

Anlagen

Chemikalien

Ethidiumbromid/Acridinorange - Färbelösung:

- 1.1 Stammlösung: 50 mg Ethidiumbromid (No. 11615, Merck, Darmstadt), 15 mg Acridinorange (No. 15931, Merck, Darmstadt), 49 ml 10% EDTA-Lösung (Carl Roth GmbH, Karlsruhe) in isotonischem Puffer (PBS, bica, Frankfurt/O.)
 Gebrauchslösung: 1 ml Stammlösung + 9 ml PBS (kühl und dunkel gelagert)

Red Cell Lysis Buffer:

- 1.2 Stammlösung: 12,1 g TRIS (Sigma Chemical Co., St. Louis), 10,2 g $MgCl_2$ (Carl Roth GmbH, Karlsruhe), 5,8 g NaCl (Merck, Darmstadt), 5 ml konzentrierte Salzsäure auf 1 l Aqua dest. bei pH = 7,6
 Gebrauchslösung: (1 x RCLB): Stammlösung 1 : 10 mit Aqua dest. verdünnen

Elektrophoreselösung:

- Stammlösung: 108 g (0,9 M) TRIS (Fluka AG, Buchs SG, Schweiz), 55 g (0,9 M) Borsäure (Pharmacia Biotech, Uppsala, Schweden), 40 ml (0,5 M) EDTA mit pH = 8,0 (20 mM EDTA, Carl Roth GmbH, Karlsruhe); Tris-Basis und Borsäure in 700 ml Aqua dest. auflösen, EDTA zugeben und mit Aqua dest. auf 1 l auffüllen
 Gebrauchslösung: (1 x TBE): 50 ml Stammlösung + 975 ml Aqua dest.

Blue-Ethidium-Marker:

- Ethidiumbromid-Lösung: 1 g Ethidiumbromid (No. 11615, Merck, Darmstadt) in 100 ml PBS (bica, Frankfurt/O.)
 Blue Marker: 2 mg Bromphenolblau (Merck, Darmstadt) in 10 ml Ficoll (Dichte = 1,076) (Pharmacia, Uppsala, Schweden)
 Blue Marker und Ethidiumbromid-Lösung (10 mg/ml) im Verhältnis 10 : 1

1.2.1.1 PCR-Lösung:

- 500 μ l 10 x PCR-Puffer (Applied Biosystem, Weiterstadt): 500 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$ (Carl Roth GmbH, Karlsruhe), 100 mM Tris-HCl (pH = 8,3), 0,01% w/v Gelatine)
 250 μ l Glycerol (99%, Endkonzentration 5%, Sigma Chemical Co., St. Louis)
 350 μ l autoklaviertes Aqua dest. (Pharmacia & Upjohn GmbH, Heidelberg)
 je 100 μ l dATP, dCTP, dGTP, dTTP (je 10 mM, Endkonzentration 200 μ M, Applied Biosystems, Weiterstadt)



HISTO TRAY ABC 144

Mikrotestkammern (72) mit vorgetropften HLA-ABC Antisera und Kontrollen (human oder monoklonal) zur Typisierung eines Probanden
 Microtest trays (72) with predropped HLA-ABC anti sera and controls (human or monoclonal) for typing one specimen

Best.-Nr. : 7035
 Cat. No.
 Ch.-B. : 91T241
 Lot No.
 Verw. bis : 31.11.1999
 Exp. Date
 Lagerung : mindestens - 20°C
 Storage : at least
 Kaninchenkompl. Ch.-B.: B3H816
 Rabbit Complement Lot No.
 Verw. bis : 31.12.1999
 Exp. Date

Ergebnisprotokoll/Worksheet

Testdatum/Test Date: _____ Untersucher/Tech: _____
 Name: _____ Vorname/First Name: _____
 Geb. Datum/born: _____ Proben Nr./Specimen No.: _____

A _____ B _____
 Cw _____ Cw _____ Bw _____ Bw _____

Pos. Well	Serum Ch.-B. Lot No.	Anti-HLA	Reaktion Reaction	Pos. Well	Serum Ch.-B. Lot No.	Anti-HLA	Reaktion Reaction
1A	93 H 655	pos. Kontrolle		7A	93 H 596	A32 (25)	
1B	93 H 656	neg. Kontrolle		7B	93 H 595 *	A32	
1C	93 H 809	A1		7C	93 H 510	A32	
1D	93 H 676	A1+36 (80)		7D	92 H 685	A33+34 (66)	
1E	93 H 283	A1 (8 35)		7E	03 H 813	A33	
1F	93 H 349	A2 (28)		7F	93 H 472	A33 1	
2F	93 H 478	A2		8F	03 H 388	A33+31	
2E	93 H 454	A2		8E	93 H 358	A34	
2D	93 H 576	A3		8D	93 H 665	A36	
2C	93 H 675	A3		8C	93 H 588	A36+3+11	
2B	93 H 577	A3		8B	93 H 296	A6601	
2A	93 H 592	A 23		8A	93 H 570	B 51	
3A	93 H 514	A 23		9A	93 H 496	B 51	
3B	93 H 772	A9[23+24]		9B	93 H 643	B5[51+52]	
3C	93 H 593	A 24		9C	93 H 423	B7+81	
3D	93 H 437	A 24		9D	93 H 599	B7+81	
3E	93 H 471	A25		9E	93 H 379	B7+81 (42+67+55)	
3F	93 H 418	A25		9F	93 H 412	B8+59	
4F	93 H 207	A25+26+6601 (34)		10F	92 H 738	B8 (59)	
4E	03 H 053	A 26+66+43		10E	93 H 615	B8	
4D	93 H 339	A 26+6601		10D	93 H 530	B 44 + s.t.e.	
4C	93 H 781	A11		10C	93 H 459 *	B12[44+45]	
4B	93 H 589	A11		10B	93 H 243	B12[44+45]	
4A	93 H 590	A11		10A	93 H 329	B12[44+45]	
5A	93 H 607	A28[68+69]		11A	93 H 616	B 45+76	
5B	93 H 605	A28[68+69]		11B	93 H 468	B13	
5C	92 H 741	A28[68+69]+10+33		11C	93 H 457	B13	
5D	93 H 606	A28[68+69]		11D	93 H 517 *	B 65	
5E	93 H 677	A29+31(30)		11E	93 H 302	B 65	
5F	93 H 333	A29		11F	93 H 617	B14[64+65]	
6F	93 H 416 *	A29		12F	93 H 504 *	B14[64+65] (8)	
6E	03 H 564	A30		12E	93 H 653 **	B62	
6D	93 H 657	A30		12D	93 H 983 *	B62 (63)	
6C	93 H 509	A30+31+74 (33)		12C	92 H 409 *	B62+63 (75, 57)	
6B	93 H 672 *	A30+31+74		12B	93 H 853 *	B 63	
6A	93 H 673 *	A 31		12A	93 H 301	B 63 wk	

Pos. Well	Serum Ch.-B. Lot No.	Anti-HLA	Reaktion Reaction	Pos. Well	Serum Ch.-B. Lot No.	Anti-HLA	Reaktion Reaction
1A	93 H 522	B 38		7A	92 H 758	B41 (60)	
1B	93 H 647	B 38		7B	93 H 855 *	B42	
1C	93 H 584	B16[38+39]		7C	93 H 660	B46	
1D	93 H 555	B16[38+39]		7D	93 H 011	B47+27 (44)	
1E	93 H 487	B 39		7E	93 H 569	B47+44 (49,45)	
1F	93 H 651	B 57		7F	93 H 469	B47+40+13 (41)	
2F	92 H 789	B 57		8F	93 H 694	B47+40	
2E	93 H 697	B17[57+58]+63		8E	92 H 707	B67+55+42 (56,41)	
2D	93 H 357	B17[57+58]		8D	12 H 406	B70+51+52 (49, 18, 53)	
2C	93 H 364	B18		8C	93 H 586	B70+51+52+35+53+18+62	
2B	93 H 648	B18		8B	93 H 776	B70[71+72]+62 (63)	
2A	93 H 568 *	B18+37+47+52 (41, 39)		8A	93 H 578 *	B70[71+72]+62+46	
3A	93 H 415	B 49		9A	93 H 746	B70[71+72]+62 (50)	
3B	93 H 642	B 49 (52)		9B	93 H 328	B70[71+72]+62+75+76+77+57+63	
3C	92 H 736	B21[49+50]		9C	93 H 658	B73+27	
3D	93 H 735	B21[49+50]		9D	93 H 520	B73	
3E	93 H 788	B21[49+50]		9E	92 H 753	B73	
3F	93 H 331	B 55		9F	93 H 729	Cw1+B46	
4F	93 H 771	B 55		10F	93 H 753	Cw1+B46	
4E	93 H 693	B22[54+55+56]+42		10E	92 H 024	Cw2	
4D	93 H 529	B 56		10D	93 H 630	Cw2	
4C	93 H 098	B 56		10C	93 H 527	Cw3+B46	
4B	93 H 769	B27		10B	93 H 631	Cw3	
4A	93 H 512	B27		10A	92 H 937	Cw4	
5A	93 H 397	B35		11A	93 H 367	Cw5	
5B	92 H 733	B35		11B	93 H 730	Cw5	
5C	93 H 775	B35+53		11C	93 H 814	Cw6+4	
5D	93 H 723	B35+53		11D	93 H 669	Cw6	
5E	93 H 701	B37		11E	93 H 444	Cw7	
5F	93 H 700	B37		11F	93 H 574	Cw7	
6F	92 H 833	B 60 (48,81)		12F	93 H 698	Cw8	
6E	93 H 779	B 60+81+48		12E	93 H 854 *	Cw8	
6D	93 H 202	B60+41+50+45 (62,61,70)		12D	03 H 346 *	Bw4 (A 32)	
6C	93 H 042	B40[60+61]+81+48		12C	93 H 760	Bw4 (A 32, 49)	
6B	93 H 341	B40[60+61]		12B	13 H 347 *	Bw6	
6A	93 H 186	B41		12A	93 H 763	Bw6	

Bemerkungen/Remarks:
 s.t.wk = manchmal schwach/sometimes weak + e = extra Reaktion/extra reaction ↓ = carry over possible
 [] = Split-Reaktion/Split-reactions () = kann Reaktion zeigen/may show reactions
 + = monoclonal * = Neues Antiserum oder neue Position/new antiserum or new position

**Ergebnisprotokoll zur serologischen HLA-Typisierung
 (Beispiel: HLA-A,B,C-Typisierung, BAG)**



SPECIFICITY TABLE

Dynal *Classic* SSP

DR "low resolution"

THIS SPECIFICITY TABLE IS VALID FOR BATCH NUMBER B662

Tube No.	Approx. size (bp)	Amplified DRB1* alleles
1	195	0101 - 01022, 0104, 0105
2	200	0103
3	210	15011 - 1508
4	205, 215, 220	16011 - 1608
5	225	03011 - 0310, 0311 ^{weak} , 0312, 1107
6	85	03011, 03012, 0304 - 0306, 0308 - 0312, 1327
7	95	03021 - 0303, 1315, 1319, 1326, 1402, 1403, 1406, 1412, 1413, 1418 - 1420, 1424, 1427, 1429
8	265	04011 - 0432, 1122, 1410
9	230, 215	0701 - 0704
10	215, 220, 165	1415, 0801 - 0821
11	195	09012
12	205	1001
13	170, 180	0308, 0415, 11011 - 1134
14	105	1201 - 1205
15	205	1102, 1114, 1116, 1118 - 1121, 1131, 1301 - 1304, 1306, 1308 - 1310, 1312, 1313, 1315, 1316, 1319, 1322, 1323, 1327, 1328, 1330 - 1334, 1416, 1424
16	205, 215, 195	11011-11042, 1106, 1109-1112, 1114-1116, 1120, 1121, 1123-1125, 1127-1129, 1132, 1133, 12021, 12022, 1301, 1302, 1304, 1305, 13071-1308, 1311, 1314-1324, 1326-1329, 1331, 1332, 1334, 1415, 1416, 1422, 1425, 1427, 0801 - 08022, 08041 - 0809, 0811, 0816, 0817, 0821
17	180	03011 - 0307, 0309, 0311, 0312, 1301 - 1316, 1318 - 1334, 1402, 1403, 1405, 1406, 1409, 1412 - 1414, 1417 - 1421, 1423, 1424, 1427, 1429, 1430
18	210, 200	1113, 1117, 1401, 1404, 1405, 1407, 1408, 1411, 1414, 1418, 1423, 1426, 1428, 1431
19	150, 145	1310, 1402, 1406, 1409, 1413, 1417, 1419 - 1421, 1429, 1430
20	225, 155	1123, 1125, 1313, 1318, 1403, 1412, 1415, 1427, 0809, 0821
21	175	0310, 1401, 1407, 1410, 1416, 1422, 1425, 1426
		Amplified DRB3/4/5* Alleles
31	220	DRB3*01011 - 0105, 0201 - 0208, 0301 - 0303
32	200	DRB4*01011 - 0105
33	265	DRB5*01011 - 0109, 0202 - 0204

Ergebnisprotokoll zur mikrobiologischen HLA-Typisierung mittels PCR-SSP

(Beispiel: HLA-DR-low-resolution-Typisierung, Dynal)

Informationsblatt zur Untersuchung „HLA und Parodontitis“

Sehr geehrte/r Frau/Herr

Im Rahmen einer wissenschaftlichen Studie untersuchen wir, ob ein Zusammenhang zwischen den Merkmalen des HLA-Systems des Menschen und der Neigung zu Entzündungen des Zahnfleisches besteht. Dazu benötigen wir eine Blutprobe von Menschen, die unter solchen Entzündungen leiden bzw. gesundes Zahnfleisch haben, sowie deren Geschlecht und Alter. Der Name wird anonymisiert. Hierzu einige bewußt allgemein verständlich gehaltene Erläuterungen der Begriffe:

Das HLA-System umfaßt mehrere Gruppen an Merkmalen, die blutgruppenartig über die Einzigartigkeit eines jeden Menschen wachen, indem sie die Resistenz und Anfälligkeit gegenüber Krankheiten und Krebs sowie die Abwehrstärken und -schwächen gegenüber Krankheitserregern wesentlich mitbeeinflussen.

Zahnfleiscentzündungen können chronisch oder aggressiv verlaufen und letztlich zu Zahnerkrankungen oder gar zum Zahnausfall führen. Es sind daran neben einer ganzen Reihe anderer Ursachen auch verschiedene Mikroorganismen beteiligt. Das HLA-System könnte einerseits die Anfälligkeit/Abwehrfähigkeit gegenüber pathogenen Mikroorganismen direkt mitbestimmen oder/und andererseits indirekt über das Immunsystem wirkend Krankheiten verhindern.

Diese Studie könnte mit zu einer besseren Kenntnis der Vorgänge beitragen, die Zahnfleiscentzündungen aggressiv werden lassen. Solche Erkenntnisse führen früher oder später zu einer Verbesserung der Gesundheitsvorsorge bzw. Krankheitsbekämpfung.

Durch Ihren Beitrag in Form einer kleinen Blutprobe von 20 ml würden Sie gemeinsam mit uns dazu beitragen, neue Erkenntnisse zu erzielen.

Einverständnisbogen

Hiermit erkläre ich mein Einverständnis, mir zur Bestimmung meiner HLA-Merkmale eine kleine Blutprobe von 20 ml abnehmen zu lassen.

Ich gestatte, meine HLA-Merkmale anonymisiert in einer wissenschaftlichen Studie auswerten zu lassen. Über den Sinn der Studie wurde ich informiert.

Unterschrift

Datum