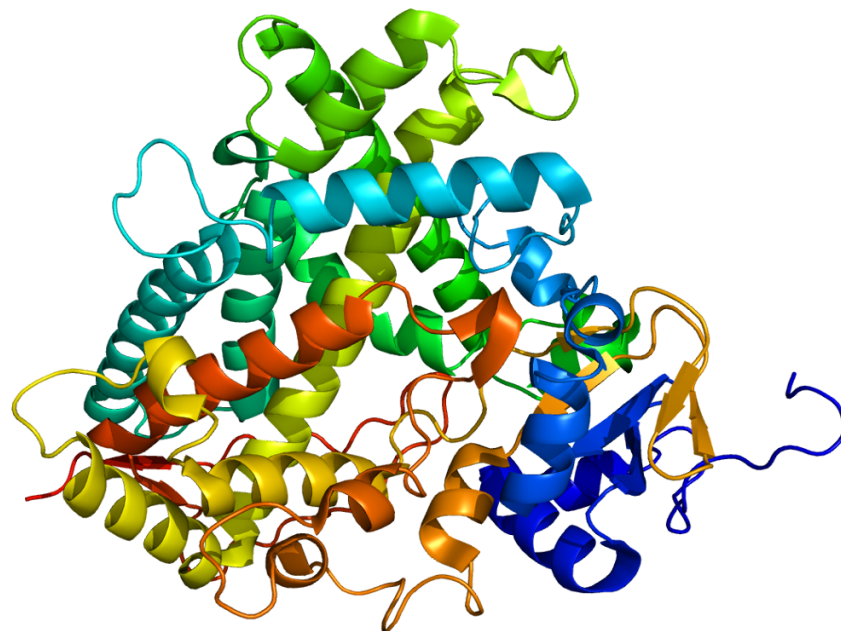




# MutaCHIP<sup>®</sup> CYP<sup>+</sup>

DNA-Microarray Kit für die Untersuchung von Mutationen in den Cytochrom P450 2D6, 1A1, 1A2, 2B6 2C9, 2C19, 3A4, 3A5 und VKORC1 Genen



Nur für in vitro Diagnostik

**REF** KF391014



**10**



**REF** KF390014



**20**

**REF** KF390114



**100**



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Deutschland  
[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)  
[info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)  
 Tel.: +49 (0)6251/ 701900  
 Fax: +49 (0)6251/ 849430

**Version 1.4 / Mai 2019**

# Inhaltverzeichnis

<b>1</b>	<b>Verwendungszweck</b>	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Testprinzip</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>Kitbestandteile</b>	<b>4</b>
<b>4</b>	<b>Erforderliche Materialien</b>	<b>4</b>
<b>5</b>	<b>Lagerung und Haltbarkeit</b>	<b>5</b>
<b>6</b>	<b>Arbeitsbedingungen</b>	<b>5</b>
<b>7</b>	<b>Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen</b>	<b>5</b>
<b>8</b>	<b>Probengewinnung</b>	<b>6</b>
<b>9</b>	<b>Testdurchführung</b>	<b>6</b>
	<b>9.1 PCR Ansatz</b>	<b>6</b>
	<b>9.2 PCR Protokoll</b>	<b>7</b>
	<b>9.3 Array Tube Protokoll</b>	<b>8</b>
<b>10</b>	<b>Auswertung</b>	<b>9</b>
<b>11</b>	<b>Ergebnis der Positiven Kontrolle</b>	<b>13</b>
<b>12</b>	<b>Troubleshooting</b>	<b>14</b>
<b>13</b>	<b>Grenzen des Tests</b>	<b>15</b>

# 1 Verwendungszweck

Das CYP+ Kit ist ein molekularbiologischer Test zur Untersuchung von Mutationen und Polymorphismen des Cytochrom P450 2D6, 1A1, 1A2, 2B6, 2C9, 2C19, 3A4, 3A5 und VKORC1 Genen aus genomischer DNA. Der Test basiert auf der Macroarray Technologie. Die untersuchten Genvarianten stehen im Zusammenhang mit fehlender, erhöhter oder verminderter Aktivität der entsprechenden Enzymen. Folgende Allele werden durch den Test detektiert:

Gen	Allel	Variation	rsNummer
CYP2D6	*3	2549delA	rs35742686
	*4	1846G>A	rs3892097
	*5	Gendeletion	-
	*6	1707delT	rs5030655
	*7	2935A>C	rs5030867
	*8	1758G>T	rs5030865
	*9	2615_2617delAAG	rs5030656
	*10	100C>T	rs1065852
	*11	883G>C	rs5030863
	*17	1023C>T	rs28371706
	*29	3183G>A	rs59421388
	*41	2988G>A	rs28371725
	*xN	Genduplikation	-
CYP1A1	*2A	3798T>C	rs4646903
CYP1A2	*1C	-3860G>A	rs2069514
	*1F	-163C>A	rs762551
CYP2B6		516G>T	rs3745274
		785A>G	rs2279343
CYP2C9	*2	430C>T	rs1799853
	*3	1075A>C	rs1057910
CYP2C19	*2	681G>A	rs4244285
	*3	636G>A	rs4986893
	*17	-806C>T	rs12248560
CYP3A4	*1B	-392A>G	rs2740574
	*22	15389C>T	rs35599367
CYP3A5	*2	27289C>A	rs28365083
	*3	6986A>G	rs776746
VKORC1		-1639G>A	rs9923231

## 2 Testprinzip

Die Zielsequenzen werden mittels PCR amplifiziert. Nach einer Denaturierung werden die Amplifikationsprodukte in das Array Tube gegeben. Dort binden die PCR Fragmente an die auf dem Array immobilisierten Sonden. Ein Waschschrift entfernt alle unspezifisch gebundenen Fragmente. Im Anschluss wird der Conjugation Mix hinzugegeben, welcher an den Sonden-PCR Fragment-Komplex bindet. Ein weiterer Waschschrift entfernt den ungebundenen Conjugation Mix. Die anschließende Zugabe des Substrats löst eine Fällungsreaktion an den Sonden aus, an denen DNA gebunden ist. Im nächsten Schritt wird die Präzipitationsreaktion durch einen Waschschrift beendet. Das Präzipitationsmuster wird mit dem Imagereader ausgelesen und von der dazugehörigen Software interpretiert.

## 3 Kitbestandteile

CYP+ Kit		Volumen		
Box	Reagenz	10er Kit	20er Kit	100er Kit
1	PCR Mix A (grün)	178 µL	343 µL	5 x 343 µL
	PCR Mix B (gelb)	269 µL	518 µL	5 x 518 µL
	PCR Mix C (rot)	269 µL	518 µL	5 x 518 µL
	PCR Mix D (blau)	269 µL	518 µL	5 x 518 µL
	PCR Mix E (weiß)	269 µL	518 µL	5 x 518 µL
	Hybridisation Buffer (transparent)	1400 µL	2 x 1400 µL	11,5 mL
	ROM (orange)	660 µL	1380 µL	5 x 1380 µL
	Washing Buffer 1 (blauer Punkt)	6 mL	12 mL	60 mL
	Washing Buffer 2 (orangefarbener Punkt)	7 mL	14 mL	2 x 35 mL
	Conjugation Mix (schwarz)	1150 µL	2 x 1150 µL	11,5 mL
	Substrate (braun, blau)	1150 µL	2 x 1150 µL	11,5 mL
2	Polymerase (lila)	19,5 µL	37,5 µL	187,5 µL
	PC DNA (braun)	65 µL	65 µL	200 µL
	Array Tubes	10	20	100

## 4 Erforderliche Materialien

*Benötigte Geräte - müssen separat erworben werden:*

- Notebook + Genotyping Software
- Imagereader
- Thermocycler für PCR (Peqlab Primus 25 advanced oder Analytik Jena Biometra TAdvanced 96 [Aluminiumblock])
- Thermomixer mit Kühlfunktion (BIOER Mixing Block MB-102)

Die CE Konformität besteht nur, wenn die oben genannten Komponenten verwendet werden.

*Benötigte Geräte und Verbrauchsmaterialien - nicht mitgeliefert:*

- Pipetten:
  - 0,1 - 2,5 µL
  - 0,5 - 10 µL
  - 10 - 200 µL
  - 100 - 1000 µL
- 200 µL PCR Gefäße (steril)

## 5 Lagerung und Haltbarkeit

- Der Lichtschutzfolien-Beutel beinhaltet 5 Array Tubes mit geöffnetem Deckel und ist bei Raumtemperatur (RT) zu lagern.
  - Einen angebrochenen Beutel mit verbleibenden Array Tubes lose verschließen (keine Klebestreifen verwenden).
  - Die Deckel von verbleibenden Array Tubes nicht schließen.
  - Den Beutel an einem dunklen, trockenen Ort lagern.
  - Die Array Tubes in einem angebrochenen Beutel sind unter diesen Bedingungen mehrere Wochen haltbar. Um selbst minimale Performanceverluste zu vermeiden, empfehlen wir jedoch den Verbrauch eines geöffneten Array Tube Beutels möglichst innerhalb von vier Wochen!
- Die Polymerase und die PC DNA (Positive Kontroll-DNA) sind bei -20 °C zu lagern.
- Alle anderen Komponenten sind bei +2 bis 8 °C zu lagern.
- Das Substrat ist unbedingt vor Lichteinwirkung zu schützen.
- Alle Reagenzien sollten bis zum unmittelbaren Gebrauch bei ihrer angegebenen Lagertemperatur verweilen.

## 6 Arbeitsbedingungen

Die Vorschriften und Grundsätze für molekularbiologisches Arbeiten müssen eingehalten werden.

- Die Arbeitsschritte zügig durchführen.
- Alle PCR Reagenzien während des Arbeitens kühlen.

## 7 Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Verwenden Sie **frisch** extrahierte genomische DNA aus EDTA-Vollblut.
  - Der Test wurde mit dem QIAamp DNA Blood Mini Kit validiert.
- Die Array Tubes ...
  - sind nur für den Einmalgebrauch bestimmt.
  - sind nur zur *in-vitro* Diagnostik zu verwenden.
  - nicht von unten berühren, um Verunreinigung auf der Array Unterseite zu vermeiden.
  - dürfen während den Arbeitsschritten nicht austrocknen!
  - sind vor Sonneneinstrahlung und Staub zu schützen.
  - sind mit zwei Händen zu öffnen. Dabei ist darauf zu achten, dass kein Druck auf das Array Tube ausgeübt wird.
  - dürfen niemals zentrifugiert werden.
  - darf nur mit den im Protokoll erwähnten Substanzen verwendet werden.

- Die Oberfläche des Array darf nicht mit der Pipettenspitze berührt werden.
- Mischen Sie keine Reagenzien aus unterschiedlichen Lots.

## 8 Probengewinnung

Als Matrize für die PCR Amplifikation dient genomische DNA aus EDTA-Vollblut. Die DNA-Konzentration sollte zwischen 10-40 ng/µL liegen. Die Reinheit ( $OD_{260/280}$ ) der DNA sollte zwischen 1,8 und 2,0 liegen.

**Für den Assay darf nur hochmolekulare (frisch extrahierte) DNA verwendet werden.**

## 9 Testdurchführung

### 9.1 PCR Ansatz

Zur Amplifikation der Ziel-DNA werden fünf PCR-Ansätze benötigt. Alle Komponenten vor Verwendung vorsichtig mischen (Polymerase nicht vortexen!) und kurz anzentrifugieren. Diese werden wie im Folgenden beschrieben pipettiert. Wenn mehrere Proben parallel amplifiziert werden, kann je PCR Ansatz ein Mastermix aus PCR Mix und Polymerase (für z.B. n + 0,2 Proben) hergestellt werden (Achtung: eine gute Durchmischung sicherstellen, nicht vortexen!).

#### PCR Ansatz 1:

Für den PCR Ansatz 1 darf die insgesamt eingesetzte DNA Menge 200 ng nicht übersteigen. Falls die Konzentration der Probe höher ist, entsprechend weniger Volumen einsetzen und mit PCR H<sub>2</sub>O auf 25 µL auffüllen.

Bestandteil	Volumen pro 25 µL Reaktionsansatz
DNA (min. 110 ng - <b>max. 200 ng</b> )	11,0 µL
PCR Mix A ( <b>grün</b> )	13,7 µL
Polymerase ( <b>lila</b> )	0,3 µL

#### PCR Ansatz 2:

Bestandteil	Volumen pro 25 µL Reaktionsansatz
DNA (min. 40 ng - max. 160 ng)	4,0 µL
PCR Mix B ( <b>gelb</b> )	20,7 µL
Polymerase ( <b>lila</b> )	0,3 µL

#### PCR Ansatz 3:

Bestandteil	Volumen pro 25 µL Reaktionsansatz
DNA (min. 40 ng - max. 160 ng)	4,0 µL
PCR Mix C ( <b>rot</b> )	20,7 µL
Polymerase ( <b>lila</b> )	0,3 µL

**PCR Ansatz 4:**

Bestandteil	Volumen pro 25 µL Reaktionsansatz
DNA (min. 40 ng - max. 160 ng)	4,0 µL
PCR Mix D ( <b>blau</b> )	20,7 µL
Polymerase ( <b>lila</b> )	0,3 µL

**PCR Ansatz 5:**

Bestandteil	Volumen pro 25 µL Reaktionsansatz
DNA (min. 40 ng - max. 160 ng)	4,0 µL
PCR Mix E ( <b>weiß</b> )	20,7 µL
Polymerase ( <b>lila</b> )	0,3 µL

Die PCR Ansätze vorsichtig durchmischen und anzentrifugieren. Anschließend in den Thermocycler stellen und das in 9.2 beschriebene PCR Protokoll verwenden.

**9.2 PCR Protokoll**

Schritt	Temperatur [°C]	Zeit [mm:ss]	Wiederholungen
Deckelheizung	99	---	---
Initiale Denaturierung	94	03:00	1 x
Denaturierung	94	00:30	10 x
Primer Anlagerung	63	00:30	
Elongation	68	03:00	
Denaturierung	94	00:30	20 x
Primer Anlagerung	60	00:30	
Elongation	68	03:30	
Finale Elongation	68	07:00	1 x
Deckelheizung	aus	---	---
Lagerung	8	∞	1 x

Nach diesem Schritt können die PCR Produkte bis zu 14 Tage bei +2 bis +8 °C gelagert werden. PCR Produkte niemals bei unter 0 °C lagern.

Wenn ein anderer Thermocycler verwendet wird als die unter Abschnitt 4 empfohlenen, muss das PCR Protokoll neu etabliert werden (andere Thermocycler haben abweichende Heizraten). Wichtig: Damit verliert der Test seine Validität.

## 9.3 Array Tube Protokoll

Alle Reagenzien sollten bis zum unmittelbaren Gebrauch bei ihrer angegebenen Lagertemperatur verweilen. Die Reagenzien sind vor Benutzung gut zu durchmischen.

### A) Vorbereitung des Hybridisation Buffer

Falls der Hybridisation Buffer trüb oder ein Präzipitat sichtbar ist, muss dieser bei max. 60 °C für einige Minuten erwärmt werden bis die Flüssigkeit klar ist (z.B. im vorheizenden Thermoshaker). Anschließend durch Invertieren homogenisieren. Vor dem Verwenden muss der Hybridisation Buffer auf Raumtemperatur abgekühlt werden.

### B) Thermoshaker vorheizen

- Thermoshaker auf **55 °C** vorheizen.

### C) Vorbereitung der DNA Proben

- **60 µL** ROM in einem 200 µL PCR Reaktionsgefäß vorlegen.
- **2 µL** pro PCR-Produkt (A, B, C, D und E) hinzufügen, vortexen und abzentrifugieren.
- Das Gemisch für **2 min** bei **95 °C** im Thermocycler denaturieren.
- Umgehend **100 µL** Hybridisation Buffer zu dem denaturierten PCR Produkt geben und durch auf und ab pipettieren durchmischen.
- Das Gemisch **vollständig** in das Array Tube überführen ohne dabei die Oberfläche des Arrays zu berühren.

### D) Hybridisierung

- Das Array Tube mit der Probe bei **55 °C** und **550 rpm** für **60 min** im Thermoshaker hybridisieren.

### E) Waschschrift nach der Hybridisierung

- Das Array Tube aus dem Thermoshaker entnehmen. **Den Hybridisation Buffer in dem Array Tube belassen bis die Zieltemperatur für den nächsten Schritt erreicht worden ist.**
- Den Thermoshaker auf **50 °C** temperieren.
- Wenn die Zieltemperatur erreicht ist, den Hybridisation Buffer vollständig entfernen, auch die Tröpfchen aus dem Deckel.
- **500 µL Washing Buffer 1** vorsichtig in das Array Tube pipettieren.
- Bei **50 °C** und **550 rpm** für **5 min** im Thermoshaker inkubieren.

### F) Konjugationsschritt

- Das Array Tube aus dem Thermoshaker entnehmen. **Den Washing Buffer 1 in dem Array Tube belassen bis die Zieltemperatur für den nächsten Schritt erreicht worden ist.**
- Den Thermoshaker auf **21 °C** temperieren.
- Wenn die Zieltemperatur erreicht ist, den Washing Buffer 1 vollständig entfernen.
- **100 µL** Conjugation Mix vorsichtig in das Array Tube pipettieren.
- Bei **21 °C** und **550 rpm** für **15 min** im Thermoshaker inkubieren.

### G) Waschschrift nach Konjugation

- Den Conjugation Mix vollständig entfernen.
- **500 µL Washing Buffer 2** vorsichtig in das Array Tube pipettieren.
- Bei **21 °C** und **550 rpm** für **5 min** im Thermoshaker inkubieren.



## H) Präzipitation

**Achtung: Das Array Tube darf während und nach dem Färben nicht geschüttelt werden!**

- Den Washing Buffer 2 vollständig entfernen.
- **100 µL** Substrate in das Array Tube geben und für **5 min** bei **21 °C** im Thermoshaker inkubieren (**keine Schüttelfunktion aktivieren - externen Timer nutzen**).
- Anschließend das Substrate vollständig entfernen und umgehend **100 µL Washing Buffer 2** hinzugeben.
- Den Washing Buffer 2 sofort wieder **vollständig** entfernen.
- Das Array Tube in den Imagereader platzieren und die Schritte aus dem nächsten Kapitel befolgen.

## 10 Auswertung

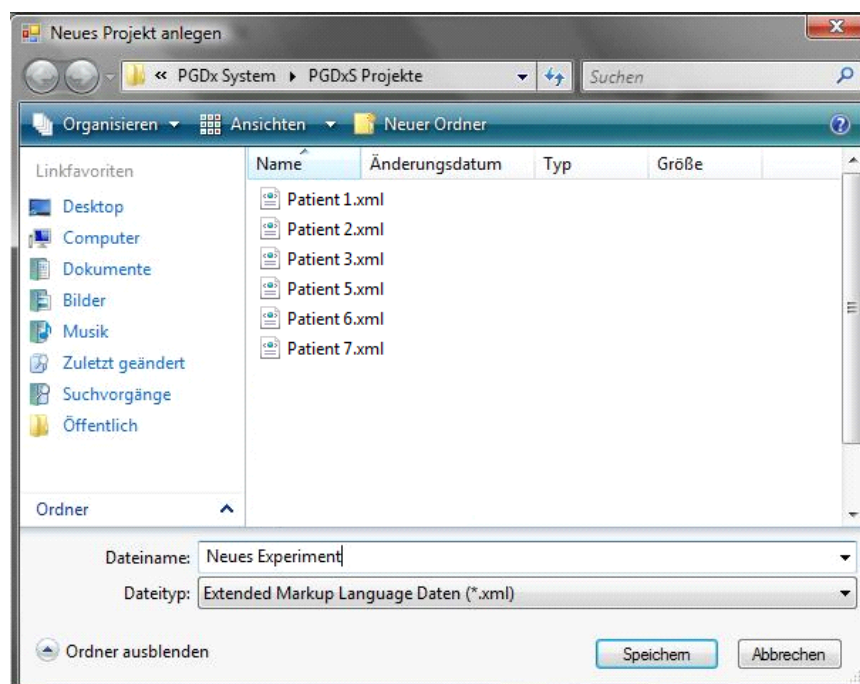
Die Auswertung erfolgt über die mitgelieferte Genotyping Software. Die Ergebnisse werden in einem Report zusammengestellt. Für die Auswertung des Assays folgen Sie der anschließenden kurzen Anleitung.

### Schritt 1: Ein neues Projekt erstellen

Klicken Sie auf die Schaltfläche *Neues Projekt erstellen*.



Vergeben Sie einen beliebigen Namen für das Experiment und speichern Sie es anschließend indem Sie auf die Schaltfläche *Speichern* klicken.



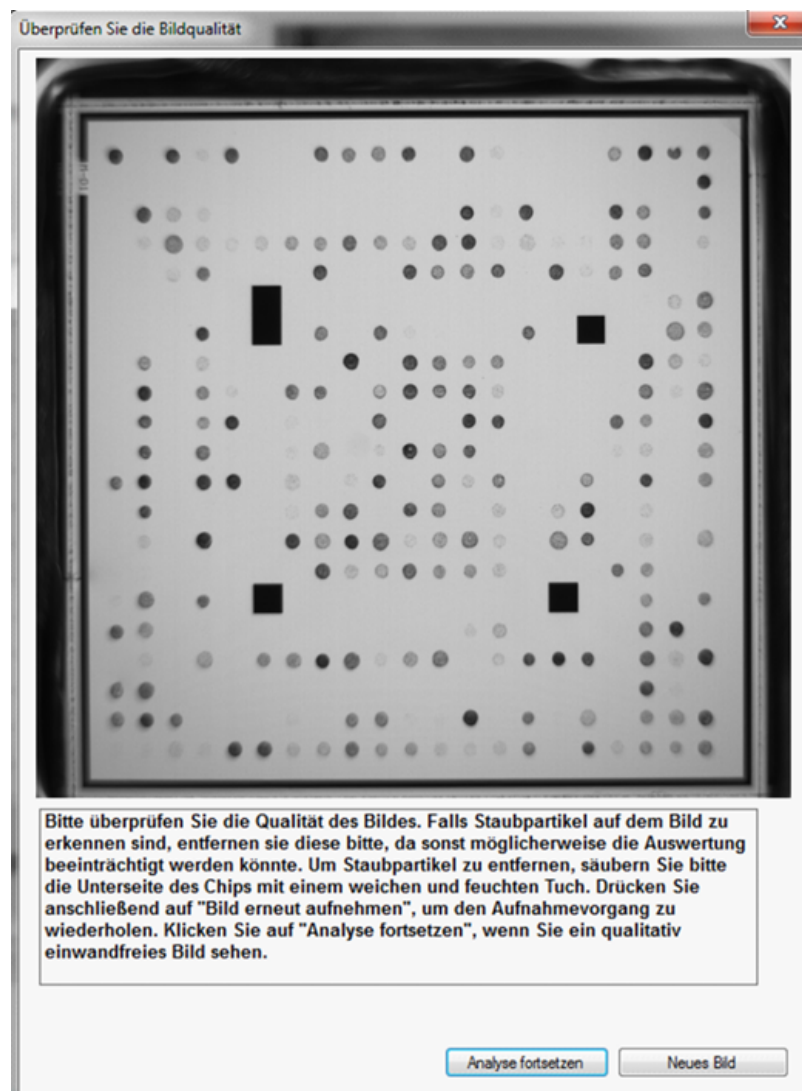
### Schritt 2: Analyseprozess starten

Klicken Sie auf die Schaltfläche *Analysevorgang starten*, um die Datenanalyse zu starten.



### Schritt 3: Qualitätsprüfung des Array Tubes

Um ein einwandfreies Analyseergebnis zu erhalten, muss zunächst die Bildqualität des Array Tubes überprüft werden. Staubpartikel auf der Unterseite des Array Tubes können die Analyse beeinträchtigen. Diese können durch das Säubern mit einem weichen und feuchten Tuch entfernt werden. Klicken Sie auf die Schaltfläche *Analyse fortsetzen*, falls die Bildqualität der in der unteren Abbildung entspricht. Wenn nicht, klicken Sie auf die Schaltfläche *Neues Bild*. Nachdem Sie die Unterseite des Array Tubes gereinigt haben, starten Sie erneut den Analysevorgang.








#### Schritt 4: Genotypisierungsergebnisse

Nachdem die Datenanalyse vollständig durchgeführt wurde, können die Ergebnisse im Analysemodul / Genotypisierungsmodul oder im diagnostischen Report abgerufen werden.

The screenshot shows the PharmGenomics Diagnostic System interface. The main window is titled 'Genotypisierungstest' and contains a table with the following columns: Allel, Homozygot Wildtyp, Heterozygot, and Homozygot Mutation. The table has 10 rows. The first row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column and a yellow warning triangle in the Heterozygot column. The second row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column. The third row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column and a yellow warning triangle in the Heterozygot column. The fourth row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column. The fifth row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column. The sixth row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column. The seventh row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column. The eighth row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column. The ninth row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column. The tenth row has a green checkmark in the Homozygot Wildtyp column. To the right of the table is a microarray image with the text 'Genotypisierung abgeschlossen'. At the bottom of the main window, a red bar contains the text 'Defekte Allele entdeckt'. The left sidebar shows a project tree with 'PharmGenomics' and 'Projects' folders, and an 'Analyseprotokoll' section with a list of steps. The top right corner of the window displays the PharmGenomics logo and the tagline 'beyond genetic engineering'.

Die dabei verwendeten Symbole werden in der unten stehenden Tabelle erläutert.

	Homozygot Wildtyp: beide Allele tragen die Wildtyp Variante
	Heterozygot mutiert: ein Allel trägt die Wildtyp Variante, das andere die mutierte Variante
	Homozygot mutiert: beide Allele tragen die mutierte Variante
	Die Signalwerte der Sonden für diese genetische Variation sind zu gering, um ein valides Ergebnis zu erzeugen. Dies könnte auf zu schwache Amplifikation der Target Sequenz hindeuten. Die anderen Signale werden jedoch durch den Ausfall nicht beeinträchtigt.
	Aufgrund von Verschmutzungen kann kein valides Signal für die Variante berechnet werden. Die anderen Signale werden jedoch durch den Ausfall nicht beeinträchtigt.

### Schritt 5: Diagnostischer Report

Im Report Modul können die patientenbezogenen Daten sowie Informationen zum behandelnden Arzt hinterlegt werden. Diese werden dann in den diagnostischen Report übernommen. Um den diagnostischen Report anzuzeigen, klicken Sie auf die Schaltfläche *Diagnostischen Report öffnen*.



Zusätzlich können Sie auch ein .pdf Dokument erstellen und den Report direkt ausdrucken.

Genotypisierungs  
Analyse - Ergebnis

Probenmaterial	Patient
Probenart:	Name:
Entnahmedatum:	Geburtsdatum:
Aufbereitungsdatum:	Patienten ID:
Report erstellt: 30.04.2015	Geschlecht:

**Ergebnisse und Interpretation**

## 11 Ergebnis der Positiven Kontrolle

Folgendes Ergebnis wird erwartet, wenn die mitgelieferte positive Kontroll-DNA (PC DNA) bearbeitet wird:

Gen	Allel	Variation	Ergebnis
CYP2D6	*3	2549delA	Homozygot Wildtyp
	*4	1846G>A	Homozygot Wildtyp
	*5	Gendeletion	Homozygot Wildtyp
	*6	1707delT	Heterozygot mutiert
	*7	2935A>C	Homozygot Wildtyp
	*8	1758G>T	Homozygot Wildtyp
	*9	2615_2617delAAG	Homozygot Wildtyp
	*10	100C>T	Homozygot Wildtyp
	*11	883G>C	Homozygot Wildtyp
	*17	1023C>T	Homozygot Wildtyp
	*29	3183G>A	Homozygot Wildtyp
	*41	2988G>A	Heterozygot mutiert
	*xN	Genduplikation	Genduplikation nicht detektiert
	CYP1A1	*2A	3798T>C
CYP1A2	*1C	-3860G>A	Homozygot Wildtyp
	*1F	-163C>A	Homozygot mutiert
CYP2B6		516G>T	Heterozygot mutiert
		785A<G	Heterozygot mutiert
CYP2C9	*2	430C>T	Homozygot Wildtyp
	*3	1075A>C	Heterozygot mutiert
CYP2C19	*2	681G>A	Homozygot Wildtyp
	*3	626G>A	Homozygot Wildtyp
	*17	-806C>T	Heterozygot mutiert
CYP3A4	*1B	-392A>G	Homozygot Wildtyp
	*22	15389C>T	Heterozygot mutiert
CYP3A5	*2	27289C>A	Homozygot Wildtyp
	*3	6986A>G	Homozygot mutiert
VKORC1		-1639G>A	Homozygot Wildtyp

## 12 Troubleshooting

Problem	Lösung
Die Reagenzien reichen nicht für die angegebene Anzahl an Assays.	Alle Reagenzien werden in größerer Menge als benötigt geliefert, um Pipettierungenauigkeiten auszugleichen. Wenden Sie sich bitte an den Kundenservice.
Hybridisation Buffer ist ausgefallen.	Einige Minuten bei max. 60 °C erhitzen bis kein Präzipitat mehr zu sehen ist. Durch Schwenken homogenisieren.
Der Washing Buffer 2 ist ausgefallen oder trüb.	Bitte kontaktieren Sie den Kundenservice.
Abweichung vom vorgegebenen Protokoll.	Bei jeglichen Abweichungen von dem vorgegebenen Bearbeitungsprotokoll verliert der Test seine Validität. In diesem Fall muss der Assay wiederholt werden.
Schlechte Bildqualität: Staub oder ähnliche Rückstände auf dem Array Bild sichtbar.	Erscheinen die Rückstände unscharf, muss die Unterseite des Array Tubes gereinigt werden. Dazu ein weiches, fusselfreies Tuch mit Alkohol oder Desinfektionsmittel anfeuchten und mit abstreichenden Bewegungen die Verunreinigung von der Unterseite des Arrays entfernen. Erscheinen die Rückstände scharf, befindet sich die Verunreinigung auf der Oberseite des Arrays. Um diese zu entfernen, erneut vorsichtig 100 µL Washing Buffer 2 in das Array Tube geben und direkt wieder abziehen.
Schlechte Bildqualität: Unscharfes Bild.	Reinigen Sie vorsichtig die Kamera mit einem Tuch oder einem Wattestäbchen.
Software Meldung: Mix _ : Warnung! Die Signale der Sonden deuten auf eine fehlgeschlagene Amplifikation hin.	Die interne Amplifikationskontrolle gibt ein zu geringes Signal. Dies bedeutet, dass entweder keine Amplifikation stattgefunden hat (z. B. DNA-Konzentration nicht ausreichend. Polymerase vor Verwendung oder PCR Reaktion nach dem Ansetzen nicht vorsichtig durchmischt, etc.) oder dass der PCR Mix nicht auf das Array Tube übertragen wurde. Wiederholen Sie den Assay.
Software Meldung: Warnung! Die Signale der Biotinmarken sind zu schwach. Dies könnte auf einen fehlenden Konjugationsschritt oder defektes Enzym zurückzuführen sein. Die Analyse ist möglicherweise beeinträchtigt. Vorgang wird unterbrochen...	Wurden alle Buffer während der Array Bearbeitung vollständig abgezogen? Überprüfen Sie den Conjugation Mix und das Substrate auf korrekte Lagerung und Haltbarkeit. Entspricht dies den Vorgaben, wiederholen Sie das Array Protokoll. Wenn nicht, wenden Sie sich bitte an den Kundenservice.

Problem	Lösung
Software Meldung: Warnung! Die Signale der Konzentrationssonden deuten auf eine fehlgeschlagene Amplifikation hin. Eine mögliche Ursache hierfür kann eine zu geringe DNA Konzentration sein.	Entspricht die DNA Konzentration den Vorgaben? Wenn nicht, wiederholen Sie die Extraktion und setzen die PCR neu an. Wurde die Polymerase vor Verwendung und die PCR Reaktion nach dem Ansetzen vorsichtig durchmischt? Wiederholen Sie die PCR.
Software Meldung: Warnung! Diese Probe konnte nicht analysiert werden. Bitte wiederholen Sie das Experiment. Falls der Fehler weiterhin auftritt, kontaktieren Sie bitte den PharmGenomics Kundenservice.	Ein möglicher Grund könnte ein ungültiges Ergebnis sein. Wenden Sie sich bitte an den Kundenservice.
Software Meldung: Warnung! Die Bildanalyse konnte nicht gestartet werden, da zu viele ungültige Signale erkannt wurden. Möglicherweise behindern Staubpartikel an der Unterseite des Chips die Analyse. Bitte wiederholen Sie den Vorgang, indem Sie ein neues Bild der Chipoberfläche aufnehmen.	Siehe Schlechte Bildqualität. Falls der Fehler weiterhin auftritt, kontaktieren Sie bitte den Kundenservice.
Software Meldung: keine Fehlerangabe ErrorCode - 3011.	Der Reader ist nicht richtig angeschlossen. Halten Sie „Esc“ für 3 Sekunden gedrückt und schließen Sie den Reader in der korrekten Weise an.

## 13 Grenzen des Tests

Das Ergebnis wird dem behandelnden Arzt als unterstützendes Material zur Verfügung gestellt und sollte niemals ausschließlich zur Diagnostik oder zu Behandlungsempfehlungen herangezogen werden. Die Diagnose sowie die einzuleitenden Behandlungsentscheidungen bleiben in der vollen Verantwortung des Arztes.

Die Genauigkeit von genetischen Tests beträgt nicht 100 %. Es wurde jedoch eine Genauigkeit von über 98 % basierend auf den Validierungsdaten für diesen Test festgestellt. Weiterhin müssen Ergebnisse von genetischen Tests im Kontext der klinischen Repräsentation des Patienten sowie bekannten familiären Risiken im Umfeld des Patienten betrachtet werden.

Der Test analysiert nur eine Auswahl an Markern. Beim Nachweis von Allelen ist der untersuchte Polymorphismus angegeben. Andere seltene Allele können vorliegen und werden mit dieser Methode nicht abgedeckt. Daher schließt ein negatives Testergebnis des Patienten ein Risiko jedweder Art nicht vollständig aus.