

Mentype[®] Nonaplex I

Handbuch

RUO

Nur für wissenschaftliche Anwendungen – nicht für
medizinische Diagnostik

NONAHB01v1de
12.01.2026

REF

41-09113-0100
41-09113-0400

LOT

Chargennummer



BIOTYPE GmbH
Moritzburger Weg 67
01109 DRESDEN
GERMANY

Website: www.biotype.de

Email: support@biotype.de

Bestellung: sales@biotype.de

Änderungshinweis

Bitte beachten Sie die folgenden Anpassungen gegenüber der vorherigen IFU-Version:

Dokumentnummer	Änderung	Datum
NONAHB01v1de	Anpassung Vorgehensweise Installation Matrix DS30, ABI 3130 eingestellt	13.01.2026

Eine gedruckte Version dieses Handbuches kann innerhalb von 7 Tagen kostenlos zur Verfügung gestellt werden.

Für weitere Fragen, kontaktieren Sie uns gerne

unter +49 351 8838 400 oder

support@biotype.de

Inhalt

Produktbeschreibung	3
Mitgelieferte Materialien	5
Reagenzienlagerung und -handhabung.....	6
Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien.....	6
Allgemeine Laborausstattung.....	6
Reagenzien, Kits und Verbrauchsmaterial.....	7
Warnungen und Sicherheitshinweise	7
Protokolle für Amplifikation und Elektrophorese	8
PCR Amplifikation.....	8
Ansatz des Master Mixes.....	8
Positivkontrolle (PC).....	9
Negativkontrolle (NTC).....	10
PCR Amplifikationsparameter.....	10
Elektrophorese am Applied Biosystems™ 3500/3500XL Genetic Analyzer	11
Spektralkalibrierung/Matrixerstellung.....	12
Probenvorbereitung.....	12
Auswertung	13
BIOTYPE Auswertevorlagen.....	13
Kontrollen.....	14
Interpretation der Ergebnisse	15
Überstrahlungen (Pull-up Peaks).....	15
Stotterbanden (Stutter Peaks).....	16
Template-unabhängige Anheftung von Nukleotiden.....	16
Artefakte.....	16
Referenzen	17
Symbole	17
Anhang	19

Produktbeschreibung

Das Mentype® Nonaplex I PCR Amplification Kit ist eine Multiplex-Anwendung für die in der deutschen forensischen DNA-Analyse-Datei (DAD) zu erfassenden Short Tandem Repeat (STR) Loci. In einem PCR-Ansatz werden die acht polymorphen STR-Loci D3S1358, D8S1179, D18S51, D21S11, FGA (FIBRA), SE33 (ACTBP2), TH01 (TC11) und vWA sowie der Geschlechtsmarker Amelogenin simultan amplifiziert.

Das Testkit wurde speziell für die schnelle und zuverlässige Erstellung von DNA-Befunden aus Blutproben bzw. Abstrichen der Wangenschleimhaut von Vergleichspersonen sowie aus Spuren entwickelt. Die Primer sind mit den Fluoreszenzfarbstoffen 6-FAM (Amelogenin, D3S1358, TH01 und SE33), HEX (vWA, FGA und D18S51) oder NED (D8S1179 und D21S11) markiert. Bei der Zusammenstellung des Primergemisches wurde besonders auf eine ausgewogene Signalintensität der einzelnen DNA-Systeme geachtet.

Die Nachweisgrenze für das Mentype® Nonaplex I Testkit liegt bei weniger als 200 pg genomischer DNA. Wir empfehlen den Einsatz von 0.5-1.0 ng DNA.

Die Validierung und Evaluierung des Testkits wurden am GeneAmp® 9700 Thermocycler, Applied Biosystems™ 310 Genetic Analyzer, Applied Biosystems™ 3100/3130 Genetic Analyzer und Applied Biosystems™ 3500 Genetic Analyzer durchgeführt.

Das Testkit darf nur für Forschungszwecke verwendet werden, eine Nutzung zu diagnostischen Zwecken ist nicht gestattet.

Das Testkit darf nur von professionellen Nutzern angewendet werden, die auf molekular-biologische Techniken im Allgemeinen und die Durchführung der digitalen PCR im Besonderen geschult sind.

Tabelle 1 Locus-spezifische Informationen für Mentype® Nonaplex I

Locus	GenBank® Accession	Repeat motiv	Locus	GenBank® Accession	Repeat motiv	Locus
Amelogenin X	M55418				Amelog enin X	M55418
Amelogenin Y	M55419				Amelog enin Y	M55419

Locus	GenBank® Accession	Repeat motiv	Locus	GenBank® Accession	Repeat motiv	Locus
D3S1358	11449919	TCTA [TCTG] ₂ [TCTA] ₁₅	18	8-26	D3S1358 8	11449919 9
D8S1179	G08710	[TCTA] ₁₂	12	6-21.2	D8S1179 9	G08710
D18S51	L18333	[AGAA] ₁ 3	13	5.3-42	D18S51	L18333
D21S11	AP000433	[TCTA] ₄ [TCTG] ₆ [TCTA] ₃ TA [TCTA] ₃ TCA [TCTA] ₂ TCCAT A [TCTA] ₁₁	29	12-46	D21S11	AP000433 3
FGA (FIBRA)	M64982	[TTTC] ₃ TTTTT CT [CTTT] ₁₃ CTCC [TTCC] ₂	21	12.2-51.2	FGA (FIBRA)	M64982
SE33 (ACTBP2)	NG000840	[AAAG] ₉ AA [AAAG] ₁ 6	25.2	3-50	SE33 (ACTBP2)	NG000840
TH01 (TC11)	D00269	[TCAT] ₉	9	3-14	TH01 (TC11)	D00269
vWA	M25858	TCTA [TCTG] ₄ [TCTA] ₁₃	18	10-26	vWA	M25858

Tabelle 1 zeigt die STR Loci mit ihren Repeatmotiven und Allelen. Die Nomenklatur entspricht den Leitlinien der International Society for Forensic Genetics (ISFG), Bär et al. (1997). Der angegebene Allelbereich berücksichtigt die bekannten Allele des National Institute of Standards and Technology (NIST, Stand 12/2008) sowie die aktuelle Literatur.

Tabelle 2 Chromosomale Kartierung für Mentype® Nonaplex I

Locus	Chromosomale Kartierung
Amelogenin X	Xp22.1-22.3
Amelogenin Y	Yp11.2
D3S1358	3p25.3
D8S1179	8q23.1-23.2
D18S51	18q21.3
D21S11	21q21.1
FGA (FIBRA)	4q28.2
SE33	6q14.2
TH01	11p15.5pter
vWA	12p13.31

Mitgelieferte Materialien

Die folgenden Reagenzien zur Durchführung des Kits Mentype® Nonaplex I sind im Lieferumfang enthalten:

Komponente	Deckelfarbe		Volumen pro Packungsgröße	
			100 Rkt.	400 Rkt.
Nuclease-Free Water	Hellblau		2 x 1.5 mL	6 x 1.5 mL
Reaction Mix B	Violett		500 µL	2 x 1.0 mL
Mentype® Nonaplex I Primer Mix	Rot		250 µL	4 x 250 µL
Multi Taq 2 DNA Polymerase	Weiß		40 µL	160 µL
Control DNA XY 82 (2 ng/µL)	Weiß		10 µL	10 µL
DNA Size Standard 550 (ROX)	Orange		50 µL	200 µL
Mentype® Nonaplex I Allelic Ladder	Grün		10 µL	4 x 10 µL

HINWEIS



Bitte beachten Sie, dass die Verpackungsgröße die Anzahl der Testungen beschreibt, ohne die Anzahl der erforderlichen Kontrollen oder den erforderlichen Überschuss zum Pipettieren zu berücksichtigen.

Reagenzienlagerung und -handhabung

Das Kit wird auf Trockeneis versandt. Die Komponenten des Kits sollten im gefrorenen Zustand ankommen, mit Ausnahme der Multi Taq 2 DNA Polymerase. Diese ist in einem Puffer gelagert, der das Einfrieren des Reagenz verhindert.

Bitte überprüfen Sie die Vollständigkeit des Kits bei Erhalt. Verwenden Sie keine Kits, die bei der Ankunft aufgetaut sind. Wenn eine oder mehrere Komponenten nicht gefroren sind oder wenn die Röhren oder die Verpackung während des Transports beschädigt wurden, kann die Leistung nicht garantiert werden.

Lagern Sie alle Komponenten lichtgeschützt bei -25 °C bis -15 °C . Insbesondere der Mentype® Nonaplex I Primer Mix, DNA Size Standard 550 (ROX) und Mentype® Nonaplex I Allelic Ladder müssen lichtgeschützt gelagert werden.

Um Kontaminationen zu vermeiden, empfehlen wir, die Prä-PCR Templates (DNA-Proben, Control DNA XY82) und die Post-PCR Komponenten (DNA Size Standard 550 (ROX) und Mentype® Nonaplex I Allelic Ladder) getrennt von den PCR-Reagenzien (Nuclease-Free Water, Multi Taq 2 DNA Polymerase, Reaction Mix A, Mentype® Nonaplex I Primer Mix) zu lagern und zu verwenden.

Die Haltbarkeit des Kits ist auf dem Etikett der Kitbox zu entnehmen. Überschreiten Sie nicht die Höchstzahl von 20 Frieren-Tauen-Zyklen.

Erforderliche, nicht mitgelieferte Materialien

Allgemeine Laborausstattung

- Tischzentrifuge mit Rotor für 2 mL Reaktionsgefäße

- Zentrifuge mit einem Rotor für Mikrotiterplatten
- Vortex-Mischer
- Kalibrierte, einstellbare Pipetten mit aerosoldichten Filterspitzen
- Geeignete 200 µL 96-Well-Reaktionsplatten (abhängig vom Gerätehersteller) mit geeigneter Folie, PCR-Qualität
- Geeignete Racks für 2 mL-Reaktionsgefäße
- Kühlrack für 2 mL-Reaktionsgefäße
- Puderfreie Einweghandschuhe
- NanoDrop™ Spektrophotometer oder Qubit Fluorometer
- PCR-Arbeitsplatz oder Sterilbank

Reagenzien, Kits und Verbrauchsmaterial

Tabelle 3 Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Reagenzien

Reagenz	Anbieter	Bestellnummer
Hi-Di™ Formamide, 25 mL	Thermo Fisher Scientific Inc.	4311320
Matrix Standard DS-30 für Applied Biosystems™ multi-capillary instruments	Thermo Fisher Scientific Inc.	4345827

Warnungen und Sicherheitshinweise

- Lesen Sie die Gebrauchsanweisung sorgfältig durch, bevor Sie das Produkt verwenden.
- Lesen Sie die Sicherheitsdatenblätter (SDS) und Non-Hazardous Statements (NHS) für alle BIOTYPE-Produkte. Diese senden wir Ihnen auf Anfrage zu oder stehen über die Homepage zum Download bereit (<https://www.biotype.de/sicherheitsdatenblatter>). Für Produkte, die keinen besonders besorgniserregenden Stoff enthalten oder anderen Beschränkungen der Verordnung 1272/2008 (CLP) unterliegen und entsprechend kein SDS benötigen, stellt BIOTYPE das SDS auf Anfrage zur Verfügung.
- Bitte wenden Sie sich an die jeweiligen Hersteller, um Kopien der Sicherheitsdatenblätter für zusätzlich benötigte Reagenzien zu erhalten.

- Kitkomponenten verschiedener Kitchargen dürfen nicht gemischt werden.
- Die Aliquotierung der Kitkomponenten in andere Reaktionsgefäße ist nicht zulässig.
- Die Verwendung dieses Produkts ist auf professionelle Laboranwender beschränkt, die in molekulargenetischen Techniken, Multiplex-PCR und in der Handhabung mit Genanalytoren von Thermo Fisher Scientific geschult sind.
 - Überprüfen Sie das Produkt und seine Bestandteile vor dem ersten Gebrauch auf: Unversehrtheit
 - Vollständigkeit in Bezug auf Anzahl, Art und Füllung (siehe Kapitel Mitgelieferte Materialien)
 - Korrekte Beschriftung
 - Zustand bei Ankunft (alle Komponenten gefroren, außer Multi Taq 2 DNA Polymerase)
- Proben sollten immer als infektiös und/oder biologisch gefährlich sowie in Übereinstimmung mit sicheren Laborverfahren und guter Laborpraxis behandelt werden.
- Verwenden Sie kein Kit, dessen Ablaufdatum überschritten ist.
- Entsorgen Sie die Proben und den Kitabfall gemäß den örtlichen Sicherheitsvorschriften.

Protokolle für Amplifikation und Elektrophorese

PCR Amplifikation

Ansatz des Master Mixes

Die folgende Tabelle zeigt die Volumina der eingesetzten PCR Reagenzien bei 1,0 µL Probenvolumen (Template-DNA) in einem Reaktionsvolumen von 25 µL. Berücksichtigen Sie bei der Anzahl der PCR-Reaktionen die Positiv- und Negativkontrolle. Fügen Sie zu dieser Zahl ein oder zwei Reaktionen hinzu, um Pipettierfehler zu kompensieren.

Komponente	Volumen
Nuclease-Free Water	16,1 µL
Reaction Mix B*	5,0 µL
Mentype® Nonaplex I Primer Mix	2,5 µL
Multi Taq 2 DNA Polymerase	0,4 µL
Volumen des Master Mixes	24,0 µL

* enthält Mg²⁺, dNTPs, BSA

Alle Reagenzien sollten vor dem Ansetzen des Master Mixes gemischt (Vortex) und kurz zentrifugiert werden (ca. 10 s).

Die Menge der einzusetzenden DNA richtet sich nach ihrer Konzentration. Für Vergleichsproben ist meist 1 µL ausreichend. Für Spurenproben können 5 µL notwendig sein. Eine weitere Erhöhung der DNA-Menge über 5 µL hinaus ist nicht empfehlenswert, da enthaltene PCR-Inhibitoren u.U. nicht hinreichend ausverdünnt werden. Die Menge an Nuklease-freiem Wasser ist entsprechend zu korrigieren, sodass das Gesamtvolumen des PCR-Ansatzes immer 25 µL beträgt.

Lagern Sie Ihre DNA-Proben in Nuklease-freiem Wasser oder in verdünntem TE Puffer (10 mM Tris HCl, pH 8,0 und 1 mM EDTA), z. B. 0,1x TE Puffer.

Die Primergemische sind so eingestellt, dass bei 30 PCR-Zyklen mit 0,5 ng Control DNA XY82 in einem Reaktionsvolumen von 25 µL ausgewogene Peakhöhen erreicht werden. Wird mehr Template-DNA eingesetzt, so sind bei kleinen PCR-Fragmenten sehr hohe Peaks und bei größeren PCR-Fragmenten verhältnismäßig niedrige Peaks zu erwarten. Reduzieren Sie die DNA-Menge, um diese Unausgewogenheit zu korrigieren.

Positivkontrolle (PC)

Für die Positivkontrolle verdünnen Sie die Control DNA XY82 auf 0,5 ng in dem entsprechenden Volumen mit Nuclease-Free Water. Pipettieren Sie die verdünnte Control DNA anstelle der Template-DNA in die Reaktionsgefäße mit dem vorgelegten PCR Master Mix.

Negativkontrolle (NTC)

Als Negativkontrolle pipettieren Sie Nuclease-Free Water an Stelle der Template-DNA in die Reaktionsgefäße mit dem vorgelegten PCR Master Mix.

PCR Amplifikationsparameter

Programmieren Sie den PCR-Cycler mit dem folgenden Protokoll und stellen Sie die Heiz- und Kühlraten (Ramping) auf 1,5 °C/s ein. Führen Sie eine "Hot Start"-PCR durch, um die Polymerase zu aktivieren und die Bildung unspezifischer Amplifikationsprodukte zu vermeiden.

Die Zyklenzahl ist abhängig von der DNA-Menge. Für alle Proben werden 30 PCR-Zyklen empfohlen. Für kritisches Spurenmaterial (< 100 pg DNA) werden optional 34 Zyklen empfohlen, um optimale Signalintensitäten zu erreichen.

Tabelle 4 Standard-Methode, empfohlen für alle DNA-Proben

Temperatur	Zeit*	
94°C	4 min	(hot start für Aktivierung der Multi Taq2 DNA Polymerase)
94°C	30 s	
58°C	120 s	30 Zyklen
72°C	75 s	
68°C	60 min	
10°C	∞	bis zum Ende

*Heiz- und Kühlraten (Ramping) sollten auf 1,5 °C/s eingestellt werden

Tabelle 5 Optionale Einstellungen, empfohlen für Spurenproben mit geringen DNA-Mengen

Temperatur	Zeit*	
94°C	4 min	(hot start für Aktivierung der Multi Taq2 DNA Polymerase)
94°C	30 s	
58°C	120 s	34 Zyklen
72°C	75 s	
68°C	60 min	
10°C	∞	bis zum Ende

*Heiz- und Kühlraten (Ramping) sollten auf 1,5 °C/s eingestellt werden

Aufgrund zu geringer DNA-Mengen kann es zu statistischen Ausfällen (Allelic Dropouts) und unausgewogenen Peakhöhen kommen. Außerdem steigt die Wahrscheinlichkeit von unspezifischen Amplifikationsprodukten. Mit zunehmender Zyklenzahl können zudem Kreuzkontaminationen durch minimale Mengen an Fremd-DNA auftreten.

Elektrophorese am Applied Biosystems™ 3500/3500XL Genetic Analyzer

Allgemeine Anweisungen zum Analysegerät, zur Spektralkalibrierung und der Anwendung der Applied Biosystems 3500 Series Data Collection Software und der GeneMapper™ ID/ID-X Software, können dem entsprechenden Applied Biosystems™ 3500/3500xL Genetic Analyzers User Guide entnommen werden.

Für den kombinierten Einsatz der fünf Fluoreszenzfarbstoffe 6-FAM, HEX, NED und ROX ist die Nutzung des virtuellen Filter Sets F vorgesehen (der Matrix Standard wird im Folgenden als DS-30 bezeichnet).

Material	
Kapillare	36 cm Capillary Array for 3500/3500xL
Polymer	POP-4® Polymer for 3500/3500xL

Spektralkalibrierung/Matrixerstellung

Vor der Durchführung der Fragmentlängenanalyse muss zunächst eine Spektralkalibrierung mit dem Matrix Standard DS-30 für das jeweilige Analysegerät durchgeführt werden. Auf diese Weise wird eine Matrix erstellt, die das Überlappen der farbspezifischen Fluoreszenzemissionsspektren korrigiert.

Bitte befolgen Sie strikt die Anweisungen des Matrix-Standard-Herstellers. Die Einhaltung dieser Vorgaben ist entscheidend für die Erstellung einer zuverlässigen Matrix und somit für die präzise Quantifizierung und qualitative Analyse Ihrer Proben. Abweichungen können zu inkorrekten Messergebnissen führen.

Probenvorbereitung

Komponente	Volumen
Hi-Di™ Formamide	12.0 µL
DNA Längenstandard 550 (ROX)	0,5 µL
12 µL Gemisch (Formamid + DNA Längenstandard 550) für alle Proben vorlegen	
1 µL PCR-Produkt (ggf. verdünnt) oder Alleleiter zugeben	
- 3 min bei 95 °C denaturieren	
- abkühlen auf 4 °C und zur Analyse in das Gerät stellen	

Da die Injektion gleichzeitig an allen Kapillaren stattfindet, müssen am Mehrkapillargerät immer 8 oder 24 Proben auf der Platte pipettiert werden. Falls weniger Proben zu messen sind, müssen die entsprechenden Positionen mit 12 µL Hi-Di™ Formamide aufgefüllt werden.

Die Raumtemperatur kann das Laufverhalten der PCR-Produkte an Mehrkapillargeräten stark beeinflussen und bei zu geringer Temperatur zum Auftreten von Doppelpeaks (Split Peaks) führen. Unter Umständen nimmt die Temperatur auch Einfluss auf die Laufgeschwindigkeit der Fragmente. Bitte achten Sie darauf, dass die vom Gerätehersteller empfohlene Arbeitstemperatur eingehalten wird. Optimal sind stabile Raumtemperaturen > 22 °C.

Auswertung

Allgemeine Anweisungen zur automatischen Auswertung können der entsprechenden Anleitung *GeneMapper™ ID/ ID-X Software User's Manual* entnommen werden.

Die Ermittlung der genauen Fragmentlängen der amplifizierten Produkte ist abhängig vom Gerätetyp, von den Elektrophoresebedingungen sowie von dem verwendeten DNA-Längenstandard. Aufgrund der Komplexität einiger STR-Loci sollten möglichst viele, gleichmäßig verteilte Referenzpunkte zur Längenbestimmung herangezogen werden. Hierzu verwenden Sie den DNA-Längenstandard 550 (ROX) mit den Fragmentlängen **50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 190, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380, 400, 425, 450, 475, 500, 525 und 550 bp**.

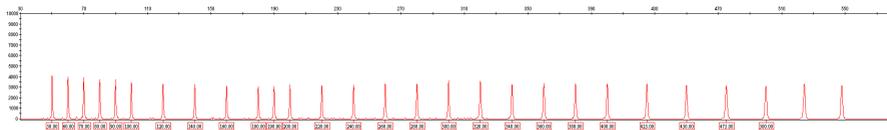


Abb. 1 Elektropherogramm des DNA-Längenstandard 550 (ROX), Fragmentlängen in bp

Anmerkung: Die Grundvorlage des DNA-Längenstandards 550 (ROX) für GeneMapper™ ID/ ID-X Software muss für den Mentype® Nonaplex I auf 400 bp angepasst werden. Die neue Vorlage kann unter dem Namen SST-ROX_50-400bp gespeichert und für weitere Analysen verwendet werden.

BIOTYPE Auswertevorlagen

Die Allelzuordnungen der aufgetrennten PCR-Produkte (Genotyping) kann mit Hilfe geeigneter Auswertungssoftware erfolgen, z. B. mit GeneMapper™ ID oder ID-X Software in Kombination mit Mentype® Nonaplex I Auswertevorlagen der BIOTYPE. Mentype® Auswertevorlagen (Template Files) für GeneMapper™ ID oder ID-X Software finden Sie auf unserer Homepage (www.biotype.de) zum Download oder auf Anfrage durch support@biotype.de.

Die empfohlenen BIOTYPE Vorlagen für die GeneMapper™ ID/ID-X Software sind:

Panels	Nonaplex_I_Panels_v3/v3x	oder höhere Version
BinSets	Nonaplex_I_Bins_v3/v3x	oder höhere Version
Size Standard	SST-ROX_50-500bp (bis 400bp anpassen, Einstellung zuvor beschrieben)	
Analysis Method	Analysis_HID_Nonal	
	Analysis_HID_Nonal_50rfu	
Plot Settings	Plots_4dyes	
Table Settings	Table for 2 Alleles	
	Table for 10 Alleles	

Die Panels und BinSets müssen immer verwendet werden, die weiteren Auswertevorlagen sind optional.

Stutter* Nonaplex_I_Stutter_v3X oder höhere Version

* Beim Laden der oben genannten Panels werden die Stuttereinstellungen nicht akzeptiert, die Stutterdatei muss daher extra importiert werden.

Allgemeine Vorgehensweise bei der Auswertung:

1. Prüfen des Längenstandards (Size Standard)
2. Prüfen der Allelleiter (Allelic Ladder)
3. Prüfen der Positivkontrolle (Positive Control)
4. Prüfen der Negativkontrolle (No Template Control)
5. Probanden auswerten

Kontrollen

Die im Testkit enthaltene Kontroll-DNA XY82 sowie kommerziell erhältliche DNAs repräsentieren folgende Allele:

Tabelle 6 Allelzuordnungen mit Mentype® Nonaplex I

Locus	Kontroll-DNA XY82	Kontroll-DNA XY1	ATCC K-562	CCR 9947A	CCR 9948	CCR 3657
Amelogenin	X / Y	X / Y	X / X	X / X	X / Y	X / Y
D3S1358	16 / 17	17 / 18	16 / 16	14 / 15	15 / 17	16 / 18
D8S1179	8 / 14	9 / 10	12 / 12	13 / 13	12 / 13	15 / 16

Locus	Kontroll-DNA XY82	Kontroll-DNA XY1	ATCC K-562	CCR 9947A	CCR 9948	CCR 3657
D18S51	13 / 16	12 / 14	15 / 16	15 / 19	15 / 18	12 / 20
D21S11	30 / 31	27 / 28	29 / 30 / 31	30 / 30	29 / 30	28 / 29
FGA	22 / 26	20 / 26	21 / 24	23 / 24	24 / 26	18 / 23
SE33	27.2 / 28.2	17 / 21.2	26.2 / 28.2	19 / 29.2	23.2 / 26.2	22.2 / 27.2
THO1	6 / 9	6 / 9.3	9.3 / 9.3	8 / 9.3	6 / 9.3	7 / 9.3
vWA	15 / 17	15 / 18	16 / 16	17 / 18	17 / 17	14 / 19

In der Tabelle sind die Allele von Referenz-DNA aufgezeigt, die bei ATCC (<http://www.atcc.org/Products/PurifiedDNA.cfm#celllines>) bzw. bei Coriell Cell Repositories (CCR; <http://locus.umdj.edu/nigms>) erhältlich sind. Damit wird den Anforderungen von Szibor et al. (2003) entsprochen.

Interpretation der Ergebnisse

Durch die vorher beschriebene Auswertung mit automatischer Allelzuordnung wird eine genaue und zuverlässige Unterscheidung der Allele gewährleistet.

Überstrahlungen (Pull-up Peaks)

Es kann zu Überstrahlungen zwischen den Farbpanels kommen, wenn eine ungeeignete Matrix für die Analyse verwendet wurde oder die Peakhöhen außerhalb des linearen Detektionsbereiches, z. B. größer 10.000 RFU (Applied Biosystems™ 3500 Genetic Analyzer) liegen. Diese erscheinen an der gleichen Position wie spezifische Peaks in anderen Farbpanels (in der Regel mit niedrigeren Signalintensitäten). Um Überstrahlungen zwischen den Farbpanels zu vermeiden, sollten die Peakhöhen daher besagte Grenzwerte nicht wesentlich überschreiten.

Stotterbanden (Stutter Peaks)

Das Auftreten von Stotterbanden hängt von der Sequenz und Anzahl der Wiederholungseinheiten ab. Bei Tetranukleotid STR Motiven entstehen durch Fehler der Taq DNA Polymerase während der PCR n-4 Peaks, d. h. der Stutterpeak ist 4 Basen kleiner als das wahre Allel. Wiederholungseinheiten werden innerhalb des STR übersprungen. Zur Bewertung der Peaks gelten die Vorgaben der Template Files für die GeneMapper™ ID oder ID-X Software.

Template-unabhängige Anheftung von Nukleotiden

Die Taq DNA Polymerase hängt aufgrund ihrer terminalen Transferase-Aktivität bevorzugt ein Adenosin an das 3'-Ende des amplifizierten DNA-Fragments an. Wenn dem PCR-System nicht genügend Zeit für die Extension zur Verfügung steht oder wenn die Primersequenzen die Extension nicht begünstigen, findet diese Anheftung nicht statt. Dieses Artefakt ist durch das Auftreten eines um eine Base verkürzten Fragments (- 1 Peak) erkennbar. Alle Biotype Primer sind so gestaltet, dass diese Artefaktbildung minimiert wird. Zusätzlich wird die Bildung des Artefakts durch den abschließenden Extensionsschritt im PCR-Protokoll (68 °C für 60 min) reduziert. Die Peakhöhe des Artefakts nimmt bei hohen DNA-Mengen zu. Zur Bewertung der Peaks sollte jedes Analyselabor hierfür eigene Grenzwerte festlegen.

Artefakte

Die Raumtemperatur kann das Laufverhalten der PCR-Produkte an Kapillargeräten stark beeinflussen und bei zu geringer Temperatur zum Auftreten von Schultern oder Doppelpeaks (Split Peaks) führen. Sollten diese Effekte beobachtet werden, empfehlen wir eine erneute Injektion der Proben.

Referenzen

Bär W, Brinkmann B, Budowle B, Carracedo A, Gill P, Lincoln P, Mayr W, Olaisen B (1997) DNA recommendations. Further report of the DNA Commission of the ISFG regarding the use of short tandem repeat systems. *Int. J. Legal Med.* 110: 175-176.

Szibor R, Edelmann J, Hering S, Plate I, Wittig H, Roewer L, Wiegand P, Cali F, Romano V, Michael M (2003) Cell line DNA typing in forensic genetics – the necessity of reliable standards. *Forensic Sci. Int.* 138: 37-43.

Symbole



Hersteller



Chargenbezeichnung



Ausreichend für <N> Tests



Hinweis auf die eIFU



Verwendbar bis



Temperaturbegrenzung



Artikelnummer

RUO Nur für wissenschaftliche Anwendungen – nicht für
medizinische Diagnostik



Vor Licht schützen



Trocken aufbewahren

Weitere in diesem Handbuch verwendete Bezeichnungen:



Nützliche Tipps



Achtung, beachten Sie unbedingt diesen Hinweis!

[Blau
unterstrichener
Text](#)

Links, die zu externen Inhalten wie Homepages oder
E-Mail-Adressen führen

Schwarz
unterstrichener
Text

Querverweise im Dokument zur einfachen
Navigation

Anhang

Elektropherogramme von Referenzproben

Die in Tabelle 7 bis Tabelle 9 angegebenen Werte für Fragmentlängen einzelner Allele beziehen sich auf den DNA-Längenstandard 550 (ROX) und die Messung am Applied Biosystems™ 3130 Genetic Analyzer mit POP-4 Polymer. Unterschiedliche Analysegeräte, DNA-Längenstandards oder Polymere können zu anderen Fragmentlängen führen. Es wird empfohlen, bei jedem Lauf einen visuellen Abgleich mit der entsprechenden Allelleiter vorzunehmen.

Skalierung

Horizontal: 75-405 bp

Vertikal: nach Signalintensität der Proben



Abb. 2 Elektropherogramm des Mentype® Nonaplex I unter Verwendung von 500 pg Kontroll-DNA XY82. Die Analyse erfolgte am Applied Biosystems™ 3500 Genetic Analyzer mit dem DNA-Längenstandard 550 (ROX). Die Allelzuordnung wurde mit der Genotyper® Software und dem Mentype® Nonaplex I Template File durchgeführt.

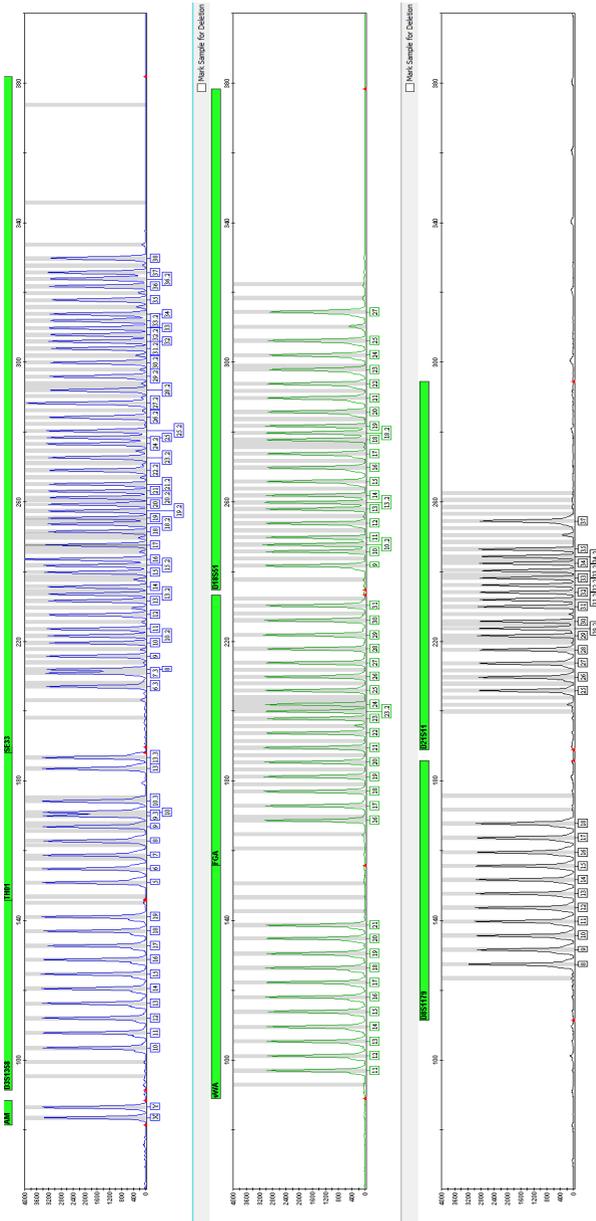


Abb. 3 Elektropherogramm der Allelleiter Mentype® Nonaplex I analysiert am Applied Biosystems™ Genetic Analyzer. Die Allelzuordnung wurde mit der GeneMapper™ ID-X Software und dem Mentype® Nonaplex I Template File durchgeführt.

Tabelle 7 Fragmentlängen der Alleleiter Mentype® Nonaplex I gemessen am Applied Biosystems™ 3130 Genetic Analyzer (blaues Panel)

Marke/ Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**	Marker/ Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**	Marker/ Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**
Amelogenin	6-FAM		SE33	6-FAM		SE33	6-FAM	
X	83		6.3	207	4.2, 5.3	25	278	
Y	86		7.3	211	7	25.2	280	
			8	212	8.2	26.2	283	26
D3S1358	6-FAM		9	215	9.2	27.2 [‡]	287	27
10	104	8, 9	10	219		28.2	291	28, 28.3
11	108		10.2	221		29.2	295	29
12	112		11	223	11.2	30.2	299	30
13	117		12	227	12.2	31.2	303	
14	121		13	231		32	305	
15	125		13.2	233	13.3	32.2	307	
16	130		14	235	14.2, 14.3	33	309	
17	134		15	239		33.2	311	
18	138		15.2	241		34	313	34.2
19	142	20	16 [‡]	243	16.2, 16.3	35	317	35.2
			17	247	17.2, 17.3	36	321	
TH01	6-FAM		18	251		36.2	323	
5	152	4	18.2	253	18.3	37	325	37.2, 39, 42
6	155	6.3	19	255		38	329	49
7	159	7.3	19.2	257				
8	163	8.3	20	259	20.1			
9	167	9.1	20.2	261				
9.3	170		21	262				
10	171		21.2	264				
10.3	174	11	22.2	268	22			
13	184		23.2	272	23			
13.3	187		24.2	276	24			

[‡] Diese Allele werden zur besseren Orientierung innerhalb der Alleleiter verstärkt dargestellt.
* gerundet auf ganze Zahlen

Marke/ Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**	Marker/ Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**	Marker/ Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**
** Diese „off-ladder“ Allele des BIOTYPE DNA Pools werden mit den aktuellen BIOTYPE Template Files für die GeneMapper™ ID/ ID-X Software zugeordnet. Für weitere Allele siehe u.a. http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str_fact.htm								

Tabelle 8 Fragmentlängen der Allelleiter Mentype® Nonaplex I gemessen am Applied Biosystems™ 3130 Genetic Analyzer (grünes Panel)

Marker/ Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**	Marker/ Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**	Marker /Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**
vWA	HEX		FGA	HEX		D18S5 1	HEX	
11	98	10	16	170	14, 15, 16.1	9	243	8, 9.2
12	102		17	174		10	247	
13	106		18	178	18.2	10.2	249	
14	110		19	182	19.2	11	251	11.2
15	115		20	187	20.2	12	255	12.2
16	119		21	191	21.2	13	259	
17	123		22	195	22.2	13.2	261	
18	128		23	199		14	263	14.2
19	132		23.2	201	23.3	15	267	
20	136		24	203	24.1, 24.2	16	271	16.2
21	140	22, 23, 24	25	207	25.2	17	275	17.2, 17.3
			26	211	26.2	18	279	
			27	215		18.2	281	
			28	219		19	283	19.2
			29	223		20	287	
			30	228	30.2	21	291	21.2
			31	232	31.2	22	295	
						23	299	23.1
						24	303	
						25	308	26
						27	316	28, 29

* gerundet auf ganze Zahlen

** Diese „off-ladder“ Allele des BIOTYPE DNA Pools werden mit den aktuellen BIOTYPE Template Files für die GeneMapper™ ID/ ID-X Software zugeordnet. Für weitere Allele siehe u.a. http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str_fact.htm

Tabelle 9 Fragmentlängen der Allelleiter Mentype® Nonaplex I gemessen am Applied Biosystems™ 3130 Genetic Analyzer (gelbes Panel)

Marker/Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**	Marker/Allel	Größe [bp]*	Weitere Allele**
D8S1179	NED		D21S11	NED	
8	129	7	25	206	23.2, 24, 24.2, 25.2
9	133		26	210	26.2
10	137		27	214	
11	141		28	218	28.2, 28.3
12	145		29	222	
13	149		29.2	224	29.3
14	153		30	226	30.2
15	157		31	231	
16	161		31.2	233	
17	165		32	235	
18	169	19, 20	32.2	237	
			33	239	33.1
			33.2	241	
			34	243	34.1
			34.2	245	
			35	247	35.2, 36, 36.2
			37	255	37.2, 38, 38.2, 39

* gerundet auf ganze Zahlen

** Diese „off-ladder“ Allele des BIOTYPE DNA Pools werden mit den aktuellen BIOTYPE Template Files für die GeneMapper™ ID/ ID-X Software zugeordnet. Für weitere Allele siehe u.a. http://www.cstl.nist.gov/biotech/strbase/str_fact.htm

BIOTYPE GmbH

Moritzburger Weg 67
01109 DRESDEN, GERMANY
Tel.: +49 351 8838 400
Fax: +49 351 8838 403
www.biotype.de

Bestellung

sales@biotype.de

Kundenservice & Support

support@biotype.de

