

artus[®] TPMT LC PCR Kit

Manuál



24 (Katalogové čís. 4622063)

In vitro diagnostikum pro kvalitativní stanovení

Pro použití s přístrojem *LightCycler*[®]

Duben 2007 – Verze 1



4622063



1046980CS



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

MAT

1046980CS

artus TPMT 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 TPMT 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 termocyklem, jehož použití při automatizovaném provedení PCR je kryto předem splatným licenčním poplatkem, který se odvádí buď platbou společnosti Applied Biosystems nebo koupí autorizovaného termocyklu. Technologie PCR je chráněna národními patentními právy ekvivalentními k USA patentům čís. 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.....	5
4. Všeobecná preventivní opatření.....	5
5. Obecné údaje	6
6. Princip testu.....	6
7. Popis produktu	7
8. Protokol.....	8
8.1 Izolace DNA	8
8.2 Příprava PCR	8
8.3 Programování přístroje <i>LightCycler</i> [®]	11
9. Vyhodnocení	14
10. Řešení problémů.....	19
11. Specifikace.....	20
11.1 Analytická senzitivita	20
11.2 Analytická specifická	20
11.3 Diagnostická senzitivita a specifická	20
12. Zvláštní pokyny pro použití produktu	21
13. Bezpečnostní informace	21
14. Kontrola kvality.....	21
15. Literatura.....	22
16. Vysvětlení symbolů	23

artus[®] TPMT LC PCR Kit*

Pro použití s přístrojem *LightCycler*[®].

1. Obsah

	Označení a obsah	Kat. čís. 4622063 24 reakcí
Modrá	<i>TPMT LC Master A</i>	2 x 12 rxns
Modrá	<i>TPMT LC Master B</i>	2 x 12 rxns
Žlutá	<i>TPMT LC Mg-Sol[†]</i>	1 x 400 µl
Červená	<i>TPMT LC Control Aw</i>	1 x 200 µl
Červená	<i>TPMT LC Control Av</i>	1 x 200 µl
Červená	<i>TPMT LC Control B</i>	1 x 200 µl
Bílá	<i>Water (PCR grade)</i>	1 x 1 000 µl

[†] *Mg-Sol* = *Roztok hořčíku*

2. Skladování

Komponenty *artus* TPMT 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.

* TPMT = Thiopurin S-metyltransferáza

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

4. Všeobecná preventivní opatření

Uživatel by měl dbát na následující:

- Analyzujte v jednom PCR běhu **maximálně dvanáct vzorků**. Paralelní analýza více než dvanácti vzorků může vést k technicky podmíněnému netypickému průběhu křivky tání heterozygotní varianty nt 238.
- 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 nevykazují žádnou resp. jen velmi redukovanou aktivitu enzymu thiopurin S-metyltransferázy (TPMT), mají při léčbě 6-thioguaninem, 6-mercaptopurinem nebo azathioprinem zvýšené riziko výskytu vážných vedlejších účinků (1 – 3, např. hematologická toxicita, hepatotoxicita). Analýza genu TPMT umožňuje odhad geneticky podmíněného rizika vážných vedlejších účinků. Nosiči genetické varianty genu TPMT mohou být takto před začátkem terapie rozpoznáni a popř. léčeni alternativní metodou nebo výrazně nižší dávkou.

Enzymatická aktivita thiopurinu S-metyltransferázy je určena mj. změnami v TPMT genu. Genetické modifikace mohou např. způsobit výměnu aminokyselin. Tímto změněná konformace enzymu má vliv na aktivitu enzymu. Nejčastější genetické varianty genu TPMT postihují nukleotidy (nt) 238, 460 a 719. V literatuře jsou popsány další genetické varianty, které jsou ovšem jen velmi vzácné popř. byly v populaci pozorovány jen jednou. Asi 10 % bělošské populace má asi o 75 % redukovanou aktivitu TPMT, cca 0,3 % nevykazuje žádnou měřitelnou aktivitu. Srovnávací výzkumy genotypů a fenotypů zjistily korelaci o 87 % mezi genotypem a enzymatickou aktivitou.

Genotypizace může pomoci individuálně optimalizovat medikamentózní terapie. Analýza genu TPMT je vhodná především při léčbě nádorových onemocnění pomocí thiopurinu, léčbě chronických zánětlivých střevních onemocnění nebo po transplantaci, a může omezit riziko a snížit náklady nežádoucích účinků (delší pobyt v nemocnici ap.).

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

Analýza se provádí s pomocí přístroje *LightCycler*[®] na základě průkazu genetických variant v TPMT genu. Reagencie obsahují primery k amplifikaci úseku lidského TPMT genu a také fluorescenčně značené sondy k průkazu genetických variant na nukleotidových pozicích nt 238 v exonu 5, nt 460 v exonu 7 a nt 719 v exonu 10. Dodatečně se v oddělené reakci provádí pozitivní kontroly A (*Aw/Av*) a B.

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* TPMT LC PCR Kit pozorovat kvantitativní amplifikaci. To však nemá žádný 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 odstraní zbytky etanolu. Předejdete tak možným inhibicím PCR.
- *artus* TPMT LC PCR Kit není vhodný pro izolace na bázi **fenolu**.

8.2 Příprava PCR

Upozornění: Analyzujte v jednom PCR běhu **maximálně dvanáct vzorků**. Paralelní analýza více než dvanácti vzorků může vést k technicky podmíněnému netypickému průběhu křivky tání heterozygotní varianty nt 238.

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 plánovanou reakci. 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 (*TPMT LC Control Aw*, *TPMT LC Control Av* a *TPMT LC Control B*) a jedna negativní kontrola (*Water*, *PCR grade*).

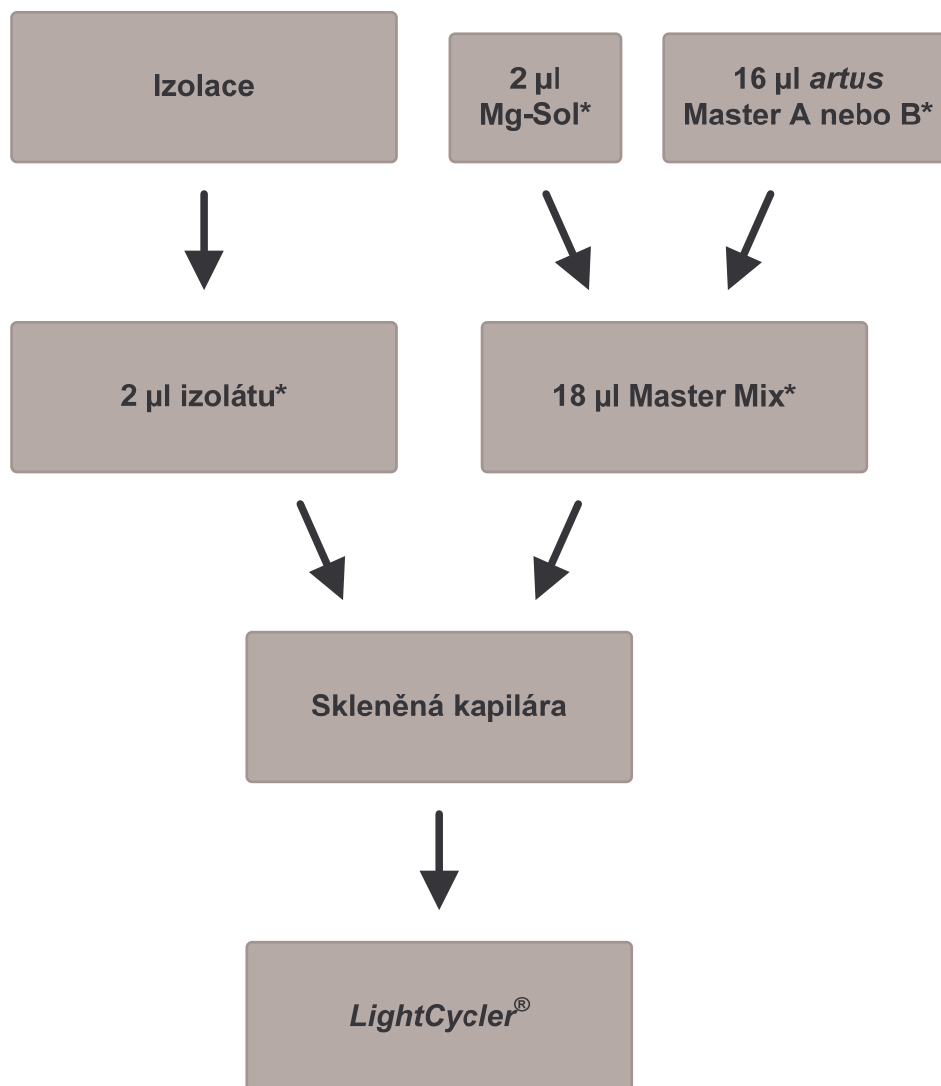
Při přípravě PCR reakcí použijte následující schéma pipetování (viz také schématický přehled na Obr. 1):

	Počet vzorků	1
1. Příprava Master Mixu	<i>TPMT LC Master A</i> nebo <i>TPMT LC Master B</i>	16 µl
	<i>TPMT LC Mg-Sol</i>	2 µl
	celkový objem	18 µl
2. Příprava PCR-reakce	Master Mix	18 µl
	vzorek	2 µl
	celkový objem	20 µl

Do plastického zásobníku každé kapiláry pipetujte 18 µl Master Mixu. Následně přidejte 2 µl eluátu z izolace DNA. Podobně musíte přidat jako pozitivní kontrolu 2 µl *TPMT LC Control A (Aw/Av)* nebo *TPMT LC Control B* 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.

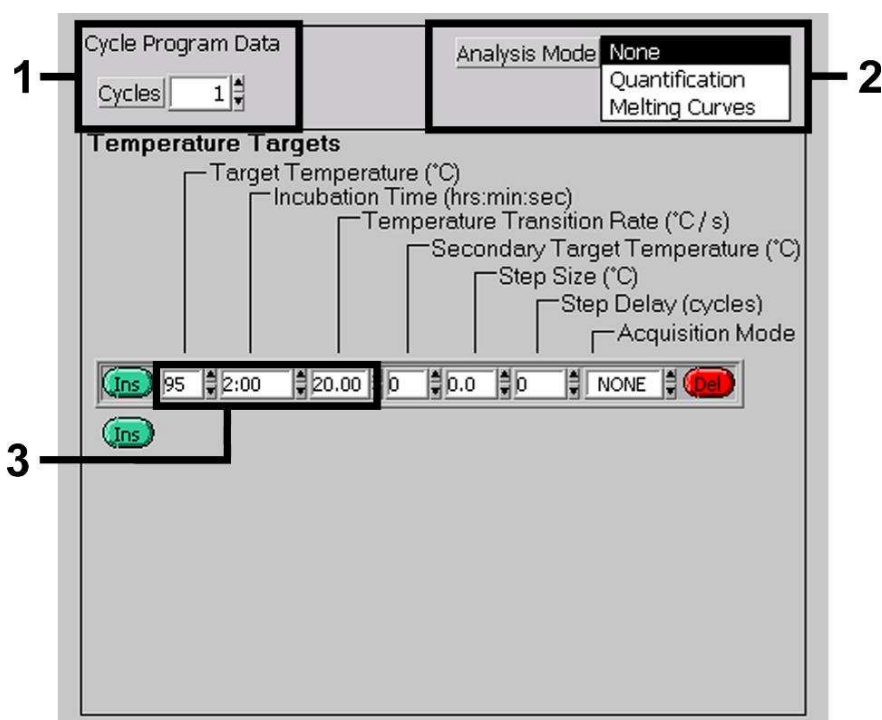
* Při každém pipetovacím kroku je třeba bezpodmínečně dbát na to, aby byly používané roztoky dokonale roztáté, řádně promíchané a krátce centrifugované.

8.3 Programování přístroje *LightCycler*[®]

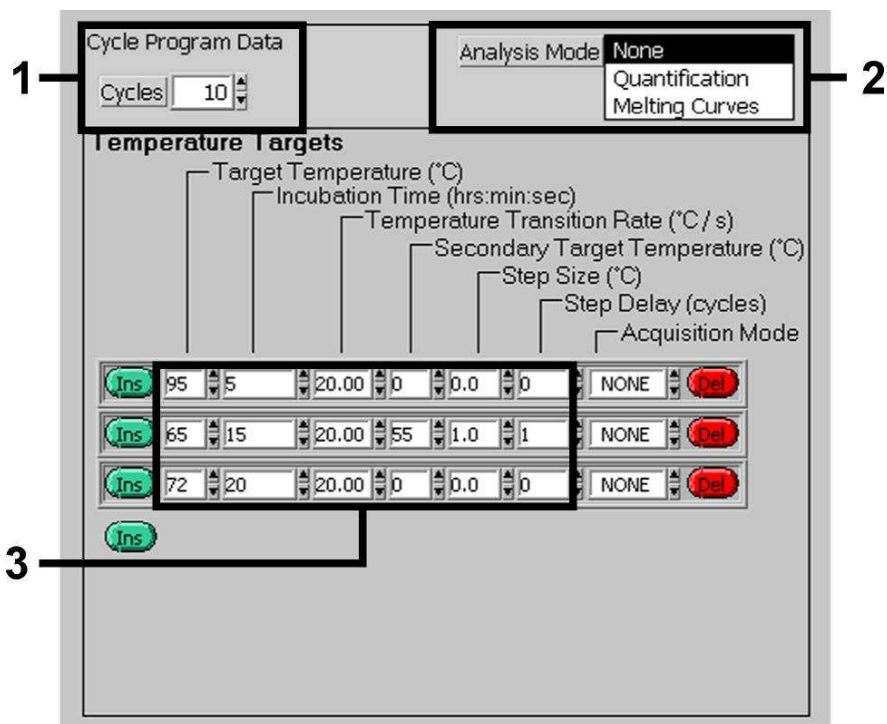
Pro detekci genetických variant v TPMT genu vytvořte na přístroji *LightCycler*[®] teplotní profil následujícími pěti pracovními kroky (viz Obr. 2 - 6):

- | | | |
|----|-------------------------------------|--------|
| 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 |

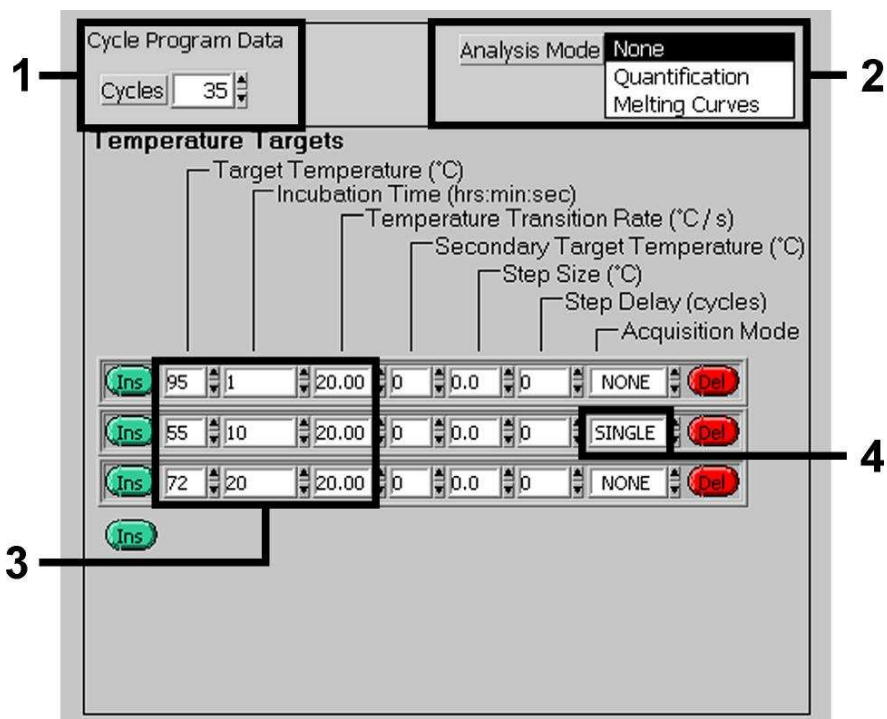
Dbejte zvláště na nastavení *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* a *Temperature Targets*. Na obrázcích jsou tato nastavení zvýrazněna černými rámečky. Pokyny pro programování přístroje *LightCycler*[®] naleznete v příručce *LightCycler Operator's Manual*.



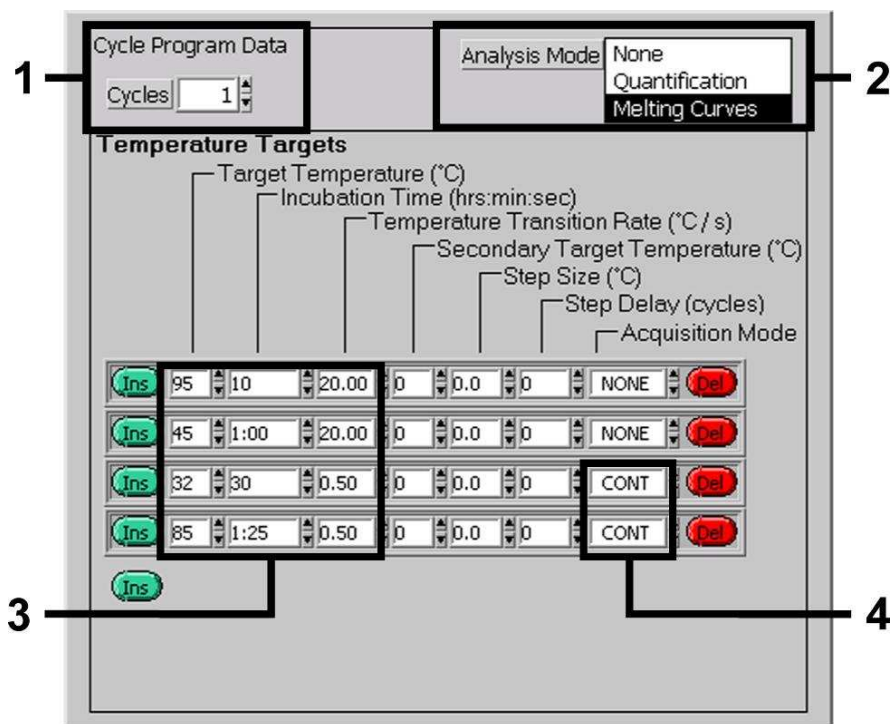
Obr. 2: Počáteční aktivace Hot Start enzymu.



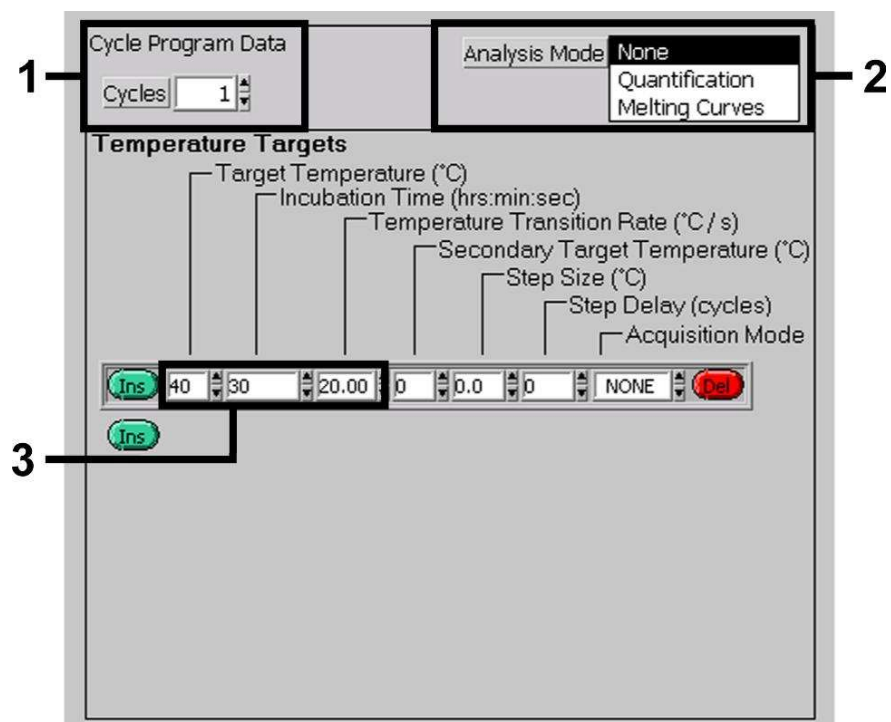
Obr. 3: Krok "Touch Down".



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* TPMT LC PCR Kit, zvolte prosím pohledovou funkci F2/Back-F1 a F3/Back-F1 pro TPMT PCR. Při použití *artus* TPMT LC PCR Kit nelze ve většině případů během běhu přístroje *LightCycler*[®] pozorovat kvantitativní amplifikace.

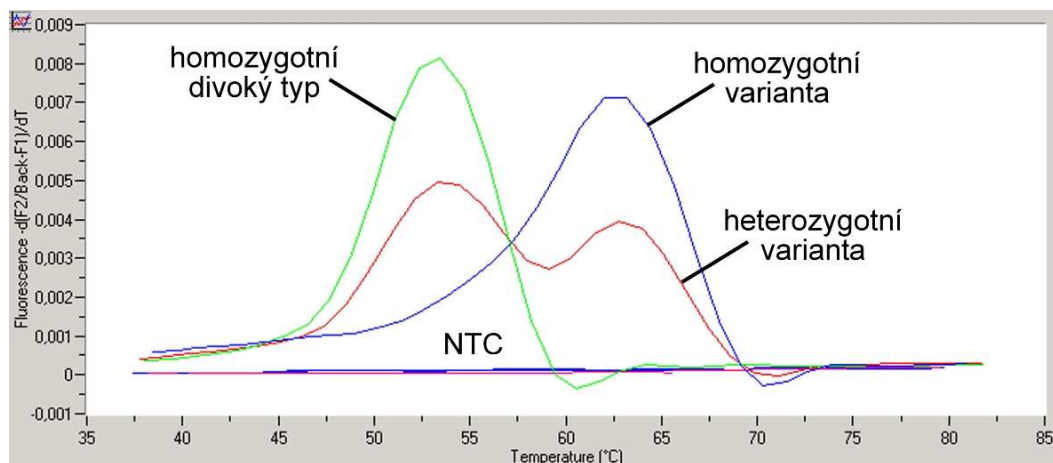
Komponenty soupravy *artus* TPMT LC PCR Kit slouží k průkazu genetických variant (divoký typ = wt; varianta = var) na nukleotidových pozicích (nt) 238, 460 a 719 v TPMT genu. Určení genetických variant probíhá pomocí programu *Melting Curve*. V analýze křivek tání poukazují body tání u teplot uvedených 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).

Master	Kanál F2			Kanál F3		
	nt	wt	var	nt	wt	var
A	238	54 °C	64 °C	-	-	-
B	460	57 °C	47 °C	719	42 °C	54 °C

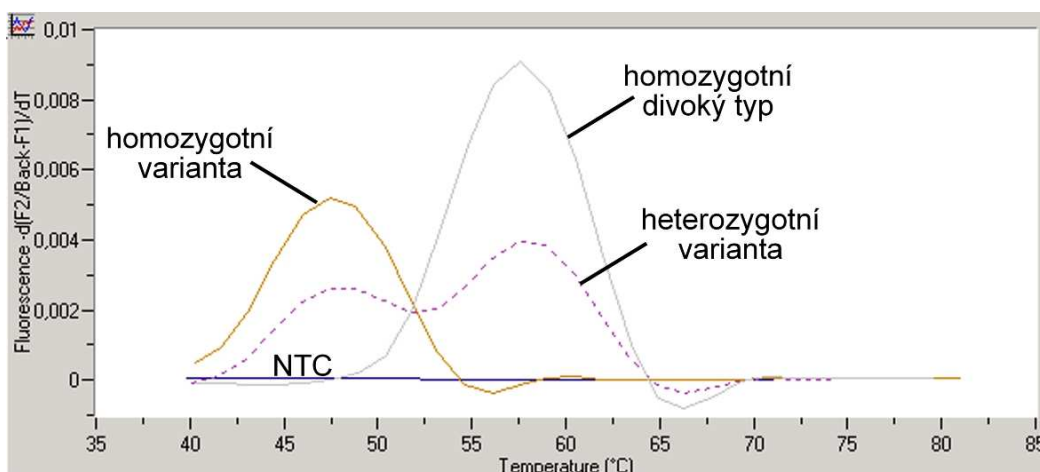
Prosím povšimněte si, že se body tání mohou od uvedených teplot odlišovat o $\pm 2^\circ\text{C}$. V mnoha případech se k lepšímu zobrazení analýzy křivek tání doporučuje vypnout *Digital Filter*.

Následující vyobrazení (viz Obr. 7 a 9) zobrazují analýzu křivek tání průkazu polymorfismů na nukleotidových pozicích nt 238, nt 460 a nt 719 v homozygotní formě divokého typu, a také v heterozygotní popř. homozygotní modifikované formě. Pozitivní kontroly (*TPMT LC Control A* (*Aw/Av*) a *B*) dodávané se soupravou *artus TPMT LC PCR Kit* vykazují heterozygotní stav genetické varianty.

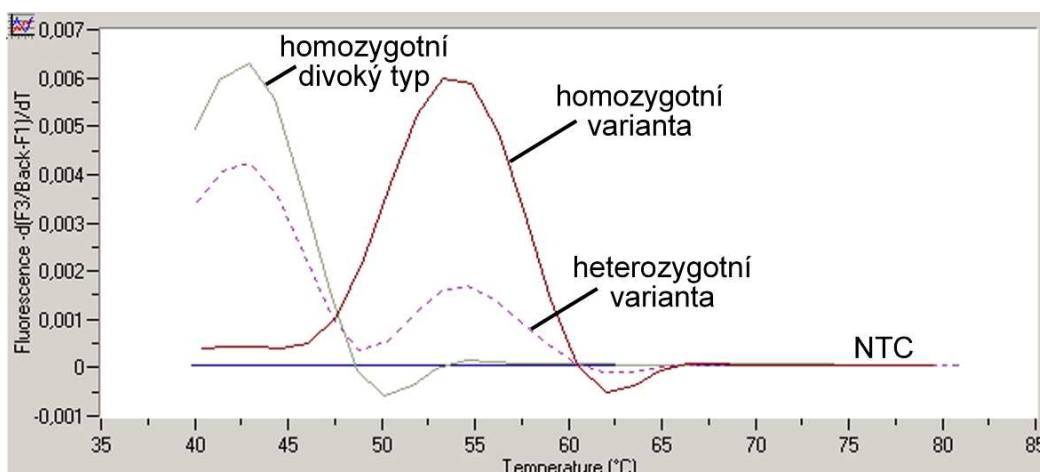


Obr. 7: Analýza křivek tání k průkazu nukleotidové výměny nt 238 pomocí *artus TPMT LC PCR Kit (Master A)* ve fluorimetrickém kanálu F2/Back-F1. NTC: non-template control (negativní kontrola).

Upozornění: Analyzujte v jednom PCR běhu **maximálně dvanáct vzorků**. Paralelní analýza více než dvanácti vzorků může vést k technicky podmíněnému netypickému průběhu křivky tání heterozygotní varianty nt 238.



Obr. 8: Analýza křivek tání k průkazu nukleotidové výměny nt 460 pomocí *artus* TPMT LC PCR Kit (**Master B**) ve fluorimetrickém kanálu F2/Back-F1. NTC: non-template control (negativní kontrola).



Obr. 9: Analýza křivek tání k průkazu nukleotidové výměny nt 719 pomocí *artus* TPMT LC PCR Kit (**Master B**) ve fluorimetrickém kanálu F3/Back-F1. NTC: non-template control (negativní kontrola).

Určení genotypu je možné díky kombinaci alelických variant (viz Tabulka 2). Přitom se musí dbát na to, že v případě přítomnosti dvou heterozygotních variant mohou být tyto lokalizovány buďto na jedné nebo na dvou alelách. V každém případě lze při přítomnosti nejméně jedné genetické varianty očekávat redukci enzymatické aktivity TPMT.

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. Například výskyt heterozygoty na pozicích nt 460 a nt 719 může vést jak ke genotypu TPMT*3A/*1, tak TPMT*3B/*3C. Jsou-li postiženy obě alely, stoupá riziko geneticky podmíněných vedlejších účinků. Pomocí *artus* TPMT LC PCR Kit jsou prověřovány nukleotidové varianty na třech různých pozicích v TPMT genu, což umožňuje průkaz alel TPMT*1, TPMT*2, TPMT*3A, TPMT*3B a TPMT*3C.

Tabulka 2: Genetické varianty v TPMT genu.

Alely	nt 238 F2	nt 460 F2	nt 719 F3	Enzymatická aktivita
TPMT*1				normální
TPMT*2	x			snížená
TPMT*3A		x	x	žádná aktivita
TPMT*3B		x		snížená
TPMT*3C			x	snížená

Výše popsané alely resultují v různých možných genotypech. Tyto jsou uvedeny v následující tabulce (viz Tabulka 3).

Tabulka 3: Vliv genotypu na enzymatickou aktivitu.

Homozygotní genotyp divokého typu	Heterozygotní nebo homozygotní genotyp varianty	Homozygotní genotyp varianty
TPMT*1/*1	TPMT*1/*2	TPMT*3A/*3A
	TPMT*1/*3A	
	TPMT*1/*3B	
	TPMT*1/*3C	
	TPMT*2/*2	
	TPMT*2/*3A	
	TPMT*2/*3B	
	TPMT*2/*3C	
	TPMT*3A/*3B	
	TPMT*3A/*3C	
	TPMT*3B/*3B	
	TPMT*3B/*3C	
	TPMT*3C/*3C	
normální enzymatická aktivita	redukováná enzymatická aktivita	žádná enzymatická aktivita

10. Řešení problémů

Žádný signál při pozitivní kontrole (TPMT LC Control Aw, Av nebo B) 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* TPMT 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.

Žádný signál při TPMT LC Master A ve fluorimetrickém kanálu F3/Back-F1

TPMT LC Master A generuje jen jeden signál ve fluorimetrickém kanálu F2/Back-F1.

Netypický průběh křivky tání při průkazu nukleotidové výměny nt 238 ve fluorimetrickém kanálu F2/Back-F1

- Bylo analyzováno více než dvanáct vzorků paralelně.

Slabé maximum fluorescence

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

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

11. Specifikace

11.1 Analytická senzitivita

artus TPMT LC PCR Kit slouží za pomoci technologie *LightCycler*[®] k průkazu individuální genetické konstituce vzhledem ke genetickým variantám nt 238, nt 460 a nt 719 v lidském genu TPMT. 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 specifita

Specifita *artus* TPMT 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 specifita k průkazu těchto genetických polymorfismů zajištěna sekvencováním jednotlivých alelických variant a následným sekvenčním srovnáním v mezinárodních genových bankách.

11.3 Diagnostická senzitivita a specifita

Frekvence polymorfismu v europoidní populaci, jak byla popsána v literatuře, 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* TPMT 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* TPMT LC PCR Kit testována podle předem stanovených specifikací, aby byla zaručena jednotná kvalita produktu.

15. Literatura

- (1) Andersen JB, Szumlanski C, Weinshilboum RM, Schmiegelow K. Pharmacokinetics, dose adjustments, and 6-mercaptopurine/methotrexate drug interactions in two patients with thiopurine methyltransferase deficiency. *Acta Paediatr.* 1998 Jan; 87 (1): 108 - 11.
- (2) Krynetski EY, Schuetz JD, Galpin AJ, Pui CH, Relling MV, Evans WE. A single point mutation leading to loss of catalytic activity in human thiopurine S-methyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995 Feb 14; 92 (4): 949 - 53.
- (3) Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10 (3): 190 - 212.
- (4) Schwab M, Schaffeler E, Marx C, Fischer C, Lang T, Behrens C, Gregor M, Eichelbaum M, Zanger UM, Kaskas BA. Azathioprine therapy and adverse drug reactions in patients with inflammatory bowel disease: impact of thiopurine S-methyltransferase polymorphism. *Pharmacogenetics.* 2002 Aug; 12 (6): 429 - 36.

16. Vysvětlení symbolů



Použitelné do



Číslo šarže



Výrobce



Katalogové číslo



Číslo materiálu



Manuál

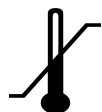


Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro



<N>

Obsah postačující pro <N> testů



Teplotní rozmezí

Mg-Sol

Roztok hořčíku

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)

1046980CS 127132194