

Partial D-TYPE

BAGene product line



IVD

CE

LOT 402PD2



2017-07

REF 6646

10/2015

WORKSHEET

- ◆ Eine fehlende Bande in Reaktion Nr. 4 weist auf DFR (serologisch schwach D-positiv) oder RHD psi (hemi- bzw. homozygot, serologisch D-negativ) hin. Bei fehlender Information zur Serologie kann RHD psi mit BAGene RH-TYPE bestätigt oder ausgeschlossen werden.
- ◆ In Gegenwart von weak D Typ 41 und 45 kann es zum Ausfall von Reaktion Nr. 9 kommen. Mutationen im Intron-Bereich können ebenfalls zum Ausfall von Mix Nr. 8 oder 9 führen.
- ◆ In Gegenwart von weak D Typ 20 kann eine sehr schwache positive Bande in Reaktion Nr. 10 auftreten.
- ◆ A missing band in reaction No. 4 may indicate DFR (weak positive with anti-D) or RHD psi (hemi- or homozygous, D-negative in serology). If serological information is lacking, confirmation or exclusion of RHD psi can be obtained using BAGene RH-TYPE.
- ◆ In presence of weak D type 41 and 45 a missing reaction in mix No. 9 may occur. Mutations of intron sections may also lead to missing reaction of mix No. 8 or 9.
- ◆ In presence of weak D type 20 a very weak positive band may occur in reaction No. 10.

Reaktions-Nr. / Reaction no.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
PCR-Produkt (Größe in bp) PCR product (size in bp)		134	146	118	135	132	132	120	673	184	132	166	107	117	129	140
RHD Exons * Mix 8: Intron 7/ Exon 8	Haplotyp Haplotype	D ₁	D ₂ C	D ₃	D ₄	D ₅	D ₆	D ₇	D _{7b} *	D ₉	D ₁₀	D ₂	D ₆	D ₇	D ₇	D ₈
Spezifität / Specificity		Standard RHD														
D-positiv		+														
D-negativ, cc																
D-negativ, Cc oder / or CC		+														
		RHV Varianten / RHD Variants														
DII n.t.	Cde	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					+
DIIIa, IIIc, III type 4 n.t.	cDe, CDe, CDE	+	+		+	+	+	+	+	+	+					
DIIIb n.t.	cDe	+		+	+	+	+	+	+	+	+					
DIVa n.t.	cDe	+	+		+	+	+			+	+					
DIVb, Ivb(J) n.t.	CDe	+	+	+	+	+	+				+					
DIV type 3	CDe	+	+	+	+	+										
DIV type 4	CDe	+	+	+	+	+			+	+	+				+	
Dva, Va-like, Va-associated, DBS	CDe	+	+	+	+		+	+	+	+	+					
DVI type 1	cDe	+	+	+			+	+	+	+	+					
DVI type 2	CDe	+	+	+			+	+	+	+	+					
DVI type 3	CDe	+	+					+	+	+	+					
DVI type 4 [DHMI] n.t.	CDe, CDE	+	+				+	+	+	+	+					
DVII	CDe	+	+	+		+	+	+	+	+	+	+				
DAR (weak D type 4.2)	cDe	+	+	+	+	+	+	+		+	+					
DAU-0, DAU-1, DAU-2, DAU-3	cDe	+	+	+	+		+	+	+	+	+					+
DAU-4, [DAU-5] n.t.	cDe	+	+	+	+		+	+	+	+	+					+
DBT type 1	CDe	+	+	+	+						+					
DBT type 2 n.t.	CDe	+	+	+	+						+					
DFR ◆ oder / or RHD psi		+	+	+		+	+	+	+	+	+					
DHMI	cDe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+			
DNB	CDe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+		
RHCE-D(5)-CE (DHAR (Rh33))	cDe					+										
RHCE(1-9)-D(10)	cDe										+					
RHD-CE(2-9)-D	Cde	+	+								+					
RHD-CE(2-7)-D	Cde	+							+	+	+					
RHD-CE(3-7)-D d(C)ce ^s	Cde	+	+						+	+	+					
RHD-CE(4-7)-D	cDe	+	+	+						+	+					
RHD-CE(8-9)-D	Cde	+	+	+	+	+	+	+			+					
RHD(delEx9) ◆	CDe	+	+	+	+	+	+	+	+		+					
RHD(1-9)-CE(10), weak D type 20 ◆		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
RHD(Q41X) n.t.	Cde															
DCS, [DFW, DHR, DIM, DNU] n.t.	diverse, various	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					

n.t. / [] n.t. = not tested currently

Genotyp Genotype	Phänotyp Phenotype	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

Beispiel siehe Kurzanleitung / Please see short instructions for examples

Proben-ID / Sample ID:

Name / Name:

Geb.-Datum / Date of birth:

Ergebnis / Result:

Datum / Date:

Unterschrift / Signature:

Gelbild / Gel picture:

Version 4.0 - 07/2014

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 Amplikate 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 / Example

Reaktions-Nr. / Reaction No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
D positive	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					