

Mode d'emploi de l'*ipsogen*[®] RT Kit (fiche technique)



Version 2

IVD

Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro



REF

679823



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

R2

MAT

1133762FR

Table des matières

Utilisation prévue	3
Description	3
Contenu du kit	4
Matériel nécessaire, mais non fourni	5
Consommables	5
Réactifs	5
Équipement	5
Informations de sécurité	6
Informations d'urgence	6
Contrôle de la qualité	7
Transport et conservation	7
Conservation et manipulation des échantillons	7
Protocole : transcription inverse	8
Symboles	11
Informations sur les commandes	13
Historique des révisions du document	14

Utilisation prévue

Utilisation prévue pour le diagnostic *in vitro*.

L'*ipsogen*® RT Kit contient tous les réactifs, excepté la matrice, nécessaires à la réaction de transcription inverse sur l'ARN extrait d'échantillons humains. L'*ipsogen* RT Kit est destiné à être utilisé en combinaison avec les dispositifs de diagnostic *in vitro* QIAGEN pour lesquels l'*ipsogen* RT Kit est répertorié comme un kit accessoire.

L'*ipsogen* RT Kit n'est pas un dispositif automatisé.

L'*ipsogen* RT Kit est destiné à être utilisé uniquement par les professionnels ayant reçu les instructions et la formation spécialement liées aux techniques de biologie moléculaire et étant familiarisés avec la technologie du dispositif. La procédure du dispositif doit être exécutée dans un environnement de laboratoire de biologie moléculaire.

L'*ipsogen* RT Kit est conçu pour une utilisation en diagnostic *in vitro*.

Description

L'*ipsogen* RT Kit permet la transcription inverse de l'ARN total à utiliser dans les tests diagnostics moléculaires : l'activité de l'ADN polymérase ARN-dépendante (transcription inverse) transcrit l'ADNc à partir d'une matrice d'ARN.

Contenu du kit

Contenu	Volume (µl)
Reverse Transcriptase (transcriptase inverse)	36
5x RT Buffer for reverse transcription (5x tampons RT pour la transcription inverse)	180
dNTP Mix* (mélange dNTP)	72
Random Primer (amorce aléatoire) †	190
RNase Inhibitor (inhibiteur de RNase)	18
DTT ‡	45

* Désoxynucléotides de 10 mM chacun

† Oligonucléotide nonamère aléatoire

‡ Dithiothréitol, 0,1 M

Matériel nécessaire, mais non fourni

Consommables

- Eau sans nucléase pour PCR
- Tubes sans nucléase de 0,5 ml ou 0,2 ml

Réactifs

- Eau sans nucléase pour PCR

Remarque : Veiller à consulter le manuel des produits QIAGEN pour lesquels l'*ipsogen* RT Kit est répertorié comme un kit accessoire, afin de savoir si une référence d'eau spécifique doit être utilisée.

Équipement

- Pipettes réglables* spécialement conçues pour la RT-PCR (1-10 µl ; 10-100 µl ; 20-200 µl ; 100-1 000 µl)

Remarque : Deux jeux de pipettes sont recommandés au minimum : le premier pour la préparation et la distribution des mélanges réactionnels RT et le second pour la manipulation de l'ARN.

- Centrifugeuse de paillasse* avec rotor pour tubes de réaction de 0,2 ml/0,5 ml (capable d'atteindre 8 000 x g ou 10 000 tr/min)
- Spectrophotomètre*
- Thermocycleur* répertorié dans le mode d'emploi du produit de diagnostic *in vitro* combiné QIAGEN pour lequel l'*ipsogen* RT Kit est répertorié comme un kit accessoire
- Bloc chauffant
- Glace ou microtube et refroidisseur de plaque de PCR

* Avant utilisation, s'assurer que les instruments ont été vérifiés et calibrés conformément aux recommandations du fabricant.

Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, toujours porter un sarrau de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, veiller à consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles en ligne au format PDF pratique et compact à l'adresse www.qiagen.com/safety où il est possible de trouver, de consulter et d'imprimer les FDS de chaque kit et composant de kit QIAGEN.

Pour les informations de sécurité relatives à tous les autres éléments figurant dans la section « Matériel nécessaire, mais non fourni », il convient de consulter la FDS correspondante (pour les réactifs) et les manuels d'utilisation des instruments concernés.

Mettre au rebut les déchets d'échantillons et de dosages conformément aux règles de sécurité locales.

Les avertissements et conseils de prudence suivants s'appliquent aux composants de l'*ipsogen* RT Kit :

DTT

Contient : (R*, R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol. Avertissement ! Provoque une légère irritation cutanée. Porter des gants de protection, des vêtements de protection, un équipement de protection des yeux/du visage.

Informations d'urgence

CHEMTREC

En dehors des États-Unis et du Canada +1 703-527-3887

Contrôle de la qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot d'*ipsogen* RT Kit est testé sur la base de caractéristiques prédéterminées pour garantir une qualité constante du produit.

Transport et conservation

L'*ipsogen* RT Kit est expédié sur un lit de carboglace et doit être conservé entre -30 et -15 °C dès la réception, dans un congélateur à température constante.

Lorsqu'il est stocké dans les conditions de conservation spécifiées, l'*ipsogen* RT Kit est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la boîte.

Une fois ouverts, les réactifs peuvent être conservés dans leur emballage d'origine à une température comprise entre -30 et -15 °C jusqu'à la date de péremption indiquée. Éviter de répéter les cycles de congélation/décongélation. Ne pas dépasser un maximum de 7 cycles de congélation/décongélation.

Tous les composants conservés dans des conditions autres que celles mentionnées sur l'étiquetage peuvent ne pas fonctionner correctement et affecter les résultats des dosages.

Conservation et manipulation des échantillons

Après sa séparation, l'ARN purifié peut être conservé à une température comprise entre -30 et -15 °C ou à une température plus faible (-90 à -65 °C) si une conservation de longue durée est nécessaire.

Protocole : transcription inverse

Points importants avant de commencer

- Vérifier que les réactifs à utiliser ne sont pas périmés et qu'ils ont été transportés et conservés selon les recommandations du fabricant.
- Le contrôle RT-négatif (RT-nég) est généré lors de l'étape de transcription inverse à l'aide d'eau sans nucléase pour PCR.

Remarque : Veiller à consulter le manuel des produits QIAGEN pour lesquels l'*ipsogen* RT Kit est répertorié comme un kit accessoire, afin de savoir si une référence d'eau spécifique doit être utilisée pour le RT-nég.

- La quantité nécessaire à la sortie est de 1 µg d'ARN par échantillon.

Étapes préliminaires

- Nettoyer la zone de la paillasse consacrée à la préparation du mélange pour transcription inverse (RT) afin d'éviter toute contamination de matrice ou de nucléase.
- Décongeler tous les composants nécessaires, à l'exception de la transcriptase inverse et de l'inhibiteur de RNase, qui doivent être conservés au congélateur quand ils ne sont pas utilisés, et les placer sur de la glace ou dans un microtube et un refroidisseur de plaque de PCR.

Remarque : L'étape de décongélation ne doit pas dépasser 30 minutes afin d'éviter toute dégradation du matériel.

- Mélanger doucement en retournant les tubes plusieurs fois (ne pas agiter au vortex), puis passer brièvement à la centrifugeuse avant utilisation pour prélever le liquide au fond du tube.
- Ajuster les échantillons d'ARN à 0,1 µg/µl avec de l'eau sans nucléase.

Remarque : Veiller à consulter le manuel des produits QIAGEN pour lesquels l'*ipsogen* RT Kit est répertorié comme un kit accessoire, afin de savoir si une référence d'eau spécifique doit être utilisée pour les protocoles de normalisation des échantillons d'ARN, mais aussi pour les protocoles de quantification, qualification et normalisation de l'ARN le cas échéant.

Procédure

1. Incuber 1 µg de chaque échantillon d'ARN à tester (10 µl) pendant 5 minutes à 65 °C avec le bloc chauffant.
2. Refroidir l'échantillon à 4 °C dans un bloc chauffant et conserver entre 2 °C et 8 °C ou sur de la glace (ou dans un microtube et un refroidisseur de plaque de PCR).
3. Centrifuger brièvement pour que le liquide soit rassemblé au fond du tube. Conserver sur de la glace (ou dans un microtube et un refroidisseur de plaque de PCR).
4. Préparer le prémélange de transcription inverse sur de la glace ou dans un refroidisseur de microtube et conserver sur de la glace (ou dans un microtube et un refroidisseur de plaque de PCR). Voir Tableau 1.

Tableau 1. Préparation du prémélange de transcription inverse*

Composant de prémélange	Volume par échantillon (µl)	Concentration finale
5x tampons de transcriptase inverse	5,0	1x
dNTP (10 mM chacun)	2,0	0,8 mM
Nonamère aléatoire (100 µM)	5,25	21 µM
Inhibiteur de RNase (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Transcriptase inverse (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	–
Volume de prémélange RT par échantillon	15	

* Préparer un volume de prémélange pour n + 1 réactions, où n correspond au nombre d'échantillons d'ARN à tester.

5. Mélanger délicatement par aspiration-refoulement avec la pipette (ne pas agiter au vortex), centrifuger brièvement et ajouter 15 µl du prémélange à chaque échantillon d'ARN et au témoin eau (RT-nég). Conserver sur de la glace (ou dans un microtube et refroidisseur de plaque de PCR).
6. Mélanger délicatement chaque tube par aspiration-refoulement avec la pipette (ne pas agiter au vortex) et centrifuger brièvement.
7. Effectuer le programme de transcription inverse (voir Tableau 2) sur un thermocycleur.

Tableau 2. Programme de transcription inverse

Étape	Durée
Transcription inverse 1	25 °C pendant
Transcription inverse 2	50 °C pendant 60 minutes
Inactivation	85 °C pendant 5 minutes
Refroidissement	4 °C pendant 5 minutes

8. Centrifuger brièvement pour que l'ADNc soit rassemblé au fond du tube.
9. Conserver entre 2 et 8 °C ou sur de la glace (ou dans un microtube et refroidisseur de plaque de PCR) et passer au qPCR.

Symboles

Les symboles suivants apparaissent dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et l'étiquetage :

Symbole	Définition du symbole
	Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions
	Date limite d'utilisation
	Ce produit est conforme aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Numéro de référence
	Numéro de lot
	Numéro de matériel (c.-à-d. étiquette de composant)
	Code article international
	Identificateur unique de dispositif
	Contient

Symbole

Définition du symbole



Composant



Numéro

Rn

R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision



Limites de température



Fabricant



Consulter le mode d'emploi pouvant être téléchargé sur resources.qiagen.com/679823



Attention, consulter les documents joints

Informations sur les commandes

Produit	Contenu	N° de réf.
<i>ipsogen</i> ® RT Kit	Pour 24 échantillons : transcriptase inverse, 5x tampons RT, mélange dNTP, amorce aléatoire, inhibiteur de RNase, DTT	679823

Pour obtenir des informations actualisées sur les licences et les clauses de responsabilité spécifiques aux produits, consulter le mode d'emploi du kit QIAGEN correspondant. Le mode d'emploi des kits QIAGEN est disponible sur le site www.qiagen.com ou peuvent être demandées aux services techniques de QIAGEN ou à votre distributeur local.

Historique des révisions du document

Révision	Description
R1, août 2022	Version initiale
R2, juillet 2024	Ajout d'une précision dans la section Utilisation prévue indiquant que l' <i>ipsogen</i> RT Kit n'est pas un dispositif automatisé Mise à jour de la section Informations de sécurité pour actualiser l'avertissement DTT et ajouter les informations d'urgence CHEMTREC

Contrat de licence limité pour l'*ipsogen*® RT Kit

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit doit être utilisé uniquement avec les composants du panel, conformément aux protocoles fournis avec le produit et à ce mode d'emploi. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce panel avec tout autre composant non fourni dans ce panel, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce mode d'emploi et dans d'autres protocoles disponibles sur le site www.qiagen.com. Certains de ces protocoles supplémentaires ont été fournis par les utilisateurs de QIAGEN pour les utilisateurs de QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenu pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tierces parties.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce panel et/ou sa ou ses utilisations ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce panel et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du panel consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce Contrat de licence limité par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de Contrat de licence limité ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au panel et/ou à ses composants.

Pour les termes de licence mis à jour, voir www.qiagen.com.

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, *ipsogen*®. Les noms déposés, les marques de commerce, etc., cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

07/2024 HB-2939-002 1133762 ©2024 QIAGEN, tous droits réservés.

Pour commander www.qiagen.com/shop | Assistance technique support.qiagen.com | Site Web www.qiagen.com