

## Allgemeines MLPA-Protokoll

### Benötigte Komponenten

Name	Kat.-Nr	Bestandteile
SALSA® MLPA® probemix	Siehe Produktbeschreibung des Probemixes	Synthetische Oligonukleotide, Oligonukleotide aus einem nicht-pathogenen Bakterienstamm, Tris-HCl und EDTA



Zu verwenden mit:

- [SALSA® MLPA® Reagenzien-Kit](#) (Kat. Nr.: EK1-FAM, EK1-CY5, EK5-FAM, EK5-CY5, EK20-FAM)
- [Datenanalysesoftware Coffalyser.Net™](#) (Kat. Nr.: n.a.)

Für bestimmte Anwendungen kann verwendet werden mit:

Name	Kat.-Nr	Bestandteile
SALSA-Binning®/Referenzauswahl/Künstliche Duplikations-DNA	SDXXX	Tris-HCl, EDTA, Synthetische/Kontroll Plasmid-DNA, humane genomische DNA (weiblich), Zelllinien-DNA

### Lagerung und Haltbarkeit der Komponenten

Empfohlene Bedingungen		
------------------------	--	--

Eine Haltbarkeit bis zum Verfallsdatum ist garantiert, auch nach dem Öffnen, bei Lagerung in der Originalverpackung unter empfohlenen Bedingungen. Das genaue Verfallsdatum ist auf den Vial-Etiketten angegeben. Die Produkte sollten nicht mehr als 25 Gefrier-Auftau-Zyklen erfahren. Verwenden Sie die Produkte nicht, wenn die Verpackung bei der Ankunft beschädigt oder geöffnet wurde. Bewahren Sie die Produkte in den Originalbehältern auf. Die Entsorgung von Abfällen muss in Übereinstimmung mit den nationalen und lokalen Vorschriften erfolgen.

### Sicherheit von Komponenten

Keiner der Inhaltsstoffe stammt von Menschen, Tieren, pathogenen Bakterien oder pathogenen Viren. Aufgrund der vorliegenden Konzentrationen sind keine der Inhaltsstoffe als gefährlich im Sinne des Hazard Communication Standard eingestuft. Für diese Produkte [ist kein Sicherheitsdatenblatt \(SDB\) erforderlich](#): Keine der Präparationen enthält gefährliche Stoffe in Konzentrationen, die die Abgabe eines SDB erfordern (gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 [EU-GHS/CLP] und 1907/2006 [REACH] und Änderungen). Bei Verschütten reinigen Sie die betroffenen Stellen mit Wasser und befolgen Sie die entsprechenden betrieblichen Sicherheitsvorschriften.

### Assay-Prinzip (MLPA)

SALSA® MLPA® ist eine semi-quantitative Methode, die auf der Amplifikation von bis zu 60 Sonden basiert, von denen jede eine bestimmte DNA-Sequenz detektiert. Die Technik beginnt mit der Denaturierung der DNA-Probe (siehe Abbildung 1 unten). Anschließend wird eine Mischung von MLPA-Sonden zugegeben, wobei jede Sonde aus zwei oder drei Oligonukleotiden besteht. Wenn die Hybridisierung aller Oligos mit der DNA-Probe abgeschlossen ist, werden die an die DNA-Probe gebundenen Sonden ligiert. Alle ligierten Sonden werden mit einem universellen PCR-Primerpaar amplifiziert, wobei einer der Primer fluoreszenzmarkiert ist. Dies erzeugt eine Reihe von PCR-Amplikons, die für jede Sonde einzigartig sind und jeweils eine charakteristische Länge haben. Anschließend werden die Amplikons auf einem Kapillarelektrophorese-Instrument nach Länge getrennt. Das resultierende sondenspezifische Elektropherogramm wird mittels Coffalyser.Net analysiert. Durch den Vergleich des Elektropherogramms einer Probe mit dem eines Satzes von Referenzproben kann die Anzahl der genomischen Zielsequenzen in der untersuchten Probe bestimmt werden.

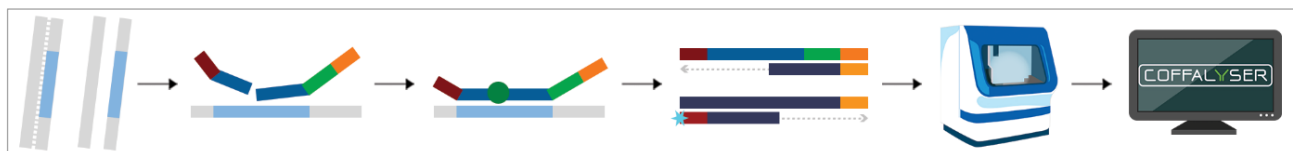


Abbildung 1. MLPA-Arbeitsablauf

### Benötigte, aber nicht zur Verfügung gestellte Materialien

- Ultrapures Wasser
- TE0.1 (10 mM Tris-HCl, pH 8,0 + 0,1 mM EDTA)
- Kalibrierter Thermocycler mit beheiztem Deckel (99-105°C) und Standard-Laboraausstattung
- 0,2 ml PCR-Tubes/-Strips/-Platten
- Kapillarelektrophorese-Instrument, das unter denaturierenden Bedingungen arbeitet und über eine Software zur Fragmentanalyse verfügt; weitere Details finden Sie in [diesem Hilfe-Center-Artikel](#)
- Hochwertiges Formamid
- Fluoreszenzmarkierter Größenstandard: Applied Biosystems GeneScan™ 500 LIZ/® ROX™; SCIEX CEQ™ DNA Größe Standard Kit - 600
- Gelpolymer: POP-1, POP-4 oder POP-7 (Applied Biosystems); GenomeLab™ Lineares Polyacrylamid-Denaturierungsgel (SCIEX); Spectrum Compact Polymer4 (Promega); Hitachi DS3000 Polymer4 (Hitachi)

### Probenanforderungen

50-250 ng humane DNA (sofern nicht anders angegeben), extrahiert aus dem in der Probemix-Produktbeschreibung angegebenen Gewebe. DNA-Proben sollten 5-10 mM Tris-HCl-Puffer mit einem pH-Wert von 8,0-8,5 enthalten.

Empfohlene Extraktionsmethoden:

- QIAGEN Autopure LS (automatisiert) und QIAamp DNA mini/midi/maxi kit (manuell)
- Promega Wizard Genomic DNA Purification Kit (manuell)
- Aussalzen (manuell)

### Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

#### Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

1. Verwenden Sie das Produkt nicht, wenn es beschädigt oder abgelaufen ist.
2. Nur für den professionellen Gebrauch. Der Assay sollte von Fachpersonal durchgeführt werden, das in molekularbiologischen Techniken geschult ist.
3. Eine interne Validierung jedes Assays ist erforderlich, insbesondere bei der erstmaligen Anwendung oder bei Änderungen des Probenhandling, der DNA-Extraktionsmethode oder der verwendeten Instrumente. Verwenden Sie  $\geq 16$  verschiedene DNA-Proben gesunder Individuen. Die Validierung sollte für jede Sonde eine Standardabweichung von  $\leq 0,10$  ergeben, sofern in der Probemix-Produktbeschreibung nichts anderes beschrieben ist.
4. Die für die Ergebnisinterpretation verantwortliche Person sollte sich über den neuesten Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse zur Anwendung und über etwaige Einschränkungen der MLPA-Technik, die zu falschen Ergebnissen führen könnten, im Klaren sein.
5. Coffalyser.Net sollte für die Datenanalyse verwendet werden. Die Verwendung anderer Software kann zu falschen Ergebnissen führen.
6. Überprüfen Sie stets die Qualitätsscores, bevor Sie die Ergebnisse interpretieren. Nur Ergebnisse von Proben mit guten Qualitätsscores können zuverlässig ausgewertet werden.
7. Offensichtliche homozygote Deletionen sollten durch eine visuelle Untersuchung des Elektropherogramms bestätigt werden, um falsche Ergebnisse auszuschließen, die durch Binning-Probleme oder niedrige Signale verursacht wurden.
8. MLPA-Ergebnisse sollen in Verbindung mit anderen klinischen und diagnostischen Befunden verwendet werden, die mit den professionellen Praxisstandards übereinstimmen, einschließlich der Bestätigung durch alternative Methoden, der elterlichen Untersuchung, der klinisch-genetischen Bewertung und gegebenenfalls der Beratung. Die Ergebnisse der Tests sollten von einem

klinischen Molekulargenetiker oder einer gleichwertigen Fachperson interpretiert werden.

#### Vorsichtsmaßnahmen zur Probenqualität

9. Eine DNA-Depurinierung, die durch eine unzureichende Pufferkapazität der DNA-Probe verursacht wird, kann zu falschen Ergebnissen führen. Falls unklar ist, ob ausreichend Puffer vorhanden ist, Tris-HCl hinzufügen: 4  $\mu$ l DNA-Probe + 1  $\mu$ l 50 mM Tris-HCl pH 8,5.
10. Verunreinigungen, die nach der DNA-Extraktion verbleiben, einschließlich Salze, Heparin, EDTA ( $>1,5$  mM) und Eisen, können die Assay-Leistung beeinflussen.
11. Salz in DNA-Proben kann zu einer unvollständigen Denaturierung führen. Dies kann zu scheinbaren Deletionen führen, auch von mehreren Sonden, die benachbarte genomische Zielsequenzen erkennen. QIAGEN M6-, M48- und M96-Systeme dürfen nicht verwendet werden, da diese zu viel Salz hinterlassen. Für QIAGEN EZ1 beachten Sie das [QIAGEN Supplementary Protocol](#) für MLPA.
12. Konzentrieren Sie die DNA nicht durch Verdunstung oder SpeedVac; dies führt zu hohen EDTA- und Salzkonzentrationen.

#### Vorsichtsmaßnahmen bei der Ausführung

13. Verwenden Sie niemals mehr als 5  $\mu$ l DNA-Lösung pro Reaktion. Die benötigte DNA-Menge ist in der Probemix-Produktbeschreibung angegeben.
14. Mischen Sie keine verschiedene Chargen des MLPA-Probemixes.
15. Verdunstung, die zu einer Erhöhung der Konzentration von Verunreinigungen und Salzen führen kann, kann während der Übernacht-Hybridisierung oder beim Pipettieren des Ligations-Mastermixes auftreten. Um Verdunstung zu vermeiden oder zu reduzieren:
  - a. Verwenden Sie eine Mehrkanalpipette, um die Handhabungszeit zu verkürzen.
  - b. Stellen Sie sicher, dass der beheizte Deckel ordnungsgemäß funktioniert.
  - c. Erhöhen oder verringern Sie den Druck des beheizten Deckels;
  - d. Versuchen Sie, unterschiedliche Reaktionsgefäße zu verwenden;
  - e. Geben Sie einen kleinen Tropfen Mineralöl auf die DNA-Probe, um die Flüssigkeitsoberfläche zu bedecken.
16. Ersetzen Sie Kapillaren und Polymer regelmäßig. Das Polymer verschlechtert sich bei längerer Einwirkung von  $>25$  °C. Wenn die Peaks des Größenstandards wiederholt niedrig und breit sind, können sich die Kapillaren oder das Polymer verschlechtern.
17. Formamid kann sauer werden, was beim Erhitzen zu einer Depurinierung und Fragmentierung von PCR-Produkten führt. Verwenden Sie hochwertiges Formamid und lagern Sie es in Aliquoten bei -20°C.
18. Das Volumen des PCR-Produkts sollte niemals  $>10$  % der gesamten Injektionsmischung betragen. Wenn die Peaks niedrig sind, erhöhen Sie die Injektionszeit und/oder die Spannung – fügen Sie kein weiteres PCR-Produkt hinzu.
19. Falsche Ergebnisse können auftreten, wenn ein oder mehrere Peaks außerhalb des Messbereichs liegen. Das Risiko von Off-Scale-Peaks ist höher, wenn Probemixe verwendet werden, die eine relativ geringe Anzahl von Sonden enthalten. Um das Signal zu reduzieren, verwenden Sie die PCR-Produkte erneut mit:
  - a. Niedrigerer Injektionsspannung / kürzerer Injektionszeit;
  - b. Einer reduzierten Menge an PCR-Produkten.
20. Eine Kontamination von DNA-Proben mit cDNA- oder PCR-Amplikons einzelner Exons kann zu einem erhöhten SONDENSIGNAL führen. Die Analyse einer zweiten,

unabhängig entnommenen und isolierten DNA-Probe kann diese Kontaminationsartefakte ausschließen.

**Anwendungsspezifische Vorsichtsmaßnahmen**

Siehe Probemix-Produktbeschreibung.

**Arbeitsablauf Teil I – MLPA-Reaktion**

Anweisungen	Thermocycler-Programm
<b>1. DNA-Denaturierung</b>	
1.1 0,2 ml Tubes/Strips/Platten beschriften.	98°C für 5 min
1.2 Geben Sie 5 µl DNA-Probe oder TE (No-DNA-Kontrolle) in jedes Tube.	25°C Pause
1.3 Tubes in den Thermocycler stellen, 5 Minuten bei 98 °C erhitzen, auf 25 °C abkühlen lassen.	
<b>2. Hybridisierung</b>	
2.1 MLPA Buffer und MLPA Probemix auftauen, kurz vortexen und zentrifugieren. Bei Raumtemperatur pipettieren.	95°C für 1 min
2.2 Hybridisierungs-Mastermix vorbereiten. Für eine Reaktion*: ● MLPA Puffer: 1,5 µl ● MLPA Sondenmix: 1,5 µl Durch Vortexen oder Pipettieren gut mischen.	60°C Pause (16-20 h)
2.3 3 µl <b>HYBRIDISIERUNGS-MASTERMIX</b> in jedes Tube geben. Genaues Pipettieren ist in diesem Schritt unerlässlich! Durch Pipettieren mischen.	
2.4 Die Tubes in den Thermocycler stellen, 1 Minute bei 95 °C inkubieren und 16-20 Stunden lang bei 60 °C hybridisieren.	
<b>3. Ligation</b>	
3.1 Ligase-Puffer A und Ligase-Puffer B auftauen, kurz vortexen und zentrifugieren. Bei Raumtemperatur pipettieren. Ligase-65 10 Sekunden lang in den Händen erwärmen. Nicht vortexen, nur kurz zentrifugieren.	54°C Pause
3.2 Bereiten Sie den <b>Ligase-65 Mastermix</b> ** vor. Für eine Reaktion*: ● Ultrapures Wasser: 25 µl ● Ligase-Puffer A: 3 µl ● Ligase-Puffer B: 3 µl ● Ligase-65: 1 µl, zuletzt zugegeben. Gut mischen, indem Sie vorsichtig auf und ab pipettieren, nicht verwirbeln.	54°C für 15 min
3.3 Setzen Sie das Thermocycler-Programm fort und kühlen Sie die Tubes auf 54 °C ab.	98°C für 5 min
3.4 Bei 54 °C öffnen Sie die Tubes <b>im Thermocycler</b> , geben Sie 32 µl <b>LIGASE-65 MASTERMIX</b> in jedes Tube, mischen Sie gut durch Pipettieren, schließen Sie die Tubes und inkubieren Sie 15 Minuten lang bei 54 °C.	20°C Pause
3.5 Auf 98°C erhitzen und 5 Minuten inkubieren, um die Ligase zu inaktivieren, auf 20°C abkühlen.***	
<b>4. PCR</b>	
4.1 PCR Primer auftauen, mischen, kurz vortexen und zentrifugieren. Polymerase 10 Sekunden in den Händen erwärmen, nicht vortexen, nur kurz zentrifugieren.	35 PCR-Zyklen:
4.2 Bereiten Sie den <b>POLYMERASE-MASTERMIX VOR</b> . Für eine Reaktion*: ● Ultrapures Wasser: 7,5 µl ● PCR-Primer-Mix: 2 µl ● Polymerase: 0,5 µl Gut mischen, indem Sie auf und ab pipettieren, nicht vortexen.	● 95°C für 30 s ● 60°C für 30 s ● 72°C für 60 s
4.3 Bei 20 °C 10 µl <b>POLYMERASE-MASTERMIX</b> in jedes Tube geben, durch Pipettieren gut mischen und sofort mit dem PCR-Programm fortfahren.	72°C für 20 min
4.4 Um eine Kontamination zu vermeiden, öffnen Sie nach der PCR die Tubes nicht im selben Raum und verwenden Sie eine andere Mikropipette, um die PCR-Produkte zu handhaben.	15°C Pause
4.5 Lagern Sie PCR-Produkte lichtgeschützt bis zu 1 Woche bei 4 °C oder länger zwischen -25 °C und -15 °C.	

\*Um Probenvariationen zu minimieren, bereiten Sie ausreichend große Volumina der Mastermix-Lösungen vor: 5-10 % Volumenzuschlag.

\*\*Bei vorheriger Zubereitung (nicht länger als 1 Stunde vor Gebrauch) lagern Sie Mastermixe auf Eis oder bei 4 °C und erwärmen Sie sie auf Raumtemperatur, bevor Sie sie in die Tubes geben.

Wenn die Tubes für die PCR in ein separates Labor gebracht werden, heizen Sie den Thermocycler für die PCR vor, z. B. 1 Sekunde lang auf 95 °C und anschließend auf 20 °C pausieren. Minimieren Sie die Transferzeit (z.B. <5 min), legen Sie die Tubes in den Thermocycler und fahren Sie mit Schritt 4.1 fort. Dadurch wird die unspezifische Peakbildung minimiert.

**Arbeitsablauf Teil II – Fragmenttrennung**

1. Injektionseinstellungen für häufig verwendete Kapillarelektrophorese-Geräte, die von Coffalyser.Net unterstützt werden	
Label des PCR-Primers: FAM	
ABI SeqStudio	Kapillaren: 28 cm <b>Injektionsmischung:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR-Produkt 0,8 µl</li> <li>• GS500 Size Standard 0,3 µl (ROX/LIZ)</li> <li>• HiDi Formamid 12 µl</li> </ul> Injektionsplatte verschließen, 3 Minuten bei 86 °C erhitzen, 2 Minuten auf 4 °C abkühlen lassen.
ABI Prism 3100 ABI 3130 (xL) ABI 3500 (xL) ABI 3730 (xL) ABI SeqStudio Flex RUO/Dx	Kapillaren: 36 oder 50 cm <b>Injektionsmischung:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR-Produkt 0,7 µl</li> <li>• GS500 Size standard 0,3 µl (ROX) oder 0,2 µl (LIZ)</li> <li>• HiDi Formamid 9 µl</li> </ul>
Hitachi DS3000*	Injektionsplatte verschließen, 3 Minuten bei 86 °C erhitzen, 2 Minuten auf 4 °C abkühlen lassen.
Promega Spectrum Kompakt*	*Nur 36 cm Kapillaren.
Label des PCR-Primers: Cy5	
SCIEX CEQ 2000 SCIEX CEQ 8000 SCIEX CEQ 8800 SCIEX GenomeLab GeXP	Kapillaren: 33 cm <b>Injektionsmischung:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• PCR-Produkt 1 µl</li> <li>• SS600 Size Standard 0,5 µl</li> <li>• HiDi Formamid / Beckman SLS 28,5 µl</li> </ul> Fügen Sie 1 Tropfen hochwertiges Mineralöl hinzu.
2. Elektrophorese-Einstellungen	
Verwenden Sie die Standardeinstellungen für die Fragmentanalyse, die für die Anwendung, das Gerät, Polymer und Kapillarlänge geeignet sind. Die Geräteeinstellungen müssen möglicherweise optimiert werden, um sicherzustellen, dass die Signale innerhalb des optimalen Nachweisbereichs liegen und dass der Lauf lang genug ist, um alle Fragmente zu erkennen. Die optimalen Signalbereiche (in RFU) und die minimalen/maximalen Signale pro Gerät finden Sie im <a href="#">Coffalyser.Net Reference Manual</a> .	

**Qualitätskontrolle und Datenanalyse**



Für die Qualitätskontrolle und Datenanalyse sollte die neueste Version von Coffalyser.Net™ (herunterladbar von der [Website von MRC Holland](#)) verwendet werden. Detaillierte Anweisungen finden Sie im [Referenzhandbuch für Coffalyser.Net](#).

Siehe auch diese Artikel in unserem Hilfe-Center:

- [Erläuterung zu Mengen- und Denaturierungskontrollfragmenten](#)
- [Informationen zu No-DNA-Kontrollen](#)

Weitere Hilfe bei der Fehlerbehebung finden Sie auf den Seiten zur Fehlerbehebung im [Hilfecenter von MRC Holland](#).

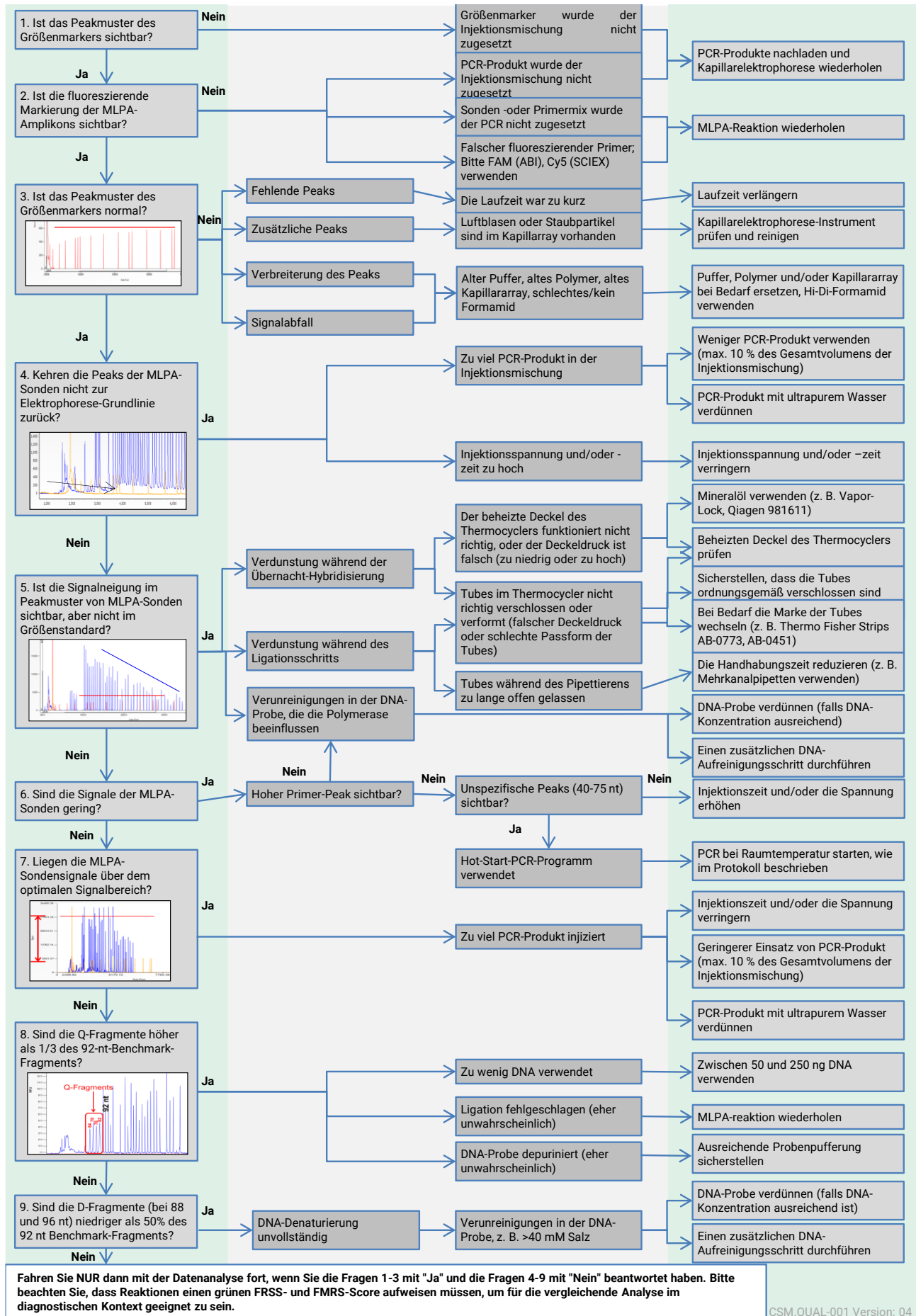
**Interpretation und Bestätigung von Ergebnissen & Leistungsmerkmalen**

Anwendungsabhängig; siehe Probemix-Produktbeschreibung.

**Einschränkungen**

1. In den meisten Populationen und bei den meisten MLPA-Anwendungen sind kleine (Punkt-)Mutationen die Hauptursache für genetische Defekte, von denen die meisten von MLPA nicht erkannt werden.
2. MLPA detektiert die meisten Inversionen, balancierten Translokationen oder Änderungen der Kopienzahl nicht, die (teilweise) außerhalb der von einem MLPA-Test erkannten Sequenz liegen.
3. Die analytische Leistung kann durch Verunreinigungen in der DNA-Probe, unvollständige DNA-Denaturierung (z. B. durch Salzkontamination), die Verwendung von unzureichender oder zu großer Menge an DNA, unzureichende oder ungeeignete Referenzproben, Probleme bei der Kapillarelektrophorese oder ein schlechtes Datennormalisierungsverfahren und andere technische Fehler beeinträchtigt werden.
4. Geringfügige Unterschiede in der experimentellen Ausführung können das MLPA-Peakmuster beeinflussen. Nehmen Sie nur Proben in eine Analyse auf, die a) in demselben MLPA-Experiment enthalten waren und b) mit derselben Probenmix-Charge getestet wurden.
5. In manchen Fällen ist die Analyse von Proben der Eltern zur richtigen Ergebnisinterpretation erforderlich.
6. Bestimmte Kopienzahlabweichungen können auf somatische Veränderungen zurückzuführen sein, einschließlich großer Deletionen und Duplikationen ganzer Chromosomen.
7. Kleine Veränderungen (z. B. SNVs, kleine Indels) in der von einer Sonde erfassten Sequenz können zu falsch positiven Ergebnissen führen, selbst wenn sie >20 nt vom Ligationort der Sonde entfernt liegen. Sequenzänderungen können das Sondersignal reduzieren, indem sie die Ligation der Oligonukleotide der Sonde verhindern oder die Bindung eines Oligonukleotids an die DNA-Probe destabilisieren. Durch MLPA detektierte Abweichungen sollten bestätigt werden, und Abweichungen mit einer Sonde müssen immer bestätigt werden. Abweichungen, die nur eine einzelne Sonde betreffen, müssen immer validiert werden. Eine Sequenzierung der Zielregion wird empfohlen.
8. DNA aus Ganzgenom-Amplifikationsreaktionen ist aufgrund von Amplifikationsverzerrungen nicht für MLPA geeignet.
9. MLPA-Tests liefern die *durchschnittliche* Kopienzahl der Zielsequenzen in den Zellen, aus denen die DNA-Probe gewonnen wurde. Falls mehrere Sonden, die auf benachbarte Sequenzen abzielen, einen ungewöhnlichen Wert haben, aber nicht die üblichen Schwellenwerte für eine Deletion/Duplikation erreichen, ist Mosaikismus eine mögliche Ursache. Subtile Veränderungen, wie sie bei Mosaikfällen beobachtet werden, können nur unterschieden werden, wenn die Sonden nach chromosomaler Lokalisation angeordnet werden.
10. Nicht jede Kopienzahländerung, die von MLPA erkannt wird, ist pathogen. MRC Holland kann keine Auskunft darüber geben, ob eine bestimmte Deletion oder Duplikation zu einer Erkrankung führt.

**Fehlerbehebung bei Flussdiagrammen**




CSM.QUAL-001 Version: 04

**Mehr Informationen**

Online-Anleitungsvideo [So führen Sie eine MLPA-Reaktion durch.](#)

Schouten JP et al. (2002). Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 30:e57.

<b>Weitere Informationen</b>	
<a href="http://www.mrcholland.com">www.mrcholland.com</a> ; <a href="mailto:support.mrcholland.com">support.mrcholland.com</a>	
	MRC Holland BV; Willem Schoutenstraat 1 1057 DL, Amsterdam, Niederlande
E-Mail	<a href="mailto:info@mrcholland.com">info@mrcholland.com</a> (Informationen & technische Fragen); <a href="mailto:order@mrcholland.com">order@mrcholland.com</a> (Bestellungen)
Telefon	+31 888 657 200

MRC Holland, SALSA, MLPA, digitalMLPA, Coffalyser.Net, Coffalyser digitalMLPA und ihre Logos sind Marken oder eingetragene Marken von MRC Holland BV. Alle anderen Marken und Namen sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.



<b>Implementierte Änderungen im Protokoll</b>
<p><i>Version 010-DE1 – 21. Mai 2025</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ABI SeqStudio Flex wurde auf Seite 4 in ABI SeqStudio Flex RUO/Dx umbenannt.</li> </ul> <p><i>Version 009 – 21. Mai 2024</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Das Protokoll erhielt eine neue Struktur und ein neues Design.</li> <li>- Tabellen in den SALSA MLPA-Assay-Komponenten wurden durch Verweise auf die Produktbeschreibungen der Komponenten ersetzt.</li> <li>- Abschnitt über Standardverpackungsetiketten entfernt.</li> <li>- Abschnitt über das MLPA-Prinzip neu geschrieben und Abbildung des Arbeitsablaufs verbessert. Abbildung mit Berechnungen entfernt.</li> <li>- Abschnitt Benötigte, aber nicht zur Verfügung gestellte Materialien aktualisiert.</li> <li>- Informationen im Abschnitt Probenaufbereitung und -lagerung neu organisiert. Der Abschnitt wurde gekürzt und in Probenanforderungen umbenannt. Einige Informationen wurden in Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise verschoben.</li> <li>- Der Abschnitt Auswahl von Referenz- und anderen Kontrollproben wurde entfernt, da diese Informationen auch in den Produktbeschreibungen enthalten sind.</li> <li>- Informationen in Kapitel 3 Hinweise, die Sie lesen sollten, bevor Sie beginnen, wurden in den Arbeitsablauf Teil I verschoben.</li> <li>- Informationen in den Kapiteln 5 und 6 (MLPA-Protokoll in Kürze und MLPA-Protokoll) zusammengefasst im Arbeitsablauf Teil I in einem neuen Tabellenformat.</li> <li>- Anweisung entfernt, die Tubes nach der Denaturierung aus dem Thermocycler zu nehmen und sie nach Zugabe von Hybridisierungs-Mastermix wieder einzusetzen.</li> <li>- Anweisung entfernt, die Tubes vor der Zugabe des Polymerase-Mastermixes in den Thermocycler zu legen, da es zuvor keine Anweisung gab, sie herauszunehmen.</li> <li>- Dem Arbeitsablauf Teil I wurde eine Fußnote hinzugefügt, die Anweisungen für die Situation enthält, in der die Tubes für die PCR in ein separates Labor gebracht werden.</li> <li>- Informationen in Abschnitt 7.1. Hinweise, die Sie lesen sollten, bevor Sie beginnen, wurden in Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise verschoben.</li> <li>- Tabelle zu Signalbereichen in Kapillarelektrophorese-Instrumenten in Abschnitt 7.2. durch einen Verweis auf die entsprechende Tabelle im Coffalyser.Net Referenzhandbuch ersetzt.</li> <li>- Informationen in Kapitel 8 (Qualitätskontrolle und Fehlerbehebung) durch Verweise auf das Coffalyser.Net Referenzhandbuch und auf Wissensdatenbankartikel über Kontrollfragmente und No-DNA-Kontrollen ersetzt.</li> <li>- Kapitel 9 (Datenanalyse) durch die Anweisung ersetzt, Coffalyser.Net herunterzuladen und das Coffalyser.Net Referenzhandbuch zu lesen.</li> <li>- Die Informationen in Kapitel 10 (Interpretation und Bestätigung) wurden entweder in Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise, in Einschränkungen verschoben oder entfernt, da sie für bestimmte Anwendungen spezifisch sind.</li> </ul>