

Anweisung für die Auswertung von BAGene ABO-TYPE variant

1. Bestimmung der Mixe mit einer positiven Reaktion

Nur solche Banden werden als positiv bewertet, die verglichen mit einem DNA-Längenstandard die richtige Größe aufweisen. Die Größe der PCR-Amplifikate ist im Worksheet sowie im Auswertediagramm (Tabelle 1) angegeben.

Beispiel: positive Bande in den Mixen: 1, 2, 3, 4, 6, 8 und 11

2. Suchen der passenden positiven Reaktionen für die ABO-Genotypisierung im Auswertediagramm (Tabelle 2)

Beginnend mit der kleinsten Nummer der positiven Mixe werden in der ersten Spalte von Tabelle 2 passende Reaktionsmuster herausgesucht. Die Reaktionsmuster sind in der Tabelle nach dem jeweils kleinsten positiven Mix angeordnet, d.h zuerst sind alle Muster aufgelistet, in denen Mix 1 positiv ist, danach alle Reaktionsmuster, in denen Mix 2 positiv ist usw. Vorrangig werden zuerst die häufigen Genotypen in den Tabellen aufgeführt, danach die seltenen Varianten.

Beispiele:

1+2+3+4+6+8+11	=	O ¹ O ²
1+2+4+5+6+8+11	=	O ¹ B ¹
1+2+4+6+7+8+11	=	O ¹ A ²
1+4+6+8+11	=	O ¹ O ¹

3. Bestätigung und Protokollierung der Reaktionsmuster auf dem chargenbezogenen Worksheet

Hierbei wird in den Zeilen von links nach rechts (s. roter Pfeil auf dem Worksheet) ausgewertet. Auf dem Worksheet werden alle positiven und negativen Reaktionen mit + und - eingetragen und mit den im Auswertediagramm (Tabelle Nr. 2) ermittelten Ergebnissen abgeglichen.

Eine Ausnahme stellen die Mixe 10 und 11 mit der Bezeichnung A^x und B³ dar. Hierbei ist zu beachten, daß diese Reaktionen nicht nur spezifisch für die Allele A^x und B³ sind, sondern auch abhängig davon, welche häufigen Allele vorliegen, unterschiedliche Reaktionsmuster zeigen. Die Differenzierung von A^x und B³ kann nur mit Hilfe des gesamten Reaktionsmusters erfolgen, da der Genotyp, je nach Kombination der Allele, nicht nur durch eine positive Reaktion (Bande vorhanden), sondern auch durch den Ausfall einer Reaktion (Bande fehlt) angezeigt werden kann.

Beispiel:

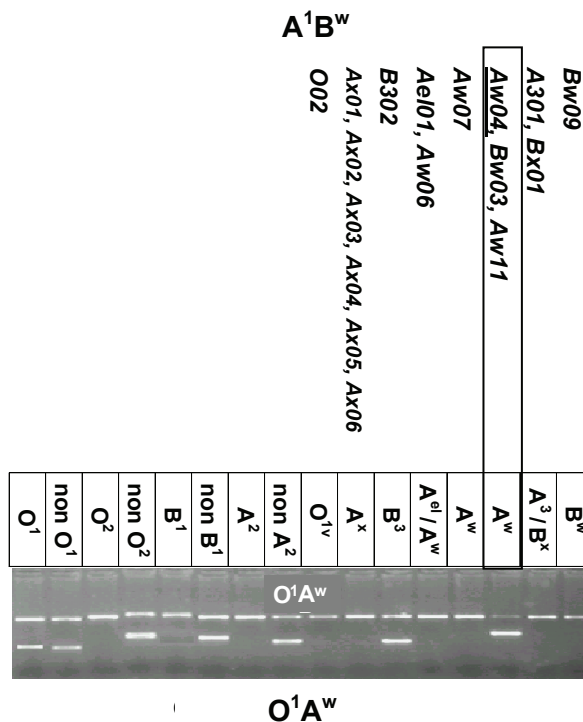
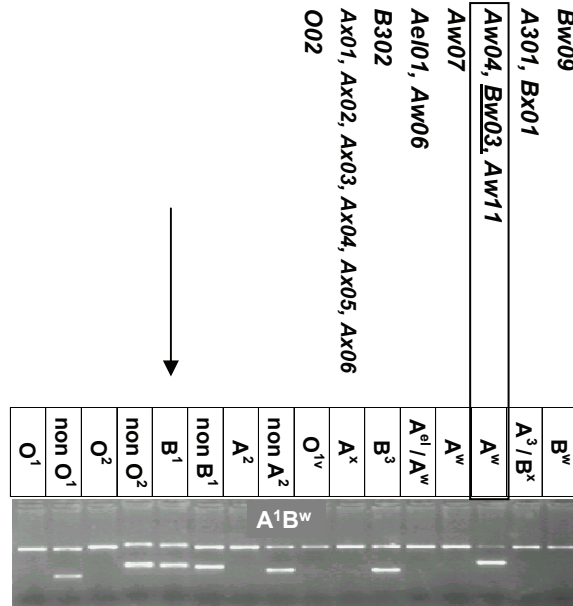
Positive Primermixe	
1+2+3+4+6+8+11	= O ¹ O ² (Ergebnis Auswertediagramm)
Gesamt-Reaktionsmuster	= O ¹ O ² (Ergebnis Worksheet)

Reaktions-Nr. Reaction No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Genotyp Genotype	Phänotyp Phenotype
	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	O ¹ O ²	O

4. Besonderheiten bei der Typisierung der Allele A^x, A^w, B^x und B^w

Die oben genannten varianten Untergruppenallele sind durch Punktmutationen (Basenaustausch) charakterisiert. Ein und dieselbe Mutation kann sowohl bei einem A- als auch B-Subtyp auftreten. Der Genotyp wird folglich nicht nur durch eine spezifische Bande im entsprechenden Primermix, der die Mutation detektiert, angezeigt. Ist die „B-Reaktion“ (Mix Nr. 5) positiv, lautet das Ergebnis B^x oder B^w. Sind alle „non-Reaktionen“ (Mixe Nr. 2, 4, 6 und 8) positiv, führt dieselbe Mutation zum Ergebnis A^x oder A^w. Es muß immer das gesamte Reaktionsmuster berücksichtigt werden.

Beispiel:



5. Bewertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Genotypisierung mit **BAGene** ABO-TYPE variant müssen mit den serologischen Vorbefunden abgeglichen werden, da der Phänotyp entscheidend zur Interpretation varianter Untergruppen beiträgt.

**Instructions for the Evaluation of
BAGene ABO-TYPE variant:**

1. Determination of mixes showing a positive reaction

Only those bands are classified as positive which have the correct size compared to a DNA length standard. The correct sizes of PCR products are given in the Worksheet as well as in the Evaluation Diagram (Table 1).

Example: positive band in mixes no. : 1, 2, 3, 4, 6, 8 and 11

**2. Checking positive reactions for ABO blood group genotyping using the
Evaluation Diagram (Table 2)**

Matching reaction pattern in the first column of Table 2. In Table 2 the reaction patterns are listed according to the lowest positive mix, so first you will find all reaction patterns that include mix 1, second all reaction patterns that include mix 2 and so on. Common genotypes are listed prior to rare variants.

Examples: 1+2+3+4+6+8+11 = O¹O²
 1+2+4+5+6+8+11 = O¹B¹
 1+2+4+6+7+8+11 = O¹A²
 1+4+6+8+11 = O¹O¹

**3. Confirmation and dDocumentation of reaction patterns on the worksheet of a
particular lot**

Read the results in the rows from left to right (red arrow on the worksheet). Fill in all positive and negative reactions writing + and – and compare the patterns with your results of the Evaluation Diagram (Table 2). An exception in the evaluation scheme are the mixes no. 10 and 11 denominated A^x and B³. These reactions do not indicate exclusively A^x and B³. They vary depending on which common alleles are present. Since the genotype can be indicated by positive reactions (band is present) and by negative reactions (band is missing), the differentiation of A^x und B³ has to be done with the complete reaction pattern.

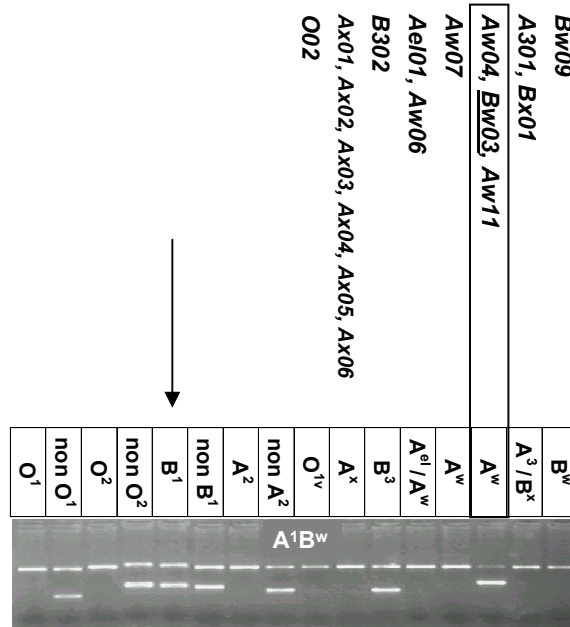
Example: positive primer mixes
 1+2+3+4+6+8+11 = O¹O² (result acc. to evaluation diagram)
 complete reaction pattern = O¹O² (result acc. to worksheet)

Reaktionen-Nr. Reaction No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Genotyp Genotype	Phänotyp Phenotype
	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	O ¹ O ²	O

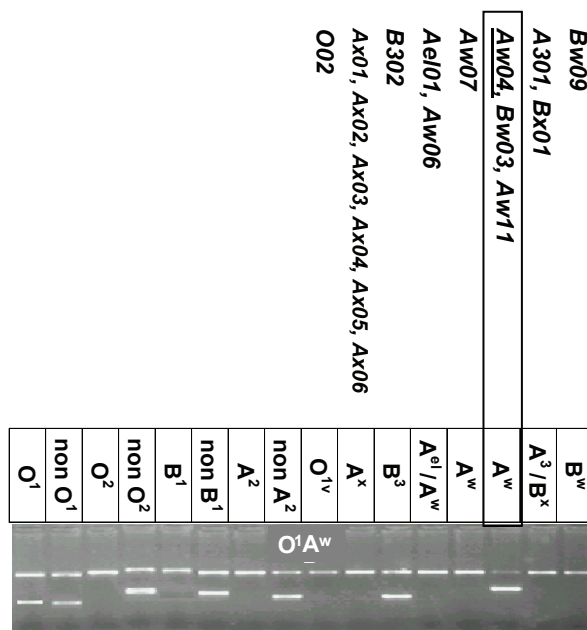
4. Special remarks regarding genotyping the alleles A^x, A^w, B^x und B^w

Variant subgroup alleles are characterized by single nucleotide mutations (base substitutions). The same mutation can either indicate an A or a B subtype. Therefore the genotype is not only detected by a specific band in the corresponding primermix which indicates one particular mutation. In case of a positive „B-reaction“ (mix no. 5), the result is B^x oder B^w. In case of positivity of all „non-reactions“ (mixes no. 2, 4, 6 und 8), one and the same mutation leads to genotype A^x oder A^w. The reaction pattern of all PCR mixes must be considered completely.

Example:



A¹B^w



O¹A^w

5. Evaluation of results

The results of genotyping using **BAGene** ABO-TYPE variant have to be compared with serologic pre-testings, since the phenotype is decisive for the interpretation of variant subgroups.

Auswertediagramm / Evaluation diagram
BAGene ABO-TYPE variant

Version 07/2008

Tabelle 1 / Table 1

Mix Nr. / no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Positive Reaktion / Positive reaction																
Größe der spezifischen Bande / Size of specific band [bp]	134	133	194	193	195	194	172	173	240	170	170	238/ 148	234	235	173	181

Tabelle 2 / Table 2

Positive Reaktion / Positive reaction	Genotyp / Genotype	Phänotyp / Phenotype
Häufige O¹-Genotypen / common O¹ genotypes		
1 + 4 + 6 + 8 + 11	O ¹ O ¹	O
1 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11	O ¹ O ^{1v}	O
1 + 2 + 3 + 4 + 6 + 8 + 11	O ¹ O ²	O
1 + 2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11	O ¹ B ¹ §	B
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 11	O ¹ A ¹ ⊙	A ₁
1 + 2 + 4 + 6 + 7 + 8 + 11	O ¹ A ² §	A ₂
Seltene O¹-Varianten / rare O¹ variants		
1 + 2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 10 + 11	O ¹ B ³	B ₃
1 + 2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 15	O ¹ B ^x	B _x
1 + 2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 16	O ¹ B ^w	B _w
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 15	O ¹ A ³	A ₃
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 10 + 11	O ¹ A ^x	A _x
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 12 (238 bp)	O ¹ A ^{el}	A _{el}
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 12 (148 bp)	O ¹ A ^{w*}	A _w
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 13 (234 bp)	O ¹ A ^{w*}	A _w
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 14 (235 bp)	O ¹ A ^{w*}	A _w
Häufige O²-Genotypen / common O² genotypes		
2 + 3 + 6 + 8 + 11	O ² O ²	O
1 + 2 + 3 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11	O ² O ^{1v}	O
2 + 3 + 5 + 6 + 8 + 11	O ² B ¹ ♦ §	B
2 + 3 + 4 + 6 + 8 + 11	O ² A ¹ ⊙	A ₁
2 + 3 + 4 + 6 + 7 + 8 + 11	O ² A ² §	A ₂
Seltene O²-Varianten / rare O² variants		
2 + 3 + 4 + 5 + 6 + 8 + 10 + 11	O ² B ³	B ₃
2 + 3 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 15	O ² B ^x	B _x
2 + 3 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 16	O ² B ^w	B _w
2 + 3 + 4 + 6 + 8 + 11 + 15	O ² A ³	A ₃
2 + 3 + 4 + 6 + 8 + 10 + 11	O ² A ^x	A _x
2 + 3 + 4 + 6 + 8 + 11 + 12 (238 bp)	O ² A ^{el}	A _{el}
2 + 3 + 4 + 6 + 8 + 11 + 12 (148 bp)	O ² A ^{w*}	A _w
2 + 3 + 4 + 6 + 8 + 11 + 13 (234 bp)	O ² A ^{w*}	A _w
2 + 3 + 4 + 6 + 8 + 11 + 14 (235 bp)	O ² A ^{w*}	A _w

Positive Reaktion / <i>Positive reaction</i>	Genotyp / <i>Genotype</i>	Phänotyp / <i>Phenotype</i>
Häufige O^{1v}-Genotypen / common O^{1v} genotypes		
1 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10	O ^{1v} O ^{1v}	O
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11	O ^{1v} A ¹ ⊙	A ₁
1 + 2 + 4 + 6 + 7 + 8 + 9 + 10 + 11	O ^{1v} A ² §	A ₂
1 + 2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11	O ^{1v} B ¹ §	B
Seltene O^{1v}-Varianten / rare O^{1v} variants		
1 + 2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 9 + 10	O ^{1v} B ³	B ₃
1 + 2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11 + 15	O ^{1v} B ^x	B _x
1 + 2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11 + 16	O ^{1v} B ^w	B _w
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11 + 15	O ^{1v} A ³	A ₃
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10	O ^{1v} A ^x	A _x
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11 + 12 (238 bp)	O ^{1v} A ^{el}	A _{el}
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11 + 12 (148 bp)	O ^{1v} A ^{w*}	A _w
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11 + 13 (234 bp)	O ^{1v} A ^{w*}	A _w
1 + 2 + 4 + 6 + 8 + 9 + 10 + 11 + 14 (235 bp)	O ^{1v} A ^{w*}	A _w
Häufige B-Genotypen / common B genotypes		
2 + 5 + 8 + 11	B ¹ B ¹ ♦ §	B
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11	A ¹ B ¹ ⊙§	A ₁ B
2 + 4 + 5 + 6 + 7 + 8 + 11	A ² B ¹ §	A ₂ B
Seltene B-Varianten / rare B variants		
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 15	A ³ B ¹ § / A ¹ B ^x	A ₃ B / A ₁ B _x
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 10 + 11	A ^x B ¹ § / A ¹ B ³	A _x B / A ₁ B ₃
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 10 + 11 + 15	A ³ B ³ / A ^x B ^x	A ₃ B ₃ / A _x B _x
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 12	A ^{el} B ¹ §	A _{el} B
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 16	A ¹ B ^w	A ₁ B _w
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 15 + 16	A ³ B ^w	A ₃ B _w
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 12 (148 bp)	A ^w B ¹ * §	A _w B
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 13 (234 bp)	A ^w B ¹ * §	A _w B
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 14 (235 bp)	A ^w B ¹ * §	A _w B
Häufige A¹-Genotypen / common A¹ genotypes		
2 + 4 + 6 + 8 + 11	A ¹ A ¹ ⊙	A ₁
2 + 4 + 6 + 7 + 8 + 11	A ¹ A ² ⊙§	A ₁
2 + 4 + 6 + 7 + 11	A ² A ² §	A ₂
Seltene A¹-Varianten / rare A¹ variants		
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 10 + 11	A ¹ B ³ ⊙	A ₁ B ₃
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 15	A ¹ B ^x ⊙	A ₁ B _x
2 + 4 + 5 + 6 + 8 + 11 + 16	A ¹ B ^w ⊙	A ₁ B _w
2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 15	A ¹ A ³ ⊙	A ₁ A ₃
2 + 4 + 6 + 8 + 10 + 11	A ¹ A ^x ⊙	A ₁ A _x
2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 12 (238 bp)	A ¹ A ^{el} ⊙	A ₁ A _{el}
2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 12 (148 bp)	A ¹ A ^{w*} ⊙	A ₁ A _w
2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 13 (234 bp)	A ¹ A ^{w*} ⊙	A ₁ A _w
2 + 4 + 6 + 8 + 11 + 14 (235 bp)	A ¹ A ^{w*} ⊙	A ₁ A _w

⊙ * ♦ §

Bitte beachten Sie die besonderen Hinweise auf dem Ergebnis-Protokoll
Please consult the special remarks on the Result Protocol