

# artus<sup>®</sup> MTHFR LC PCR Kit

## Håndbog



24 (katalog nr. 4621063)



96 (katalog nr. 4621065)

Kvalitativ in vitro diagnostik

Til anvendelse med *LightCycler*<sup>®</sup> Instrument

Juni 2007 – version 1



4621063, 4621065



1046979DA



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

**MAT**

1046979DA

*artus* MTHFR LC PCR Kit

Mærker og ansvarsfraskrivelse

QIAGEN<sup>®</sup>, QIAamp<sup>®</sup>, *artus*<sup>®</sup> (QIAGEN Group); *LightCycler*<sup>®</sup> (Roche Diagnostics).

Registrerede navn, varemærker, osv. i dette dokument kan ikke betragtes som juridisk ubeskyttede, selvom de mangler en tilsvarende kendetegnelse.

*artus* MTHFR LC PCR Kit er et CE-mærket diagnostisk kit i overensstemmelse med den europæiske retningslinje 98/79/EF om in vitro-diagnostik. Kan ikke fås i alle lande..

QIAamp Kits er til almindelig laboratoriebrug. Produktangivelserne eller fremstillingerne er ikke bestemt til at levere information om diagnose, prævention eller behandling af en sygdom.

Købet af *artus* PCR Kits indeholder en begrænset licens for deres anvendelse til gennemførelsen af polymerase-kædereaktion-proceduren (PCR) i den humane og veterinære in vitro-diagnostik i forbindelse med en thermocycler, hvis anvendelse i en automatisk gennemført PCR er dækket ved en forudbetalt licensgebyr, som enten betales til Applied Biosystems eller betales ved køb af en autoriseret thermocycler. PCR-proceduren er beskyttet gennem tilsvarende nationale beskyttelsesrettigheder af U.S.-patenterne med numrene 5,219,727 og 5,322,770 og 5,210,015 og 5,176,995 og 6,040,166 og 6,197,563 og 5,994,056 og 6,171,785 og 5,487,972 und 5,804,375 og 5,407,800 og 5,310,652 og 5,994,056 egendom af F. Hoffmann-La Roche Ltd.

© 2007 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdt.

## Indholdsfortegnelse

<b>1. Indhold.....</b>	<b>4</b>
<b>2. Opbevaring.....</b>	<b>4</b>
<b>3. Nødvendige ekstra-materialer og instrumenter .....</b>	<b>4</b>
<b>4. Almindelige sikkerhedsregler .....</b>	<b>5</b>
<b>5. Baggrundsinformationer .....</b>	<b>5</b>
<b>6. Princip for testproceduren .....</b>	<b>6</b>
<b>7. Produktbeskrivelse.....</b>	<b>6</b>
<b>8. Protokol .....</b>	<b>7</b>
8.1 DNA-isolering .....	7
8.2 Forberedelse af PCR.....	8
8.3 Programmering af <i>LightCycler</i> <sup>®</sup> instrumentet .....	10
<b>9. Analyse.....</b>	<b>13</b>
<b>10. Fejlkilder .....</b>	<b>16</b>
<b>11. Specifikationer .....</b>	<b>17</b>
11.1 Analytisk sensitivitet .....	17
11.2 Specificitet .....	17
11.3 Diagnostisk sensitivitet og specificitet .....	17
<b>12. Særlige anvisninger til brug af produktet .....</b>	<b>18</b>
<b>13. Sikkerhedsinformationer.....</b>	<b>18</b>
<b>14. Kvalitetskontrol.....</b>	<b>18</b>
<b>15. Litteratur .....</b>	<b>18</b>
<b>16. Symbolforklaring .....</b>	<b>20</b>

# artus<sup>®</sup> MTHFR LC PCR Kit\*

Til anvendelse med *LightCycler*<sup>®</sup> instrumentet.

## 1. Indhold

	Påskrift og indhold	Art. Nr. 4621063 24 reaktioner	Art. Nr. 4621065 96 reaktioner
<b>Blå</b>	<i>MTHFR LC Master</i>	2 x 12 reaktioner	8 x 12 reaktioner
<b>Rød</b>	<i>MTHFR LC Control</i>	1 x 200 µl	1 x 200 µl
<b>Hvid</b>	<i>Water (PCR grade)</i>	1 x 1.000 µl	1 x 1.000 µl

## 2. Opbevaring

*artus* MTHFR LC PCR Kit opbevares ved -20°C og er holdbart indtil datoen, der er angivet på etiketten. Gentagen optøning og nedfrysning (> 2 x) bør undgås, da sensitiviteten derved forringes. Ved uregelmæssig brug skal reagenserne derfor aliquoteres. Hvis det er nødvendigt at opbevare kittet ved +4°C, må dette tidsrum ikke vare længere end fem timer.

## 3. Nødvendige ekstra-materialer og instrumenter

- Pudderfri engangs laboratoriehandsker
- DNA-isoleringskit (se **8.1 DNA-isolering**)
- Pipetter (justerbare)
- Sterile pipettespidser med filter
- Vortex-mixer
- Bordcentrifuge med rotor til 2 ml-reaktionsbeholdere
- *Color Compensation Set* (Roche Diagnostics, kat.-nr. 2 158 850) til oprettelse af en *Crosstalk Color Compensation*-fil
- *LightCycler*<sup>®</sup> Kapillarer
- *LightCycler*<sup>®</sup> Cooling Block
- *LightCycler*<sup>®</sup> Instrument

---

\* MTHFR = methylenetetrahydrofolat-reduktase

- *LightCycler*<sup>®</sup> Capping Tool

## 4. Almindelige sikkerhedsregler

Følgende anvisninger skal altid overholdes af brugeren:

- Brug sterile pipettespidser med filter.
- Positivt materiale (prøver, kontroller, amplifikater) skal opbevares, oprenses og tilsættes reaktionsblandingen i et separat rum, adskilt fra de øvrige reagenser.
- Optø alle komponenter fuldstændigt ved stuetemperatur, inden testen startes.
- Bland komponenterne grundigt, og centrifuger kort.
- Der bør arbejdes hurtigt på is eller i *LightCycler*<sup>®</sup> Cooling Block.

## 5. Baggrundsinformationer

Ved siden af påvirkninger som alder, køn, ernæring og en interaktion mellem forskellige lægemidler, har hovedsageligt genetiske faktorer indflydelse på enzymaktiviteten. Det er kendt, at patienter som opviser en genetisk betinget, forandret aktivitet af enzymet methylenetetrahydrofolat-reduktase (MTHFR), har en øget risiko for udvikling af bivirkninger (f.eks. alvorlige forandringer i blodbilledet, mucositis, hyperhomocysteinæmi) under behandling med methotrexat. Methotrexat er en folinsyreantagonist og anvendes bl.a. til behandling af reumatoid arthritis og tumorsygdomme. Undersøgelsen af MTHFR-genet tillader vurderingen af den genetisk betingede risiko for behandlingsinducerede bivirkninger. Før personer begynder med en terapi kan bestemmes, om de er genetiske bærere af MTHFR-genet, og i givet fald behandles alternativt eller med tydelig reduceret dosis.

En enzymaktivitet af methylenetetrahydrofolat-reduktase bestemmes bl.a. af forandringer i MTHFR-genet. Genetiske forandringer kan f.eks. forårsage en aminosyreudskiftning. Enzymets derfor forandrede konformation har udvirkninger på enzymaktiviteten. De hyppigste genetiske varianter i MTHFR-genet vedkommer nukleotiderne nt 677 og nt 1298. I litteraturen findes

beskrivelser af flere genetiske varianter som dog kun sjældent blev iagtaget eller kun blev iagtaget én gang i én population.

MTHFR-enzymet er en af hovedkomponenterne i folinsyrestofskiftet. En indflydelse på methioninsyntesen af homocystein er resultatet af en reduceret enzymaktivitet. En stigende koncentration af homocystein kan forårsage forskellige sygdomme (tromboser, arteriosklerose). Det betyder, at tilstedeværelsen af en genetisk variant i MTHFR-genet forårsager en forhøjet risiko for optræden af disse sygdomme.

Genotypering kan hjælpe at optimere individuel medicinsk behandling. Derudover kan den hjælpe at reducere udgifter, der opstår p.g.a. uønskede bivirkninger (forlænget sygehusophold m.m.) hhv. tideligt at erkende, om der består en genetisk betinget risiko for en hyperhomocysteinæmi.

## 6. Princip for testproceduren

Ved genetisk diagnostik ved hjælp af polymerase kædereaktion (eng. Polymerase Chain Reaction = PCR) bliver specifikke områder af smitstofgenomet amplificeret. Detektion foregår ved Real-Time PCR ved hjælp af fluorescensfarver. Disse er som regel koblet til oligonukleotid-prober, som binder sig specifikt til PCR-amplifikatet. Smeltekurveanalysen, der foretages direkte efter PCR-amplifikationen, gør det muligt at identificere og diskriminere genvarianter. Fordi det ikke er nødvendigt at åbne prøverørene efter PCR-kørslen, reduceres tydeligt risikoen for en kontamination (Mackay, 2004).

## 7. Produktbeskrivelse

Med *artus* MTHFR LC PCR Kit undersøges den humane DNA simpelt, hurtigt og sikkert for tilstedeværelse af klinisk relevante genetiske varianter i MTHFR-genet. Analysen gør det muligt at vurdere behandlingsinducerede risici, f.eks. gennem behandling med methotrexat.

Analysen gennemføres ved hjælp af *LightCycler*<sup>®</sup> instrumentet idet genetiske varianter af MTHFR-genet påvises. Reagenserne indeholder primere for amplifikationen af sekvenser af det humane MTHFR-gen og fluorescens-

markerede prober til påvisning af de genetiske varianter på nukleotidpositionerne nt 667C>T og nt 1298A>C. Derudover indsættes, til kontrol af reaktionen, en positiv kontrol i separate opsætninger.

Testen baserer sig på amplifikation af human genomisk DNA. Derfor skal fluorescenssignaler i smeltekurveafsnittet være erkendelige, uafhængigt af tilstedeværelsen af allel-varianter. Hvis dette ikke er tilfældet, tyder det på en ineffektiv DNA-oprensning eller på en PCR-inhibition. Derfor er en ekstra intern kontrol i denne genetiske test ikke nødvendig.

**Bemærk:** Signalerne fra smeltekurveanalysen er afgørende betydning for analysen. Ved anvendelsen af *artus* MTHFR LC PCR Kit behøves i de fleste tilfælde ikke observeres en kvantitativ amplifikation under *LightCycler*<sup>®</sup> kørslen. Den har ingen indflydelse på smeltekurveanalysen.

## 8. Protokol

### 8.1 DNA-isolering

Kits til DNA-isolering af blod tilbydes af forskellige producenter. Prøvevolumener til DNA-isoleringsproceduren afhænger af den benyttede protokol. Tilsæt den anbefalede prøvemængde til oprensningen og udfør DNA-isoleringen efter producentens forskrift. Det følgende isoleringskit anbefales:

Prøve-materiale	Oprensningskit	Katalognummer	Producent
blod	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	51 104	QIAGEN

- *artus* MTHFR LC PCR Kit er ikke egnet til opremsningskørsler, som arbejder på basis af phenol.
- Bruger man en opremsningsprotokol med **ethanolholdige** vaskebuffer, anbefales det, at man udfører et ekstra centrifugeringstrin (tre minutter, 13.000 rpm) før elueringen, for at fjerne ethanolrester. Dette forhindrer eventuelle PCR-inhibitioner.

## 8.2 Forberedelse af PCR

Sørg for, at Cooling Block med de tilhørende adaptere (tilbehør til *LightCycler*<sup>®</sup> instrumentet) er kølet ned til +4°C. Sæt det nødvendige antal *LightCycler*<sup>®</sup> kapillarer til de planlagte reaktioner ind i adapterne til Cooling Block'en. Alle reagenser skal optøes fuldstændigt ved stuetemperatur, blandes godt (gentagen pipettering eller kort vortexen) og centrifugeres kort.

For hver anvendelse bør der indsættes hver én i *artus* MTHFR LC PCR Kit indeholdt positiv (*MTHFR LC Control*) og negativ kontrol (*Water, PCR grade*).

Til opsætning af PCR-reaktionerne anvendes vendligst det følgende pipetteringsskema (se også den skematiske oversigt i Fig. 1):

	<b>Antal prøver</b>	<b>1</b>
<b>Opsætning af PCR-reaktion</b>	<i>MTHFR LC Master</i>	18 µl
	Prøve	2 µl
	<b>Samlet volumen</b>	<b>20 µl</b>

Pipettér i hvert af kapillarenes plasticreservoirs 18 µl af *MTHFR LC Master*. Derefter tilsættes 2 µl af eluatet fra DNA-isoleringen. Tilsvarende skal der som positiv kontrol anvendes 2 µl af *MTHFR LC Control*, og som negativ kontrol tilsættes 2 µl vand (*Water, PCR grade*). Luk kapillarerne. For at overføre opsætningen fra plasticreservoirret til kapillarerne, centrifugeres adapterne med kapillarerne i en bordcentrifuge i ti sekunder ved maksimalt 400 x g (2.000 rpm).

**Bemærk:** For at undgå en kontamination med *LightCycler*<sup>®</sup> Capping Tool, bør lågene sættes på kapillarerne.



## Forberedelse af PCR

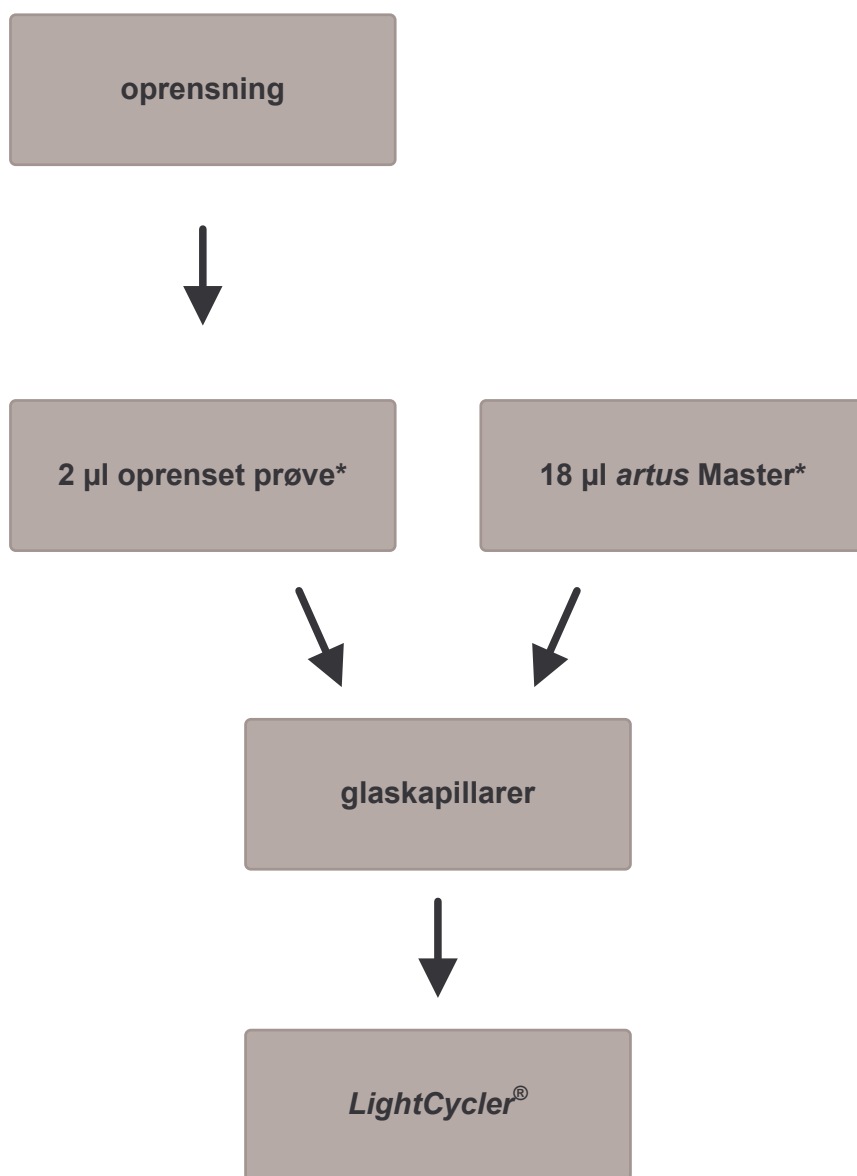


Fig. 1: Skematisk arbejdsforløb.

\*Det er yderst vigtigt at sørge for, at de anvendte opløsninger er fuldstændigt optøet, blandet godt og centrifugeret kort.

### 8.3 Programmering af *LightCycler*<sup>®</sup> instrumentet

Til detektion af de genetiske varianter i MTHFR-genet udarbejdes på *LightCycler*<sup>®</sup>-instrumentet en temperaturprofil i henhold til de følgende fem arbejdsstrin (se Fig. 2 - Fig. 6).

- |    |  |        |
|----|--|--------|
| A. | Initial aktiviering af Hot Start-enzymet | Fig. 2 |
| B. | Touch Down trin                          | Fig. 3 |
| C. | Amplifikation af DNA                     | Fig. 4 |
| D. | Smeltekurve                              | Fig. 5 |
| E. | Køling                                   | Fig. 6 |

Læg især mærke til indstillingerne for *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* og *Temperature Targets*. Af hensyn til overskueligheden er indstillingerne, der skal foretages, fremhævet med sorte rammer i figurerne. Anvisninger til programmering af *LightCycler*<sup>®</sup> instrumentet kan findes i *LightCycler Operator's Manual*.

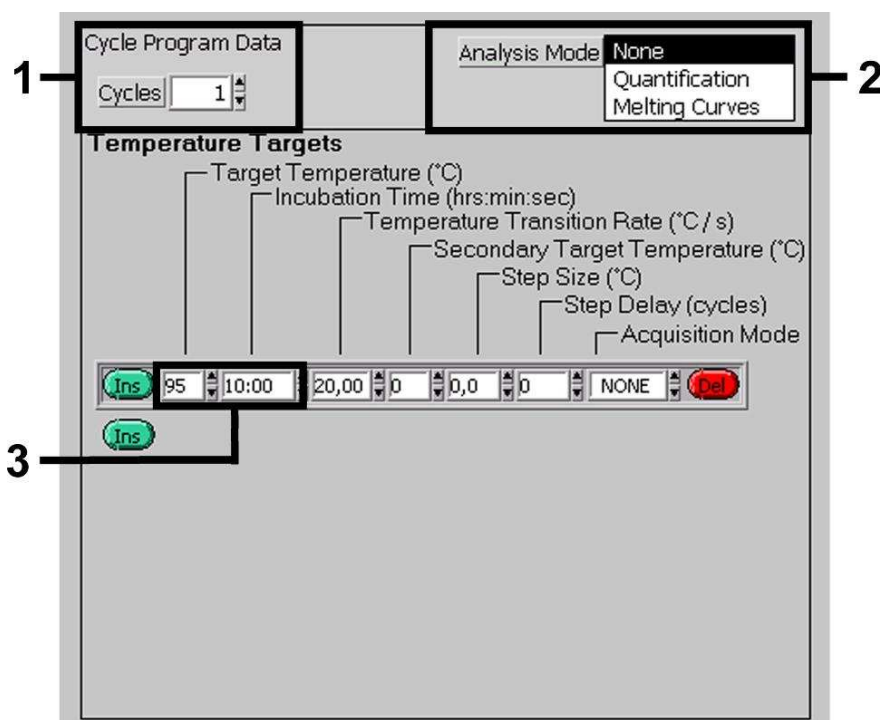


Fig. 2: Initial aktiviering af Hot Start-enzymet.

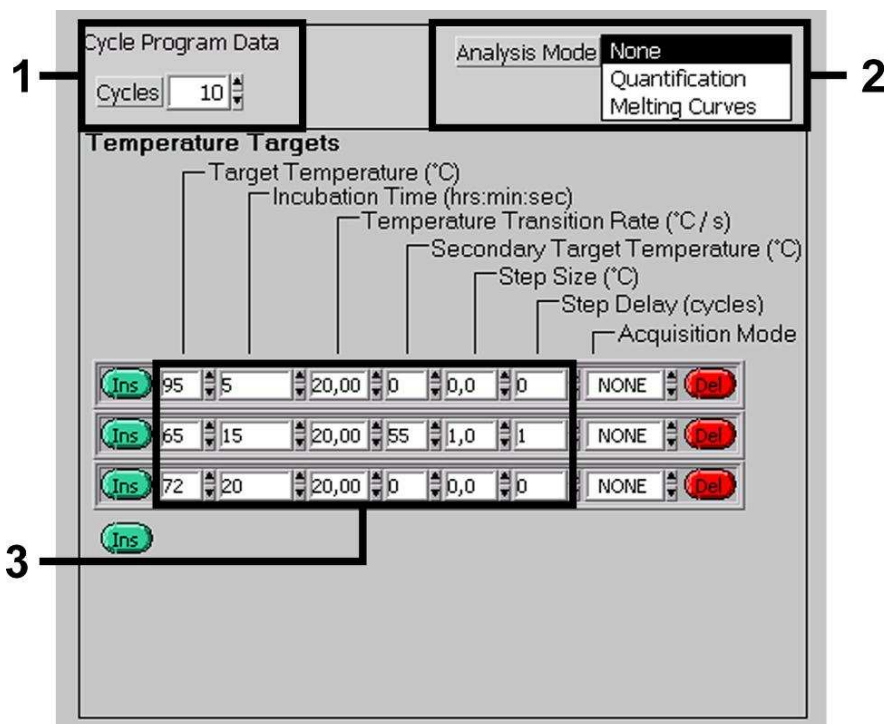


Fig. 3: Touch Down trin.

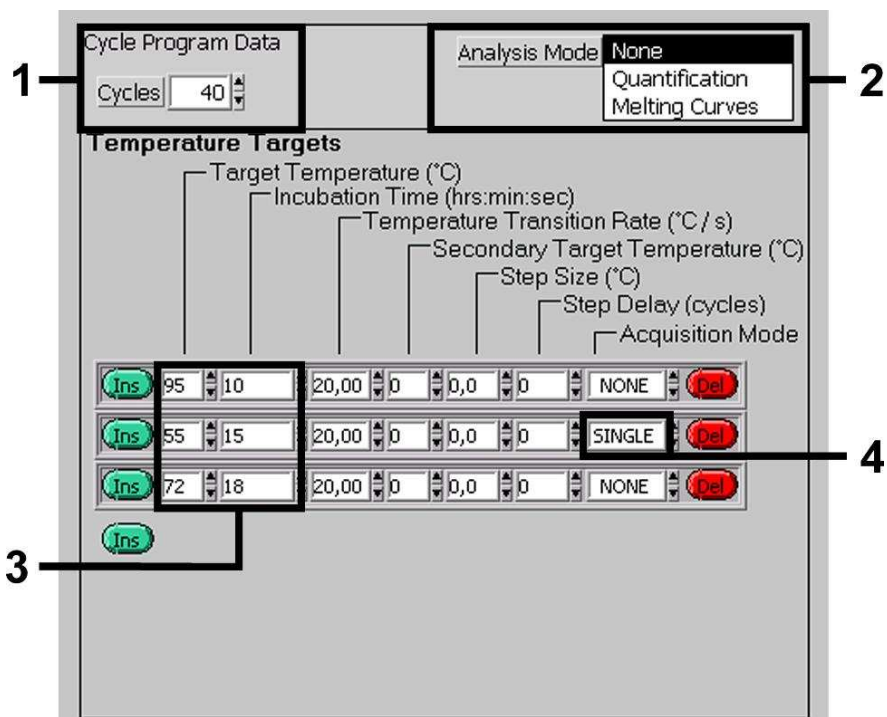


Fig. 4: Amplifikation af DNA.

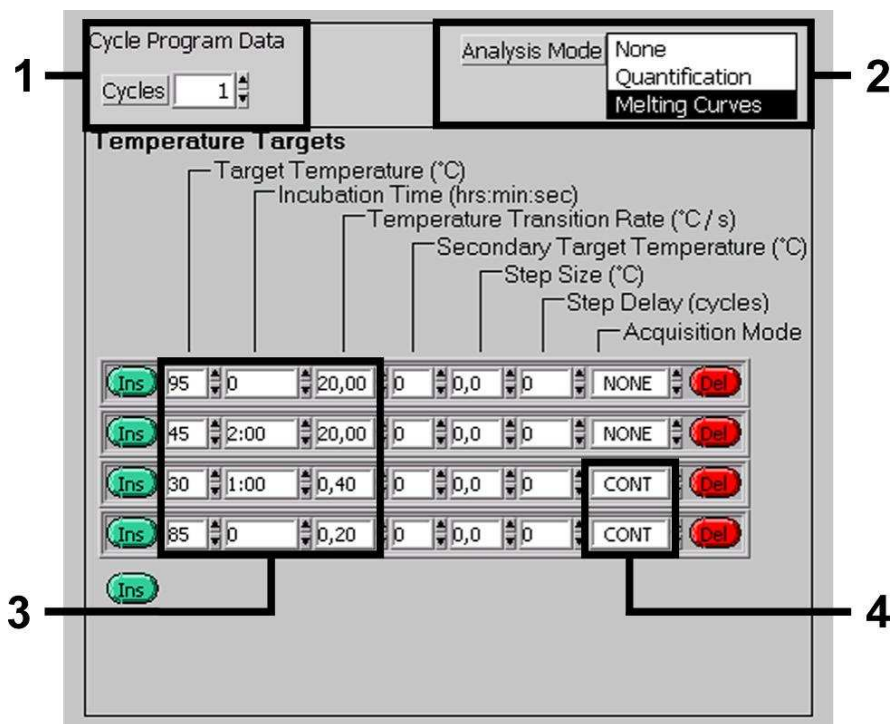


Fig. 5: Smeltekurve.

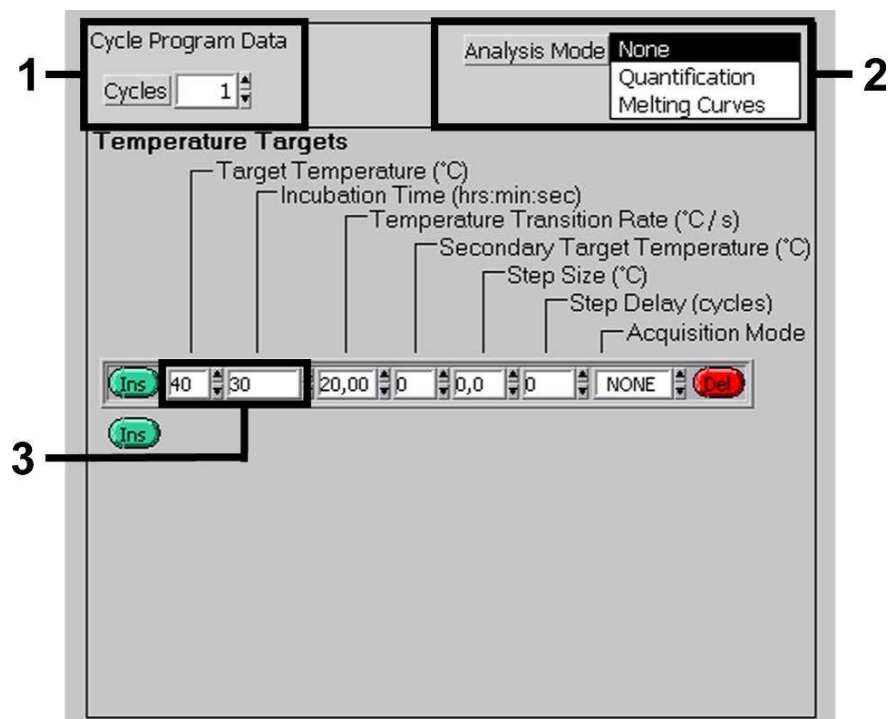


Fig. 6: Køling.

## 9. Analyse

Ved multifarve-analyser optræder interferenser mellem fluorescens-kanalerne. Softwaren til *LightCycler*<sup>®</sup> instrumentet indeholder en fil med betegnelsen *Color Compensation File*, som kompenserer for disse interferenser. Åbn denne fil før, under eller lige efter PCR-kørslen ved aktivering af *Choose CCC File* eller *Select CC Data*. Hvis der ikke er installeret en *Color Compensation File*, udarbejdes den ifølge anvisningerne i *LightCycler Operator's Manual*. Efter aktiveringen af *Color Compensation File* fremkommer separate signaler i fluorescenskanalerne F1, F2 og F3. Til analysen af PCR-resultaterne, der indhentes med *artus* MTHFR LC PCR Kit, vælges visningsfunktionerne F2/Back-F1 og F3/Back-F1 til den analytiske MTHFR-PCR. Når *artus* MTHFR LC PCR Kit anvendes, kan der i de fleste tilfælde ikke observeres en kvantitativ amplifikation under *LightCycler*<sup>®</sup>-kørslen.

Komponenterne af *artus* MTHFR LC PCR Kit bruges til påvisning af to genetiske varianter (vildtype: wt; variant = var) i nukleotidpositionerne nt 677 og nt 1298 i MTHFR-genet. Bestemmelsen af de genetiske varianter gennemføres ved hjælp af programmet *Melting Curve*. Smeltepunkterne i grafikken tyder på tilstedeværelsen af enten vildtypen eller de genetiske varianter ved hjælp af temperaturer, der er oplyst i den følgende tabel (se Tabel 1). I tilfældet af heterozygoti fremkommer en totoppet kurve i smeltekurveanalysen.

Tabel 1: Smeltepunkt af vildtypen (wt) og af de genetiske varianter (var).

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

Bemærk venligst at de som smeltepunkter angivne temperaturer kan variere  $\pm 2^\circ\text{C}$ . I mange tilfælde anbefales det, at slukke den *Digital Filter*, for en bedre fremstilling af smeltekurveanalysen.

De følgende figurer (se Fig. 7 og 8) viser smeltekurveanalyserne til detektion af polymorfismer i nukleotidpositionerne nt 677 og nt 1298 i homozygot vildtype-form, såvel som i heterozygot hhv. homozygot forandret form.

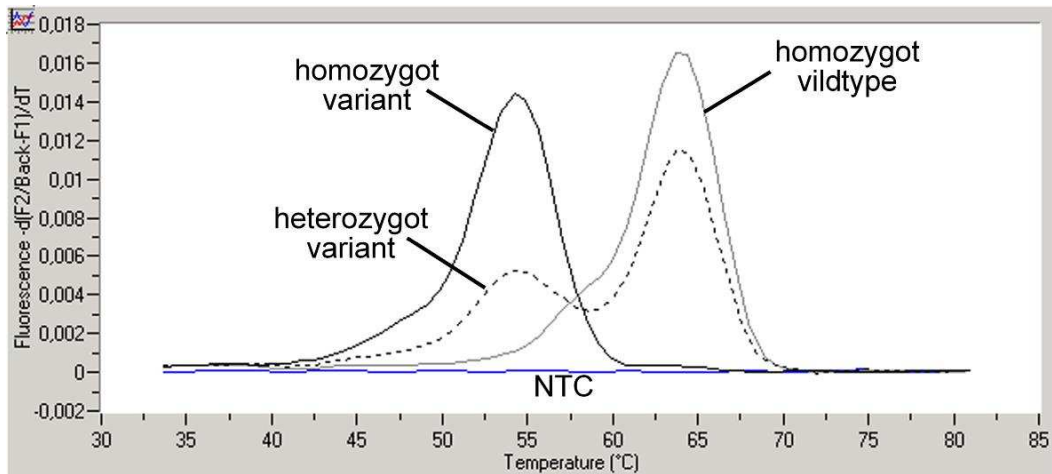


Fig. 7: Smeltekurveanalyse for detektionen af nukleotid udskiftning ved nt 677 ved hjælp af *artus* MTHFR LC PCR Kit i fluorescenskanalen F2/Back-F1. NTC: non-template control (negativ kontrol).

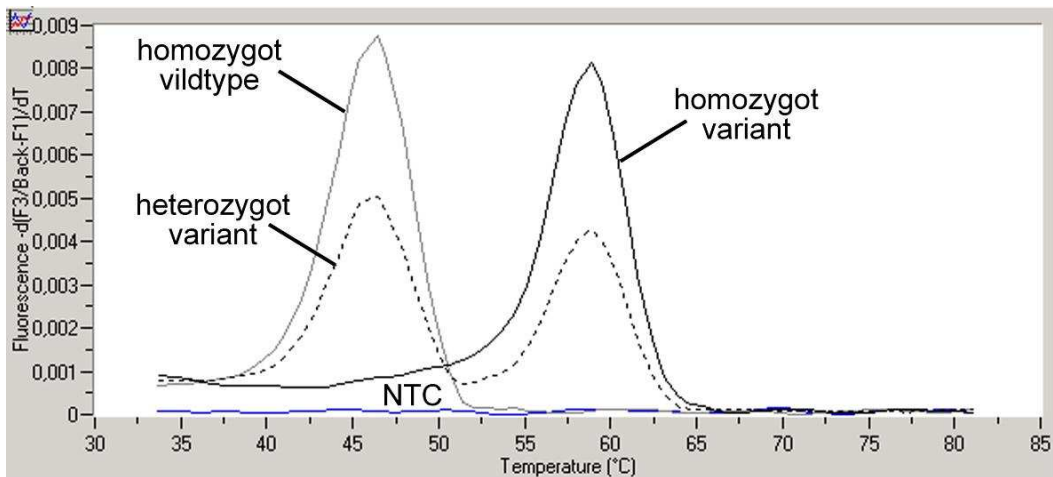


Fig. 8: Smeltekurveanalyse af detektionen for nukleotid udskiftning ved nt 1298 ved hjælp af *artus* MTHFR LC PCR Kit i fluorescenskanalen F3/Back-F1. NTC: non-template control (negativ kontrol).

Genotypen bestemmes via kombination af de alleliske varianter. Der skal bemærkes, at ved tilstedeværelsen af to heterozygote varianter, kan disse være lokaliseret på en allel eller på to forskellige alleler. På nuværende tidspunkt blev i litteraturen ikke skrevet om tilstedeværelsen af to heterozygote varianter lokaliseret på en allel såvel som om to alleler. I hvert fald kan der ved tilstedeværelse af minimum én genetisk variant forventes en reduceret MTHFR-enzymaktivitet.

Hos bærere af to vildtype-alleler kan der forventes en normal enzymaktivitet, forudsat at ingen andre ikke-genetiske faktorer har indflydelse på enzymaktiviteten. Hos bærere af minimum én genetisk forandret allel (MTHFR wt677/var677, wt1298/var1298) kan der forventes en indskrænket enzymaktivitet. Hvis begge alleler er ramt af dette, stiger risikoen for en genetisk betinget bivirkning.

De oven for beskrevne alleler resulterer i forskellige mulige genotyper. Disse er oplistet i den efterfølgende tabel (se Tabel 2).

Tabel 2: Indflydelse af genotypen på enzymaktiviteten.

Homozygotisk vildtype-genotype	Heterozygotisk variant genotype	Homozygotisk variant genotype
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	
<b>normal enzymaktivitet</b>	<b>reduceret enzymaktivitet</b>	

Den i *artus* MTHFR LC PCR Kit vedlagte positiv kontrol (*MTHFR LC Control*) repræsenterer tilstanden af den heterocygote allel (se Fig. 7 og 8).

## 10. Fejlkilder

Intet signal ved positivkontrollerne (*MTHFR LC Control*) i fluorescenskanalen F2/Back-F1 hhv. F3/Back-F1:

- Fejl i programmeringen af temperaturprofilen for *LightCycler*<sup>®</sup> instrumentet.
  - Sammenlign temperaturprofilen med angivelserne i protokollen (se **8.3 Programmering af *LightCycler*<sup>®</sup> instrumentet**).
- Fejl i sammensætningen af PCR-reaktionen.
  - Kontrollér arbejdsrinnene ved hjælp af pipetteringsskemaet (se **8.2 Forberedelse af PCR**) og gentag i givent tilfælde PCR'en.
- Betingelserne for opbevaring af en eller flere af kittets komponenter svarede ikke til de i **2. Opbevaring** angivne forskrifter eller holdbarhedsdatoen for *artus MTHFR LC PCR Kit* blev overtrådt.
  - Kontrollér venligst både betingelserne for opbevaring og holdbarhedsdatoen (se på kit-etiketten) af reagenserne og anvend i givent tilfælde et nyt kit.
- PCR'en er blevet inhiberet.
  - Sørg for, at De anvender en af os anbefalet oprensningsmetode (se **8.1 DNA-isolering**) og hold Dem nøje til producentens anvisninger.
  - Kontrollér, at der ved DNA-oprensningen, før gennemførelsen af elueringen, blev gennemført det anbefalede centrifugeringstrin til den fuldstændige fjernelse af ethanol-rester (se **8.1 DNA-isolering**).
- Der foreligger tab af DNA forårsaget af oprensningen.
  - Sørg for, at De anvender en af os anbefalet oprensningsmetode (se **8.1 DNA-isolering**) og hold Dem nøje til producentens anvisninger.

**Svagt fluorescens-peak (svagt maksimalt udsving af fluorescensen):**

- Bland grundigt komponenterne før anvendelsen.
- Kontrollér betingelserne for amplifikation.
- Lad Cooling Block'en med de tilhørende adaptere være kølet ned til +4 °C, før der begyndes med anvendelsen.
- Under pipetteringen skal alle reagenser være i kølet tilstand.



Hvis der skulle opstå yderligere spørgsmål eller problemer, kontakt venligst vores tekniske service.

## **11. Specifikationer**

### **11.1 Analytisk sensitivitet**

*artus* MTHFR LC PCR Kit bruges til detektion af den individuelle genetiske konstitution vedrørende de genetiske varianter nt 677 og nt 1298 i det humane MTHFR-gen ved hjælp af *LightCycler*<sup>®</sup>-teknologien. Den humane genomiske DNA blev oprenset fra blodprøver, spektrofotometrisk kvantificeret og fortyndet i serielle fortyndingstrin. For at detektere de genetiske varianter er et minimum af 0,12 ng genomisk DNA (20 kopier) per PCR (svarer til 0,005-0,02 µl blod, alt efter bloddonor og oprensning) tilstrækkelig.

### **11.2 Specificitet**

Specificiteten for *artus* MTHFR LC PCR Kit sikres først og fremmest igennem udvalget af primere og prober samt ved valget af stringente reaktionsbetingelser. Primerne og proberne blev kontrolleret for eventuelle homologier til alle i genbanker publicerede sekvenser ved hjælp af en sekvenssammenlignings-analyse. Derudover sikres specificiteten til påvisning af denne genetiske polymorphisme ved hjælp af sekvenseringen af de enkelte allel-varianter og en efterfølgende sekvenssammenligning i internationale databanker.

### **11.3 Diagnostisk sensitivitet og specificitet**

Frekvensen af polymorphismer i den kaukasiske population, som beskrevet i Botto & Yang (2000), blev bekræftet ved hjælp af 300 DNA prøver under anvendelse af kit-bestanddelene.

## 12. Særlige anvisninger til brug af produktet

- Alle reagenser må udelukkende anvendes til in vitro-diagnostik.
- Kun personale, der er specielt undervist og uddannet i in-vitro-diagnostika-proceduren (EN375), bør anvende dette udstyr.
- Det er absolut nødvendigt at protokollen overholdes nøje, for at opnå optimale PCR-resultater.
- Holdbarhedsdatoerne for de enkelte komponenter, der er angivet på emballagen og etiketterne, skal overholdes. Udløbne reagenser må ikke benyttes.

## 13. Sikkerhedsinformationer

Sikkerhedsinformationer vedrørende *artus* MTHFR LC PCR Kit findes i de tilsvarende materialsikkerheds-datablade (material safety data sheets, MSDS). Disse findes som kompakt og brugervenlig PDF-fil under [www.qiagen.com/support/msds.aspx](http://www.qiagen.com/support/msds.aspx).

## 14. Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med det ISO 9001 og ISO 13485-certificerede kvalitetsmanagement-system fra QIAGEN blev ethvert lot af *artus* MTHFR LC PCR Kit testet imod givne specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

## 15. Litteratur

- (1) Botto LD, Yang Q. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase gene variants and congenital anomalies: a HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2000 May1; 151 (9): 862 - 877
- (2) Junker R, Nowak-Gööt U, Fobker M. The methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism and other genetic causes af 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. Symbolforklaring



Holdbar til



Lotnummer



Producent



Katalognummer



Materialenummer



Håndbog



In vitro diagnostisk medicinsk produkt



Indholdet er tilstrækkeligt for <N> tests



Temperaturbegrænsning







**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)

1046979DA 127132193