

IVD

CE

LOT 607AB1

REF 6640

10/2015

2018-09

Ergebnisprotokoll und Auswertetabelle / Worksheet and Evaluation Diagram

Spezifität Specificity	O01 (O ¹)	non O01 (O ¹)	O03 (O ²)	non O03 (O ²)	B101 (B ¹)	non B101 (B ¹)	A201 (A ²)	non A201 (A ²)	
PCR-Produkt (bp) PCR product (bp)	134	140	194	193	195	194	172	173	

Reaktions-Nr. Reaction no.	1	2	3	4	5	6	7	8	Genotyp Genotype	Phänotyp Phenotype
Position 1-positive (O01)	+			+		+		+	ABO*O01/O01 (O ¹ O ¹)	O
	+	+	+	+		+		+	ABO*O01/O03 (O ¹ O ²)	O
	+	+		+	+	+		+	ABO*O01/B101 (O ¹ B ¹)	B
	+	+		+		+		+	ABO*O01/A101 (O ¹ A ¹)	A ₁
	+	+		+		+	+	+	ABO*O01/A201 (O ¹ A ²)	A ₂
Position 3-positive (O03)		+	+			+		+	ABO*O03/O03 (O ² O ²)	O
		+	+		+	+		+	ABO*O03/B101 (O ² B ¹) [◆]	B
		+	+	+		+		+	ABO*O03/A101 (O ² A ¹)	A ₁
		+	+	+		+	+	+	ABO*O03/A201 (O ² A ²)	A ₂
Position 5-positive (B101)		+			+			+	ABO*B101/B101 (B ¹ B ¹) [◆]	B
		+		+	+	+		+	ABO*A101/B101 (A ¹ B ¹)	A ₁ B
		+		+	+	+	+	+	ABO*A201/B101 (A ² B ¹)	A ₂ B
Position 2/4/6-positive (non O01/O03/B101)		+		+		+		+	ABO*A101/A101 (A ¹ A ¹)	A ₁
		+		+		+	+	+	ABO*A101/A201 (A ¹ A ²)	A ₁
		+		+		+	+		ABO*A201/A201 (A ² A ²)	A ₂

Ergebnis / Result	1	2	3	4	5	6	7	8	Genotyp Genotype	Phänotyp Phenotype

Reaktions-Nr. Reaction No.	1	2	3	4	5	6	7	8	Genotyp Genotype	Phänotyp Phenotype
	+			+		+		+	ABO*O01/O01 (O ¹ O ¹)	O

A-spezifische Allele werden durch eine Bande in allen „non-Reaktionen“ angezeigt. Hinter dem PCR-Ergebnis A101 können sich andere variante A-Allele verbergen.

Hinter den PCR-Ergebnissen B101 können sich andere variante B-Allele und hinter A201 variante A²-Allele bzw. das Allel O³ verbergen.

- ◆ Bei Genotyp B101/B101 und O03/B101 reagiert Primer-Mix Nr. 4 negativ.
- ◆ Bei Vorliegen einer *O24, *O41 oder *O42 reagiert Mix 5 positiv.

A-specific alleles are indicated by a single band in each „non-reaction“. Other variant A alleles can be hidden by the PCR-result A101.

Other variant B alleles can be hidden behind the PCR-result B101. The A201 reaction covers also variant A² alleles and O³ respectively.

- ◆ In case of genotype B101/B101 or O03/B101 primer mix no. 4 reacts negative.
- ◆ In case of an *O24, *O41 or *O42 primer mix 5 reacts positive.

Proben-ID / Sample ID:

Name / Name:

Geb.-Datum / Date of birth:

Ergebnis / Result:

Datum / Date:

Unterschrift / Signature:

Gelbild / Gel picture:

Version 4.0 – 04/2015

Kurzanleitung

1. Die gewünschte Anzahl Platten/Streifen aus dem Gefrierschrank (-20...-80°C) nehmen und den 10 x PCR-Puffer bei Raumtemperatur auftauen.
2. Der erste Reaktionsmix ist durch Aufdruck der Lot-Nr. markiert.
3. Den Mastermix, bestehend aus 10 x PCR-Puffer, DNA-Lösung, Taq-Polymerase und Aqua dest. zusammenpipettieren und gründlich vortexen. Die verschiedenen BAGene DNA-SSP Kits werden mit dem gleichen Mastermix angesetzt und sind daher miteinander kombinierbar.
4. Nach dem Vortexen werden von diesem Gemisch umgehend je 10 µl zu den angetrockneten Reaktionsmischen pipettiert.
5. Die Reaktionsgefäße werden mit den dafür vorgesehenen Deckeln dicht verschlossen. Die Platten/Streifen werden leicht bewegt, um das Pellet auf dem Gefäßboden etwas anzulösen. Die gesamte Reaktionslösung soll sich im Gefäßboden befinden.
6. Nach der PCR und Auftrennung der Amplifikate im Gel erfolgt die Auswertung.
7. Alle Reagenzien sind nach Gebrauch wieder bei -20...-80°C zu lagern.

Zusammensetzung des Mastermixes in Abhängigkeit von der Anzahl der Reaktionsmische Composition of the mastermix depending on the number of reaction mixes

No. of mixes	Dist. water	10 x PCR-buffer	DNA-sol. (50-100 ng/µl)	Taq-Polymerase (5 U/µl)	total volume app.	
1	8	1	1	0,08	10	µl
2	16	2	2	0,2	20	µl
6☆	50	7	7	0,5	65	µl
7	70	9	9	0,7	90	µl
8	80	10	10	0,8	100	µl
9	88	11	11	0,9	110	µl
10	96	12	12	1,0	120	µl
11	104	13	13	1,0	130	µl
12	112	14	14	1,1	140	µl
13	128	16	16	1,3	160	µl
14	136	17	17	1,4	170	µl
15	144	18	18	1,4	180	µl
16	152	19	19	1,5	190	µl

⇒ Bei abweichenden DNA-Konzentrationen sind die Mengen von DNA und Wasser entsprechend zu variieren.
For different DNA concentrations, the amounts of DNA and water must be adjusted accordingly.

☆ Mastermix für 6 Reaktionsmische wird wegen des geringen Volumens Taq-Polymerase als Mindestansatz empfohlen.
A minimum volume of mastermix (6 reaction mixes) is recommended due to the small volume of Taq-Polymerase.

Short instructions

1. Take out the required number of plates/strips from -20 to -80°C and thaw the 10 x PCR-buffer.
2. The first reaction mix can be identified by the printed lot number.
3. Pipet the mastermix, consisting of 10 x PCR-buffer, DNA-solution, Taq-Polymerase and distilled water and mix well. The different DNA-SSP Kits all work with the same mastermix and can therefore be combined.
4. After vortexing add 10 µl of this mixture immediately to each dried reaction mixes.
5. Close the tubes tightly with the respective strip caps. Slightly move the plates/strips to dissolve the pellet at the bottom of the tube. The complete PCR-solution should settle on the bottom of the tube.
6. After PCR and separation of the amplicons in the gel, the evaluation can be performed.
7. Store all reagents at -20 to -80°C after use.

⇒ Ablesen der Ergebnisse in Pfeilrichtung / Read the results in the direction of the arrow

Beispiel / Example

Reaktions-Nr. Reaction No.	1	2	3	4	5	6	7	8	Genotyp Genotype	Phänotyp Phenotype
	+			+		+		+	ABO*O01/O01 (O ¹ O ¹)	O