

IVD

CE

LOT 405HN1

REF 66701

09/2014

2016-10

## WORKSHEET

Beispiel siehe Kurzanleitung / Please see short instructions for examples

Mix 1 zeigt manchmal eine schwache Reaktion / Mix 1 shows sometimes a weak reaction

Reaktions-Nr. / Reaction no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PCR-Produkt (Größe in bp) PCR product (size in bp)	141	155	191	214	121	214	249	249	245	245
HNA-Merkmale HNA specificities	HNA-1a	HNA-1b	HNA-1c	HNA-3a	HNA-3a	HNA-3b	HNA-4a	HNA-4bw	HNA-5a	HNA-5bw
Allele Alleles	FCGR3B*01	FCGR3B*02	FCGR3B*03	CTL2*457T	CTL2*461G	CTL2*461A	ITGAM*230G	ITGAM*230A	ITGAL*2466G	ITGAL*2466C
HNA-1a (FCGR3B*01)	+									
HNA-1b (FCGR3B*02)		+								
HNA-1c (FCGR3B*03)			+							
HNA-3a (CTL2*457T / CTL2*461G)				+	+					
HNA-3a (CTL2*461G)					+					
HNA-3b (CTL2*461A)						+				
HNA-4a (ITGAM*230G)							+			
HNA-4bw (ITGAM*230A)								+		
HNA-5a (ITGAL*2466G)									+	
HNA-5bw (ITGAL*2466C)										+

Reaktionen / Reactions	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ergebnis / Result										

Proben-ID / Sample ID:

Name / Name:

Geb.-Datum / Date of birth:

Ergebnis / Result:

Datum / Date:

Unterschrift / Signature:

Gelbild / Gel picture:

Version 5.0 – 05/2014

**Achtung:** Mix 5 wurde überarbeitet und erkennt immer das HNA-3a Allel CTL2\*461G (PCR-Produkt: 121 bp). Bei Vorhandensein der gekoppelten Mutation CTL2\*457T, reagiert Mix 4 zusätzlich positiv.

**Attention:** Mix 5 was redesigned and always detects the HNA-3a allele CTL2\*461G (PCR product: 121 bp). In existence of the associated mutation CTL2\*457T, mix 4 additionally reacts positive.

## 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...-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... -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	9	10
FCGR3B*01, *02; CTL2*457T/CTL2*461G; ITGAM*230G, *230A; ITGAL*2466G (HNA-1a/b; 3a; 4a/bw; 5a)	+	+		+	+		+	+	+	