

RH-TYPE

CE
LOT 0902 RH

VD
2010-08

REF 6645

Worksheet und Auswertetabelle / Worksheet and Evaluation diagram

Reaktions-Nr. / Reaction No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
PCR-Produkt/e / PCR product/s (Größe in bp/size in bp)	224 123	390 248 154	140	113 sw	113	198	143	215	162	145	157	155	181	
Reaktionsmuster / Reaction pattern	D _{4/4} D ₇	D ₇ RHD(W16X) RHD Ψ	D ₄ RHD Ψ neg.	DEL RHD (K409K) neg.	DEL RHD (K409K)	DEL RHD (M295I)	DEL RHD (IVS3+1G>A)	Cde ^S	C C ^w	c	E	e	C ^w	
Phänotyp Phenotype														
Genotyp Genotype														
Standard RHD/RHCE Allele/s														
D-positive	+	+	+	+	+	-	-	-	-					
D-negative	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
C										+	-	-	-	
C ^w										+	-	-	+	
c										-	+	-	-	
E										-	-	+	-	
e										-	-	-	+	
Größe der internen PCR-Kontrolle in Reaktion Nr. 2: 659 bp, in allen anderen Reaktionen: 434 bp (HGH) Size of internal PCR control in reaction no. 2: 659 bp, in all the other reactions: 434 bp (HGH)														
RHD-Varianten / RHD variants														
D-positive	RHD / RHD(K409K)	+	+	+	+	+	+	-	-	-				
D _{el}	RHD(K409K)	+	+	+	+	-	+	-	-	-				
D-positive	RHD / RHD(M295I)	+	+	+	+	-	+	-	-	-				
D _{el}	RHD(M295I)	+	+	+	+	-	+	-	-	-				
D-positive	RHD / RHD(IVS3+1G>A)	+	+	+	+	-	-	+	-	-				
D _{el}	RHD(IVS3+1G>A)	+	+	+	+	-	-	+	-	-				
D-positive	RHD / RHD Ψ	+	+	+	+	-	-	-	-	-				
D-negative	RHD Ψ	+	+	+	+	-	-	-	-	-				
D-negative	RHD-CE(8-9)-D	+	+	-	+	-	-	-	-	-				
D-negative	RHD(W16X)	+	+	+	+	-	-	-	-	-				
D-positive	RHD / Cde ^S	+	+	+	+	-	-	-	-	+				
D-negative	Cde ^S / Cde ^S ; Cde ^S /d	-	+	-	+	-	-	-	-	+				
Beispiele / Examples														
ccddee		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	
Ccddee		-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	
CcD.Ee		+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	
ccD.EE		+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	
CCD.ee		+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	
CC ^w D.Ee		+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	
D cat. VI		+	+	-	+	-	-	-	-					
D cat. IV type III		+	-	+	-	-	-	-	-					
DFR		+	+	-	+	-	-	-	-					

Fehlende Banden in den Reaktionen Nr. 1,2,3 oder 4 können auf RHD psi oder auf Partial D-Genen hinweisen.
In Gegenwart von Cde^S kommt es zum Ausfall der Reaktion Nr. 9.
Missing bands in reaction no. 1,2,3 or 4 may either indicate RHD psi or partial D genes.
In presence of Cde^S reaction no. 9 is missing.

Ergebnis Result	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Phänotyp Phenotype	Genotyp Genotype

Proben-ID / Sample-ID:
 Probenname / Name:
 Geb.-Datum / Born:
 Ergebnis / Result:
 Datum / Date:
 Unterschrift / Signature:

Gelbild / Gel Picture

VER 02/2009

Kurzanleitung / Short Instructions

- Die gewünschte Anzahl **BAGene**-Platten/-Streifen aus dem Gefrierschrank (-20...-80°C) nehmen und den 10 x PCR-Puffer bei Raumtemperatur auftauen.
*Remove the required number of **BAGene**-plates/-strips from -20...-80°C and thaw the 10 x PCR-buffer.*
- Der erste Reaktionsmix ist durch Aufdruck der Lot-Nr. markiert.
The first reaction mix is marked by the printed lot number.
- 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.
*Pipet the mastermix, consisting of 10 x PCR-buffer, DNA-solution, Taq-Polymerase and aqua dest. and mix well. The different **BAGene** DNA-SSP Kits do all work with the same mastermix and can therefore be combined.*

Zusammensetzung des Mastermixes in Abhängigkeit von der Anzahl der Reaktionsmixe *Composition of the Mastermix depending on the number of reaction mixes*

No. of mixes	Aqua dest.	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 quantities of DNA and water must be varied accordingly.
- ★ Mastermix für 6 Reaktionsmixe wird wegen des geringen Volumens Taq-Polymerase als Mindestansatz empfohlen.
Minimum preparation of mastermix for 6 reaction mixes is recommended due to the small volume of Taq-Polymerase.
- Nach dem Vortexen werden von diesem Gemisch umgehend je **10 μl** zu den angetrockneten Reaktionsmixin pipettiert.
*After vortexing add **10 μl** of this mixture immediately to the dried reaction mixes.*
 - 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.
***Tightly** close the tubes with the respective strip caps. Slightly move the plates/strips to dissolve the pellet at the bottom of the tube. All PCR-solution should settle on the bottom of the tube.*
 - Nach der PCR und Auftrennung der Amplifikate im Gel erfolgt die Auswertung.
After PCR and separation of the amplicons in the gel, the evaluation can be carried out.
 - Alle **BAGene** Reagenzien sind nach Gebrauch wieder bei -20...-80°C zu lagern.
*Return all **BAGene** reagents to -20...-80°C after use.*

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

Beispiel: Gelbilder der Reaktionen 1 und 2

Example: gel pictures of reaction 1 and 2

