des Testverfahrens

Bei der genetischen Diagnostik mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem humanen Genom amplifiziert. Die Detektion findet bei der Real-Time PCR mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen statt. Diese sind in der Regel an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das PCR-Amplifikat binden. Die Schmelzkurvenanalyse im unmittelbaren Anschluss an die PCR-Amplifikation ermöglicht die Identifizierung und Diskriminierung von Genvarianten. Da die Probenröhrchen nach dem PCR-Lauf nicht mehr geöffnet werden müssen, wird das Kontaminationsrisiko deutlich reduziert (Mackay, 2004).

7. Produktbeschreibung

Mit dem *artus* MTHFR LC PCR Kit wird humane DNA einfach, schnell und sicher auf das Vorhandensein klinisch relevanter genetischer Varianten im MTHFR-Gen untersucht. Diese Analyse ermöglicht die Abschätzung therapieinduzierter Risiken, z. B. durch die Behandlung mit Methotrexat.

Die Analyse wird anhand des Nachweises der genetischen Varianten innerhalb des MTHFR-Gens mit Hilfe des *LightCycler*[®] Instruments durchgeführt. Die Reagenzien enthalten Primer zur Amplifikation von Abschnitten des humanen MTHFR-Gens sowie fluoreszenzmarkierte Sonden zum Nachweis der genetischen Varianten an den Nukleotidpositionen nt 677C>T und nt 1298A>C. Zusätzlich wird als Kontrolle der Reaktion in gesonderten Ansätzen eine Positivkontrolle mitgeführt.

Da der Test auf der Amplifikation humaner genomischer DNA basiert, müssen Fluoreszenzsignale im Schmelzkurvenabschnitt unabhängig vom Vorliegen einer allelischen Variante zu erkennen sein. Ist dies nicht der Fall, deutet dies auf eine ineffiziente Extraktion der DNA oder eine PCR-Inhibition hin. Eine zusätzliche interne Kontrolle ist in diesem genetischen Test daher nicht nötig.

Beachte: Entscheidend für die Auswertung sind die Signale der Schmelzkurvenanalyse. Bei Anwendung des *artus* MTHFR LC PCR Kits ist eine quantitative Amplifikation während des *LightCycler*[®]-Laufes in den meisten Fällen nicht zu beobachten. Dies hat keinen Einfluss auf die Schmelzkurvenanalyse.

8. Protokoll

8.1 DNA-Isolierung

Kits zur DNA-Isolierung aus Blut werden von verschiedenen Herstellern angeboten. In Abhängigkeit vom Protokoll des gewählten Herstellers setzen Sie die angegebene Probenmenge in die Aufreinigung ein und führen die DNA-Isolierung entsprechend der Vorschrift durch. Folgender Isolierungskits wird empfohlen:

Probenmaterial	Aufreinigungskit	Katalognummer	Hersteller
Blut	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	51 104	QIAGEN

- Der *artus* MTHFR LC PCR Kit ist nicht geeignet für Aufreinigungsverfahren, die auf der Grundlage von **Phenol** arbeiten.
- Bei Aufreinigungen, die **Ethanol**-haltige Waschpuffer benutzen, stellen Sie unbedingt sicher, dass vor der Elution ein zusätzlicher Zentrifugationsschritt (drei Minuten, 13.000 Upm) zur Beseitigung von Ethanol-Rückständen durchgeführt wird. Dies verhindert mögliche PCR-Inhibitionen durch Ethanol.

8.2 Vorbereitung der PCR

Stellen Sie sicher, dass der Cooling Block mit den darin enthaltenen Adaptern (Zubehör des *LightCycler*[®] Instruments) auf +4 °C vorgekühlt ist. Setzen Sie die für die geplanten Reaktionen erforderliche Anzahl *LightCycler*[®] Kapillaren in die Adapter des Cooling Blocks. Alle Reagenzien sollten vor Testbeginn vollständig bei Raumtemperatur aufgetaut, gut durchmischt (mehrfaches Auf- und Abpipettieren oder kurzes Vortexen) und anschließend anzentrifugiert werden.

Bei jeder Anwendung ist eine in dem *artus* MTHFR LC PCR Kit enthaltene Positiv- (*MTHFR LC Control*) und Negativkontrolle (*Water, PCR grade*) zu berücksichtigen.

Zum Ansetzen der PCR-Reaktionen verwenden Sie bitte das folgende Pipettierschema (siehe auch schematische Übersicht in Abb. 1):

Ansetzen der PCR-Reaktion	Anzahl der Proben		1
	<i>MTHFR LC Master</i>		18 µl
	Probe		2 µl
	Gesamtvolumen		20 µl

Pipettieren Sie in das Plastikreservoir jeder Kapillare 18 µl des *MTHFR LC Masters*. Anschließend geben Sie 2 µl des Eluats aus der DNA-Isolierung hinzu. Entsprechend müssen als Positivkontrolle 2 µl der *MTHFR LC Control* und als Negativkontrolle 2 µl Wasser (*Water, PCR grade*) eingesetzt werden. Verschließen Sie die Kapillaren. Um den Ansatz aus dem Plastikreservoir in die Kapillare zu überführen, zentrifugieren Sie die Adapter mit den darin enthaltenen Kapillaren in einer Tischzentrifuge für zehn Sekunden bei maximal 400 x g (2.000 Upm).

Beachte: Das Aufsetzen der Deckel auf die Kapillaren sollte zur Vermeidung von Kontaminationen mit dem *LightCycler*[®] Capping Tool erfolgen.

Vorbereitung der PCR

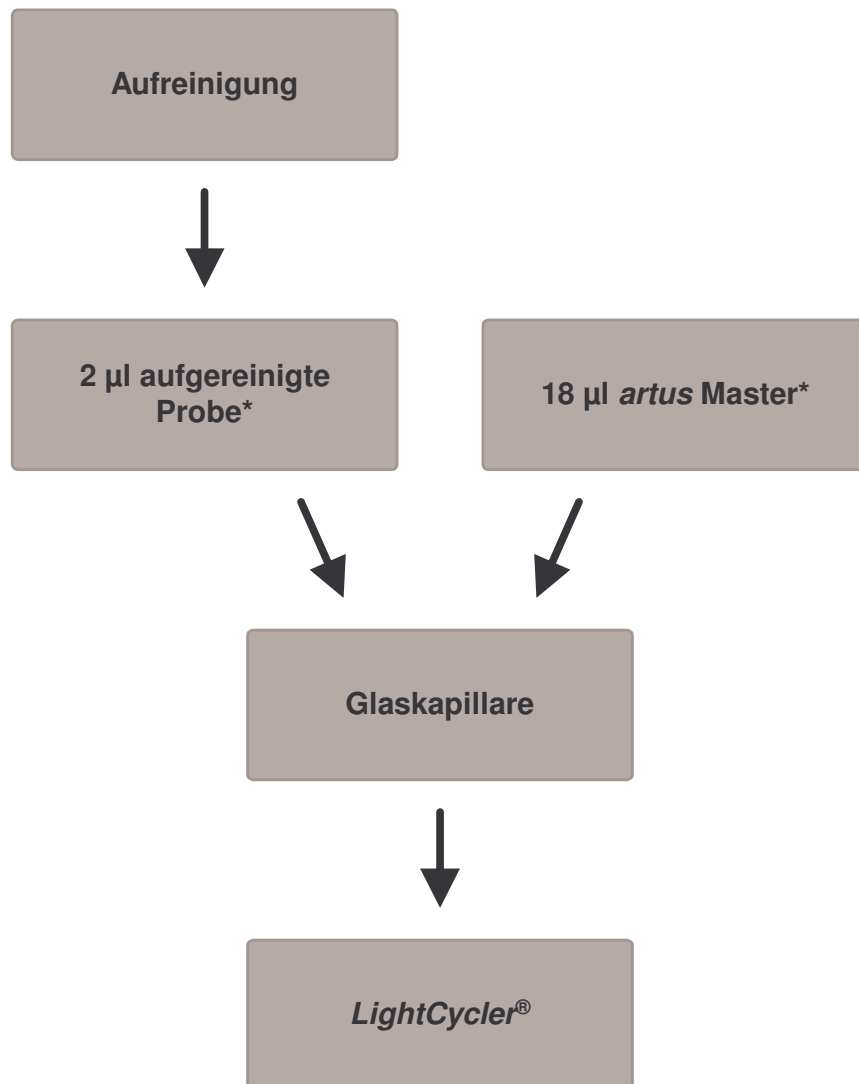


Abb. 1: Schematischer Arbeitsablauf.

* Bei jedem Pipettierschritt ist unbedingt darauf zu achten, dass die zu verwendenden Lösungen vollständig aufgetaut, gut durchmischt und kurz zentrifugiert sind.

8.3 Programmierung des *LightCycler*[®] Instruments

Zur Detektion der genetischen Varianten im MTHFR-Gen erstellen Sie auf Ihrem *LightCycler*[®] Instrument ein Temperaturprofil gemäß den folgenden fünf Arbeitsschritten (siehe Abb. 2 - 6).

- | | | |
|----|---|--------|
| A. | Initiale Aktivierung des Hot Start-Enzyms | Abb. 2 |
| B. | Touch Down-Schritt | Abb. 3 |
| C. | Amplifikation der DNA | Abb. 4 |
| D. | Schmelzkurve | Abb. 5 |
| E. | Kühlung | Abb. 6 |

Beachten Sie insbesondere die Einstellungen für *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* und *Temperature Targets*. In den Abbildungen sind diese Einstellungen durch schwarze Rahmen hervorgehoben. Hinweise zur Programmierung des *LightCycler*[®] Instruments finden Sie im *LightCycler Operator's Manual*.

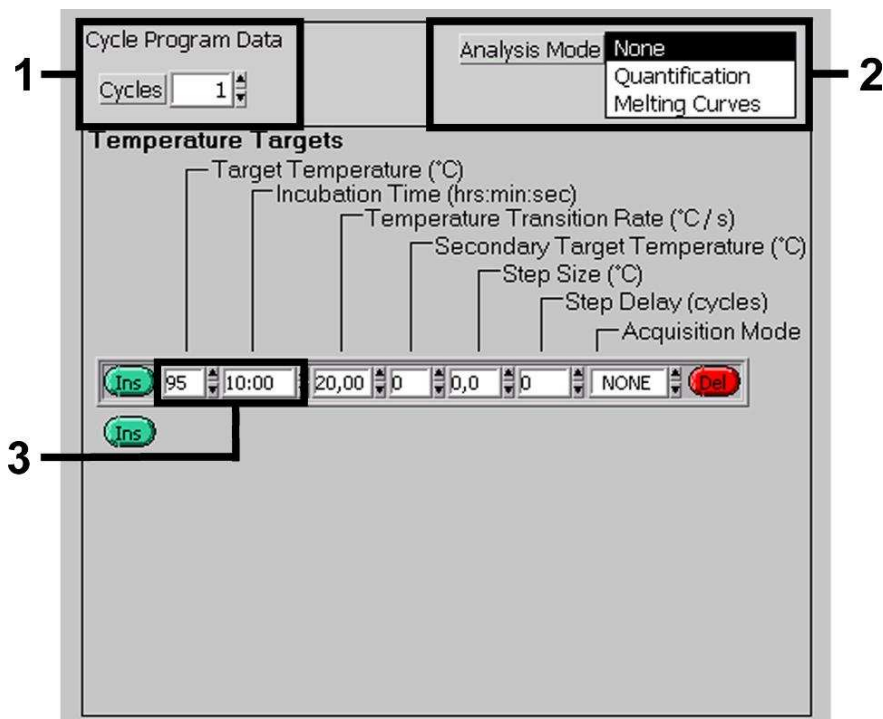


Abb. 2: Initiale Aktivierung des Hot Start-Enzyms.

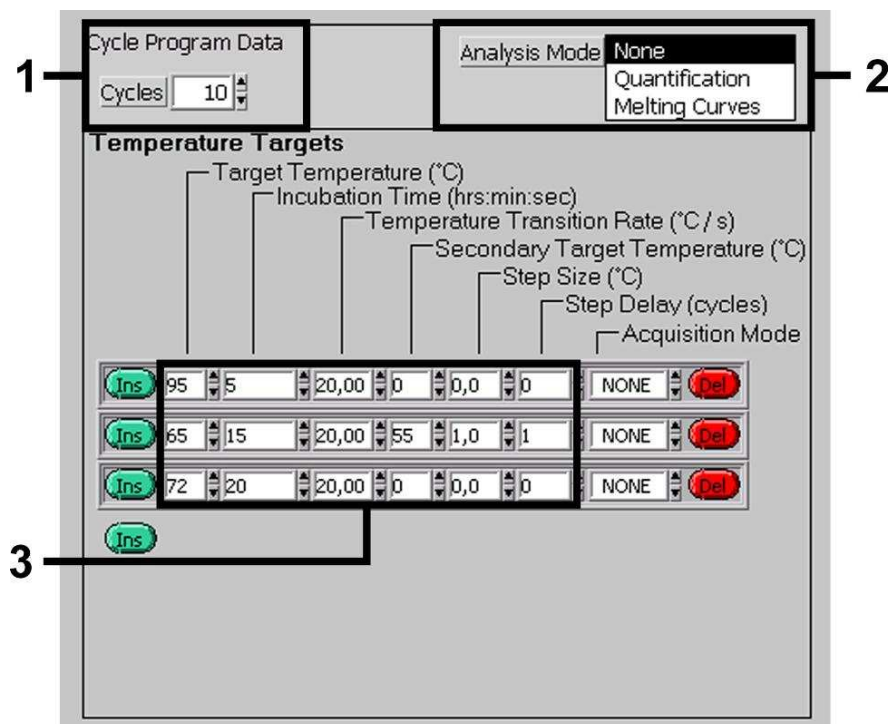


Abb. 3: Touch Down-Schritt.

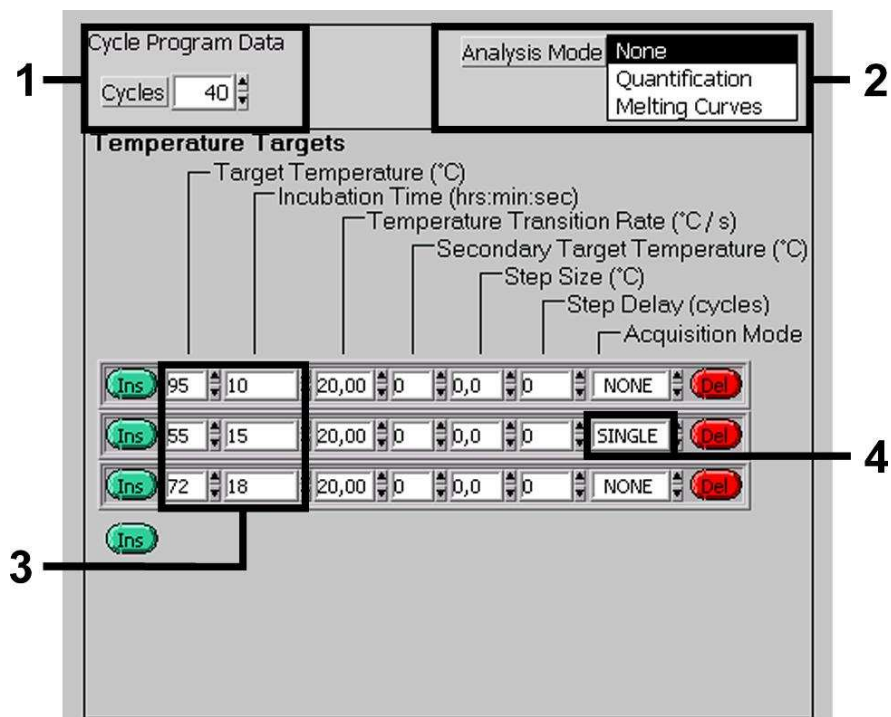


Abb. 4: Amplifikation der DNA.

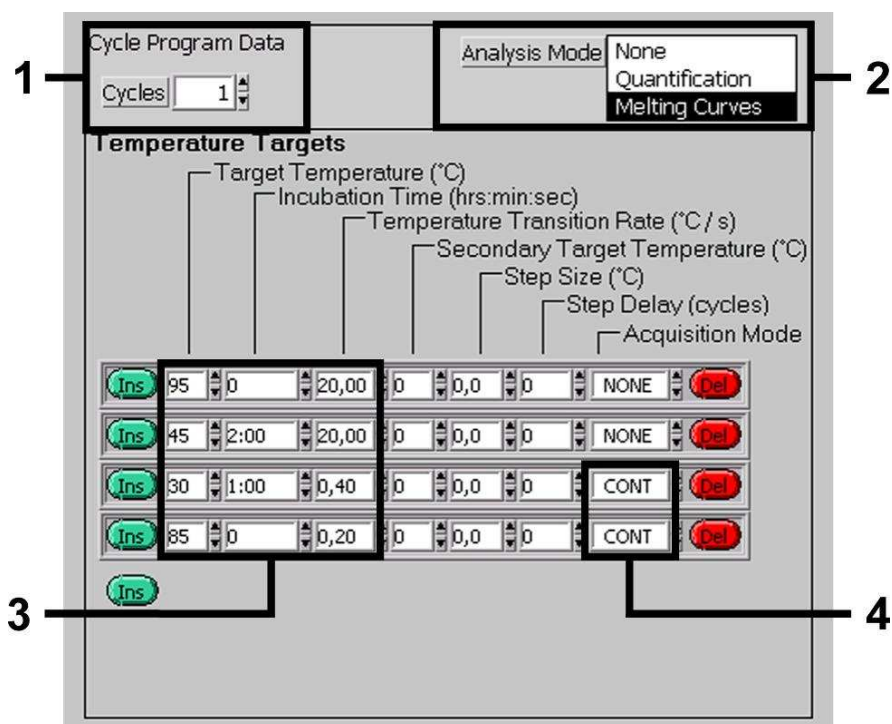


Abb. 5: Schmelzkurve.

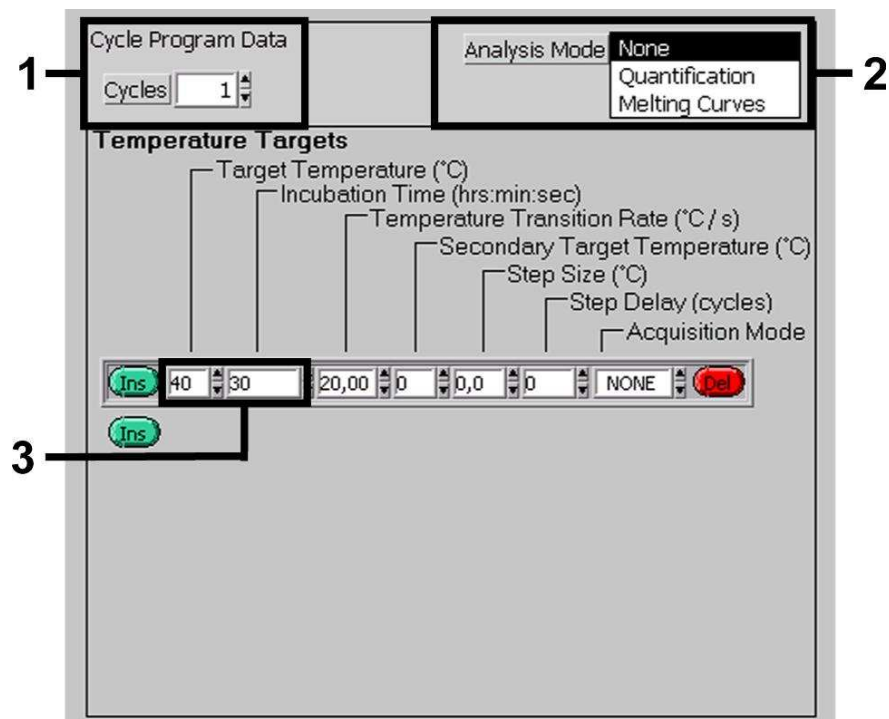


Abb. 6: Kühlung.

9. Auswertung

Bei Multicolor-Analysen treten Interferenzen zwischen den Fluorimeter-Kanälen auf. Die Software des *LightCycler*[®] Instruments enthält eine als *Color Compensation File* bezeichnete Datei, welche diese Einstrahlungen kompensiert. Diese Datei öffnen Sie vor, während oder im Anschluss des PCR-Laufs durch Aktivierung der Schaltfläche *Choose CCC File* bzw. *Select CC Data*. Sollte kein *Color Compensation File* installiert sein, erstellen Sie die Datei bitte unter Beachtung der Anleitung im *LightCycler Operator's Manual*. Nach Aktivierung des *Color Compensation File* erscheinen in den Fluorimeter-Kanälen F1, F2 und F3 getrennte Signale. Zur Analyse der PCR-Ergebnisse, die mit dem *artus* MTHFR LC PCR Kit gewonnen werden, wählen Sie bitte die Ansichtsfunktionen F2/Back-F1 und F3/Back-F1 für die MTHFR-PCR. Bei Anwendung des *artus* MTHFR LC PCR Kits ist eine quantitative Amplifikation während des *LightCycler*[®]-Laufes in den meisten Fällen nicht zu beobachten.

Die Komponenten des *artus* MTHFR LC PCR Kits dienen dem Nachweis von zwei genetischen Varianten (Wildtyp = wt; Variante = var) an den Nukleotidpositionen nt 677 und nt 1298 im MTHFR-Gen. Die Bestimmung der genetischen Varianten erfolgt mit Hilfe des Programms *Melting Curve*. Im Fluorogramm weisen die Schmelzpunkte bei den in nachfolgender Tabelle (siehe Tab. 1) aufgeführten Temperaturen auf das Vorliegen des Wildtyps bzw. der genetischen Variante hin. Bei Heterozygotie erscheint die Kurve zweigipflig.

Tab. 1: Schmelzpunkte des Wildtyps (wt) bzw. der genetischen Varianten (var).

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

Bitte beachten Sie, dass die Schmelzpunkte um $\pm 2^\circ\text{C}$ von der angegebenen Temperatur abweichen können. Zur besseren Darstellung des Fluorogramms empfiehlt es sich in vielen Fällen den *Digital Filter* auszuschalten.

Die folgenden Abbildungen (siehe Abb. 7 und 8) zeigen die Fluorogramme des Nachweises der Polymorphismen an den Nukleotidpositionen nt 677 und nt 1298 in homozygoter Wildtypform, sowie in der heterozygot bzw. homozygot veränderten Form.

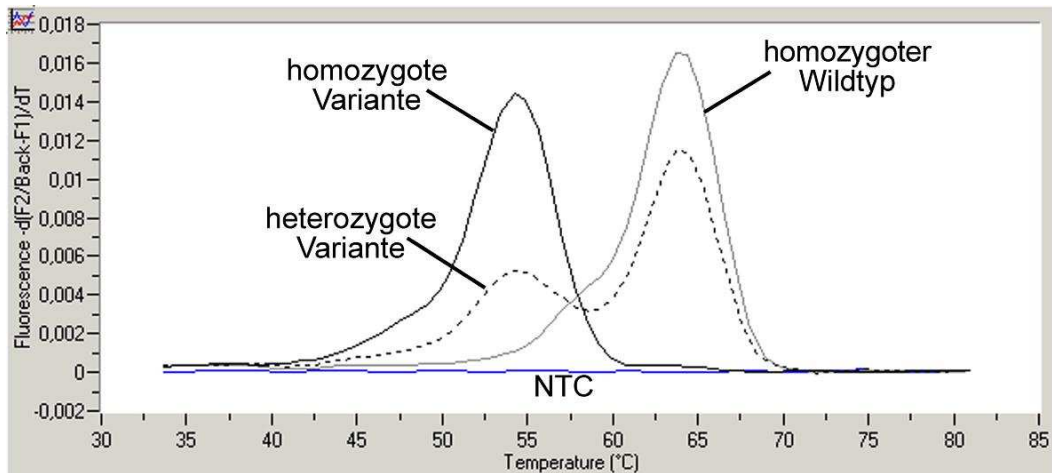


Abb. 7: Fluorogramm zum Nachweis des Nukleotidaustausches nt 677 mit Hilfe des *artus* MTHFR LC PCR Kits im Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1. NTC: non-template control (Negativkontrolle).

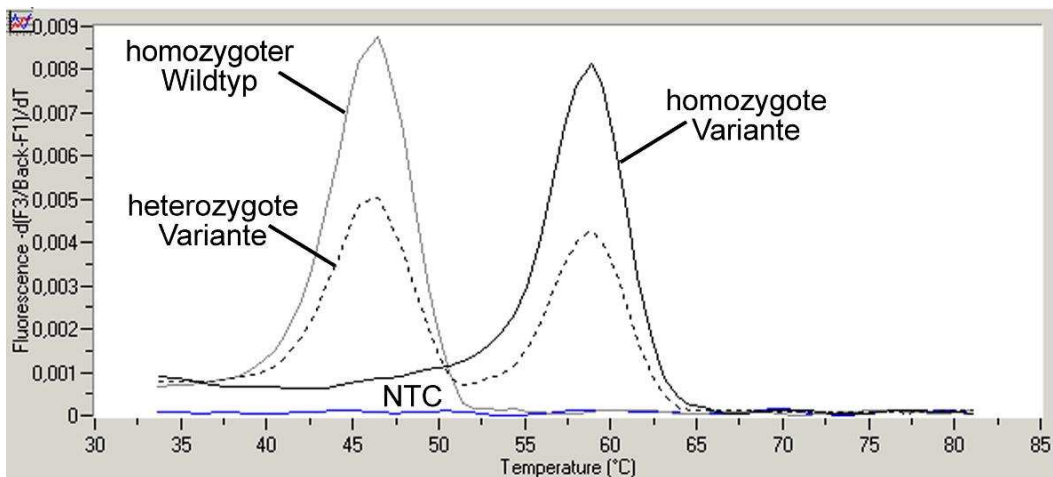


Abb. 8: Fluorogramm zum Nachweis des Nukleotidaustausches nt 1298 mit Hilfe des *artus* MTHFR LC PCR Kits im Fluorimeter-Kanal F3/Back-F1. NTC: non-template control (Negativkontrolle).

Die Bestimmung des Genotyps ist durch die Kombination der allelischen Varianten möglich. Dabei ist zu beachten, dass bei Vorliegen von zwei heterozygoten Varianten diese auf einem Allel gemeinsam als auch auf zwei Allelen liegen können. Bislang ist kein Fall in der Literatur beschrieben, der über das gekoppelte Vorliegen beider genetischer Varianten in homozygoter Form berichtet. In jedem Fall kann bei Vorliegen wenigstens einer genetischen Variante eine Reduktion der MTHFR-Enzymaktivität erwartet werden.

Eine normale Enzymaktivität ist bei Trägern zweier Wildtypallele zu erwarten, vorausgesetzt, es beeinflussen keine anderen nicht-genetischen Faktoren die Enzymaktivität. Eine eingeschränkte Enzymaktivität ist bei Trägern mindestens eines genetisch veränderten Allels zu erwarten (MTHFR wt677/var677, wt1298/var1298). Sind beide Allele betroffen, steigt das Risiko einer genetisch bedingten Nebenwirkung.

Aus den vorab beschriebenen Allelen resultieren verschiedene mögliche Genotypen. Diese sind in nachfolgender Tabelle (siehe Tab. 2) aufgelistet.

Tab. 2: Einfluss des Genotyps auf die Enzymaktivität.

Homozygoter Wildtyp-Genotyp	Heterozygoter Varianten-Genotyp	Homozygoter Varianten-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	
normale Enzymaktivität	reduzierte Enzymaktivität	

Die mit dem *artus* MTHFR LC PCR Kit gelieferte Positivkontrolle (*MTHFR LC Control*) weist den heterozygoten Allel-Zustand auf (siehe Abb. 7 und 8).

10. Troubleshooting

Kein Signal bei der Positivkontrolle (*MTHFR LC Control*) oder den Proben im Fluorimeter-Kanal F2/Back-F1 bzw. F3/Back-F1:

- Die Programmierung des Temperaturprofils des *LightCycler*[®] Instruments ist fehlerhaft.
 - Vergleichen Sie das Temperaturprofil mit den Protokollangaben (siehe **8.3 Programmierung des *LightCycler*[®] Instruments**).
- Fehlerhaftes Zusammenstellen der PCR-Reaktion.
 - Überprüfen Sie Ihre Arbeitsschritte mit Hilfe des Pipettierschemas (siehe **8.2 Vorbereitung der PCR**) und wiederholen Sie ggf. die PCR.
- Die Lagerungsbedingungen für eine oder mehrere Kit-Komponenten entsprachen nicht den in **2. Lagerung** angeführten Vorschriften oder das Haltbarkeitsdatum des *artus MTHFR LC PCR Kits* wurde überschritten.
 - Bitte überprüfen Sie sowohl Lagerungsbedingungen als auch Haltbarkeitsdatum (siehe Kit-Etikett) der Reagenzien und verwenden Sie ggf. einen neuen Kit.
- Die PCR wurde inhibiert.
 - Stellen Sie sicher, dass Sie ein von uns empfohlenes Aufreinigungsverfahren benutzen (siehe **8.1 DNA-Isolierung**) und halten Sie sich exakt an die Herstellervorschrift.
 - Vergewissern Sie sich, dass bei der DNA-Aufreinigung der zusätzliche empfohlene Zentrifugationsschritt zur vollständigen Entfernung von Ethanol-Resten vor der Elution durchgeführt wurde (siehe **8.1 DNA-Isolierung**).
- Es liegen aufreinigungsbedingte DNA-Verluste vor.
 - Stellen Sie sicher, dass Sie ein von uns empfohlenes Aufreinigungsverfahren anwenden (siehe **8.1 DNA-Isolierung**) und halten Sie sich an die Herstellervorschrift.

Schwacher Fluoreszenz-Peak

- Mischen Sie die Komponenten gründlich vor deren Verwendung.
- Prüfen Sie die Amplifikationsbedingungen.

- Kühlen Sie den Cooling Block mit den darin enthaltenen Adaptern auf etwa +4°C vor.
- Kühlen Sie alle Reagenzienbestandteile während des Pipettierens.

Sollten weitere Fragen oder Probleme auftreten, kontaktieren Sie bitte unseren Technischen Service.

11. Spezifikationen

11.1 Analytische Sensitivität

Der *artus* MTHFR LC PCR Kit dient dem Nachweis der individuellen genetischen Konstitution hinsichtlich der genetischen Varianten nt 677 und nt 1298 im humanen MTHFR-Gen mit Hilfe der *LightCycler*[®]-Technologie. Humane genomische DNA wurde aus Blutproben aufgereinigt, spektralphotometrisch quantifiziert und in seriellen Verdünnungsstufen verdünnt. Ein Minimum von 0,12 ng genomischer DNA (20 Kopien) pro PCR (entspricht 0,005 - 0,02 µl Blut, je nach Blutspender und Aufreinigung) reicht für die Detektion der genetischen Varianten aus.

11.2 Analytische Spezifität

Die Spezifität des *artus* MTHFR LC PCR Kits wird in erster Linie durch die Auswahl der Primer und Sonden sowie die Wahl stringenter Reaktionsbedingungen gewährleistet. Die Primer und Sonden sind anhand einer Sequenzvergleichs-Analyse auf eventuelle Homologien zu allen in Genbanken publizierten Sequenzen überprüft worden. Ferner wurde die Spezifität zum Nachweis dieses genetischen Polymorphismus durch Sequenzierung der einzelnen Allelvarianten und anschließendem Sequenzvergleich in internationalen Datenbanken sichergestellt.

11.3 Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Anhand von 300 DNA-Proben wurde unter Verwendung der Kitbestandteile die Frequenz der Polymorphismen in der kaukasischen Population, wie in Botto & Yang (2000) angegeben, bestätigt.

12. Besondere Hinweise zum Produkt-Gebrauch

- Alle Reagenzien dürfen ausschließlich zur In-vitro-Diagnostik verwendet werden.
- Die Anwendung sollte durch Personal erfolgen, das speziell in In-vitro-Diagnostika-Verfahren (EN375) unterrichtet und ausgebildet wurde.
- Die genaue Einhaltung des Protokolls ist unbedingt erforderlich, um optimale PCR-Ergebnisse zu erreichen.
- Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Abgelaufene Reagenzien sind nicht zu benutzen.

13. Sicherheitsinformationen

Sicherheitsinformationen zum *artus* MTHFR LC PCR Kit können Sie dem entsprechenden Materialsicherheits-Datenblatt entnehmen (material safety data sheet, MSDS). Dieses finden Sie als kompakte und anwenderfreundliche PDF-Datei unter www.qiagen.com/support/msds.aspx.

14. Qualitätskontrolle

In Übereinstimmung mit dem ISO 9001 und ISO 13485-zertifizierten Qualitäts-Management-System von QIAGEN wurde jede Charge des *artus* MTHFR LC PCR Kits gegen vorgegebene Spezifikationen getestet, um eine einheitliche Produktqualität zu gewährleisten.

15. Literatur

- (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. Erklärung der Symbole



Verwendbar bis



Chargenbezeichnung



Hersteller



Bestellnummer



Materialnummer



Handbuch



In-vitro-diagnostisches Medizinprodukt



Inhalt reicht für <N> Tests



Zulässiger Temperaturbereich

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)

1046979DE 127132193



Sample & Assay Technologies