



807RH1

REF 6645



13/2018



2020-11

Fehlende Banden in den Reaktionen Nr. 1, 2, 3 oder 4 können auf Partial D-Gene hinweisen.  
 In Gegenwart von Cde<sup>s</sup> kommt es zum Ausfall der Reaktion Nr. 12.  
 Mix 2 zeigt bei ca. 80bp eine schwache unspezifische Bande.  
*Missing bands in reaction no. 1, 2, 3, or 4 may indicate partial D genes.  
 In presence of Cde<sup>s</sup> reaction no. 12 is missing.  
 Mix 2 shows a weak unspecific band at about 80bp.*

## Ergebnisprotokoll und Auswertetabelle / Worksheet and Evaluation Diagram

Reaktions-Nr. / Reaction no.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
PCR-Produkt (Größe in bp) PCR product (size in bp)		224 123	390 248 154	140	220	113	198	143	215	130	940	940	162	145	157	155	181
RHD/RHCE Region		IVS <sub>7</sub> /D <sub>7</sub> /D <sub>7</sub>	IVS <sub>7</sub> /D <sub>6</sub> /D <sub>7</sub> /IVS <sub>7</sub> /D <sub>4</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	D <sub>6</sub>	IVS <sub>3</sub> /D <sub>3</sub>	IVS <sub>2</sub>	D <sub>7</sub>	U <sub>BOX</sub>	H <sub>BOX</sub>	C <sup>c</sup> C <sup>w</sup>	c	E	e	C <sup>w</sup>
Phänotyp Phenotype	Genotyp Genotype																
RHD pos.	RHD*01 (DD)	+	+	+	+	+						+					
RHD pos.	RHD*01 (Dd)	+	+	+	+	+						+					
RHD neg.	RHD*01N.01 (dd)												+				
RHCE <sup>c</sup>														+			
RHCE <sup>c</sup> <sup>w</sup>														+			+
RHCE <sup>c</sup>															+		
RHCE <sup>e</sup>																+	
RHCE <sup>e</sup>																	+
Größe der internen PCR Kontrolle in Reaktion Nr. 2: 659 bp, in allen anderen Reaktionen: 434 bp (HGH) Size of the internal control in reaction no. 2: 659 bp, in all other reactions: 434 bp (HGH)																	
RHD Varianten / RHD variants																	
RHD pos.	RHD*01/*DEL1	RHD / RHD (K409K)	+	+	+	+	+	+					+				
Del	RHD*01EL.01	RHD (K409K)	+	+	+	+	+	+					+				
RHD pos.	RHD*01/*11	RHD / RHD (M295I)	+	+	+	+	+	+					+				
Del	RHD*11*	RHD (M295I)*	+	+	+	+	+	+					+				
RHD pos.	RHD*01/*01EL.08	RHD / RHD (IVS3+1G>A)	+	+	+	+	+	+					+				
Del	RHD*01EL.08	RHD (IVS3+1G>A)	+	+	+	+	+	+					+				
RHD pos.	RHD*01/*08N.01	RHD / RHD Ψ	+	+	+	+	+	+					+				
RHD neg.	RHD*08N.01	RHD Ψ	+	+	+	+	+	+					+				
RHD neg.	RHD-CE(8-9)-D	RHD-CE(8-9)-D	+	+	+	+	+	+					+				
RHD neg.	RHD*01N.08	RHD (W16X)	+	+	+	+	+	+					+				
RHD pos.	RHD*01/*01N.05	RHD / Cde <sup>s</sup>	+	+	+	+	+	+					+				
RHD neg.	RHD*01N.05	Cde <sup>s</sup> / Cde <sup>s</sup> ; Cde <sup>s</sup> / d			+			+					+				
DAR1 (weak D 4.2)	RHD*09.01.00	weak D 4.2	+	+	+	+	+	+					+				

Phänotyp Phenotype	Genotyp Genotype	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Bei weak D Typ 4.2 kann es zu falsch negativen Reaktionen in PCR-Mix Nr. 10 kommen. Bei RHD psi homo- bzw. heterozygot kann es zu falsch positiven Reaktionen in PCR-Mix 11 kommen. ♦ Es wurden allo-anti-D Antikörper bei Del Phänotypen berichtet, wenn diese mit RHCE <sup>c</sup> auftauchten. In presence of weak D type 4.2 false negative reactions in PCR mix no. 10 may occur. In case of RHD psi homo- or heterozygous false positive reactions in PCR mix no. 11 may occur. ♦ Allo-anti-D antibodies have been reported in Del phenotypes when they appeared with RHCE <sup>c</sup> .																	
Beispiele / Examples																	
CcD.Ee		+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+
ccD.EE		+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+
CCD.ee		+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+
CC <sup>w</sup> D.Ee		+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+	+
ccddee													+	+	+	+	+
Ccddee													+	+	+	+	+
DVI		+	+			+											
DIV		+			+												
DFR		+	+	+	+	+	+	+									

Proben-ID / Sample ID:  
 Name / Name:  
 Geb.-Datum / Date of birth:  
 Ergebnis / Result:  
 Datum / Date:  
 Unterschrift / Signature:

Gelbild / Gel picture:

Version 7.0 –09/2018

## Kurzanleitung

1. Die gewünschte Anzahl Platten/Streifen aus dem Gefrierschrank (-20...-80°C) nehmen und den 10 x PCR-Puffer bei Raumtemperatur auftauen.
2. Der erste Reaktionsmix ist durch Aufdruck der Lot-Nr. markiert.
3. Den Mastermix, bestehend aus 10 x PCR-Puffer, DNA-Lösung, Taq-Polymerase und Aqua dest. zusammenpipettieren und gründlich vortexen. Die verschiedenen BAGene DNA-SSP Kits werden mit dem gleichen Mastermix angesetzt und sind daher miteinander kombinierbar.
4. Nach dem Vortexen werden von diesem Gemisch umgehend je **10 µl** zu den angetrockneten Reaktionsmischen pipettiert.
5. Die Reaktionsgefäße werden mit den dafür vorgesehenen Deckeln dicht verschlossen. Die Platten/Streifen werden leicht bewegt, um das Pellet auf dem Gefäßboden etwas anzulösen. Die gesamte Reaktionslösung soll sich im Gefäßboden befinden.
6. Nach der PCR und Auftrennung der Amplifikate im Gel erfolgt die Auswertung.
7. Alle Reagenzien sind nach Gebrauch wieder bei -20...-80°C zu lagern.

### Zusammensetzung des Mastermixes in Abhängigkeit von der Anzahl der Reaktionsmische Composition of the mastermix depending on the number of reaction mixes

No. of mixes	Dist. water	10 x PCR-buffer	DNA-sol. (50-100 ng/µl)	Taq-Polymerase (5 U/µl)	total volume app.	
1	8	1	1	0,08	10	µl
2	16	2	2	0,2	20	µl
6☆	50	7	7	0,5	65	µl
7	70	9	9	0,7	90	µl
8	80	10	10	0,8	100	µl
9	88	11	11	0,9	110	µl
10	96	12	12	1,0	120	µl
11	104	13	13	1,0	130	µl
12	112	14	14	1,1	140	µl
13	128	16	16	1,3	160	µl
14	136	17	17	1,4	170	µl
15	144	18	18	1,4	180	µl
16	152	19	19	1,5	190	µl

⇒ Bei abweichenden DNA-Konzentrationen sind die Mengen von DNA und Wasser entsprechend zu variieren.  
For different DNA concentrations, the amounts of DNA and water must be adjusted accordingly.

☆ Mastermix für 6 Reaktionsmische wird wegen des geringen Volumens Taq-Polymerase als Mindestansatz empfohlen.  
A minimum volume of mastermix (6 reaction mixes) is recommended due to the small volume of Taq-Polymerase.

## Short instructions

1. Take out the required number of plates/strips from -20...-80°C and thaw the 10 x PCR-buffer.
2. The first reaction mix can be identified by the printed lot number.
3. Pipet the mastermix, consisting of 10 x PCR-buffer, DNA-solution, Taq-Polymerase and distilled water and mix well. The different DNA-SSP Kits all work with the same mastermix and can therefore be combined.
4. After vortexing add **10 µl** of this mixture immediately to each dried reaction mixes.
5. Close the tubes tightly with the respective strip caps. Slightly move the plates/strips to dissolve the pellet at the bottom of the tube. The complete PCR-solution should settle on the bottom of the tube.
6. After PCR and separation of the amplicons in the gel, the evaluation can be performed.
7. Store all reagents at -20... -80°C after use.

⇒⇒ Ablesen der Ergebnisse in Pfeilrichtung / Read the results in the direction of the arrow

**Beispiel: Gelbilder der Reaktionen 1 und 2 / Example: gel pictures of reaction 1 and 2**

