



August 2022

*ipsogen*<sup>®</sup> RT Kit

## Gebrauchsanweisung (Produktblatt)

Version 2

IVD



REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden

R1 MAT

1128912DE

## Verwendungszweck

### **In-vitro-Diagnostikum**

Das *ipsogen* RT Kit enthält außer dem Template alle Reagenzien zur Durchführung einer reversen Transkriptionsreaktion an RNA, die aus menschlichen Proben extrahiert wurde. Das *ipsogen* RT Kit ist für die Verwendung in Kombination mit QIAGEN Produkten für die *In-vitro*-Diagnostik vorgesehen, für die das *ipsogen* RT Kit als Zubehörkit aufgeführt ist.

Das *ipsogen* RT Kit darf nur von Personen verwendet werden, die für die Anwendung molekularbiologischer Verfahren und das hier beschriebene System speziell eingewiesen und geschult wurden. Das Geräteverfahren ist in einer molekularbiologischen Laborumgebung durchzuführen.

Das *ipsogen* RT Kit ist für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

### **Beschreibung**

Das *ipsogen* RT Kit dient zur reversen Transkription der Gesamt-RNA in molekulardiagnostischen Tests: Die RNA-abhängige DNA-Polymeraseaktivität (reverse Transkription) transkribiert cDNA von einem RNA-Template.

## Kit-Inhalt

Reverse Transcriptase (reverse Transkriptase)	36 µl
5x RT Buffer for reverse transcription (RT-Puffer für die reverse Transkription)	180 µl
dNTP Mix (dNTP-Gemisch) *	72 µl
Random Primer (Random-Primer) †	190 µl
RNase Inhibitor (RNase-Inhibitor)	18 µl
DTT ‡	45 µl

\* Desoxynukleotide, je 10 mM

† Random-Nonamer-Oligonukleotid

‡ Dithiothreitol, 0,1 M

## Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

### Verbrauchsmaterialien

- Nukleasefreie, aerosolbeständige, sterile PCR-Pipettenspitzen mit hydrophoben Filtern
- Nukleasefreie 0,5-ml- oder 0,2-ml-Röhrchen

### Reagenzien

- Nukleasefreies Wasser (PCR-Qualität)

**Hinweis:** Bitte sehen Sie das Handbuch der QIAGEN Produkte ein, für die das *ipsogen* RT Kit als Zubehörkit aufgeführt ist, um zu überprüfen, ob eine bestimmte Wasserreferenz verwendet werden muss.

## Ausstattung/Geräte

- Einstellbare Pipetten\* für die RT-PCR (1–10 µl, 10–100 µl, 20–200 µl, 100–1.000 µl)  
**Hinweis:** Es wird der Gebrauch von mindestens zwei Sätzen Pipetten empfohlen: einen Satz für die Vorbereitung und Verteilung der RT-Reaktionsgemische und einen für die RNA-Handhabung.
- Tischzentrifuge\* mit Rotor für 0,2-ml-/0,5-ml-Reaktionsröhrchen (geeignet für 8.000 g oder 10.000 U/min)
- Spektralphotometer\*
- Thermocycler\*
- Heizblock
- Eis oder Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten

\* Stellen Sie vor dem Gebrauch sicher, dass die Geräte gemäß den Empfehlungen des Herstellers geprüft und kalibriert wurden.

## Transport und Lagerung

Das *ipsogen* RT Kit wird auf Trockeneis ausgeliefert und muss unmittelbar nach dem Empfang lichtgeschützt bei  $-30\text{ °C}$  bis  $-15\text{ °C}$  in einem Gefrierschrank mit konstanter Temperatur gelagert werden.

Bei Lagerung unter den angegebenen Lagerungsbedingungen ist das *ipsogen* RT Kit bis zum Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatums stabil.

Nach dem Öffnen können die Reagenzien in der Originalverpackung bis zu dem angegebenen Verfallsdatum bei  $-30\text{ °C}$  bis  $-15\text{ °C}$  gelagert werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren ist zu vermeiden. 7 Einfrier-/Auftauzyklen dürfen nicht überschritten werden.

Komponenten, die unter anderen als den auf den Etiketten angegebenen Bedingungen gelagert werden, sind möglicherweise nicht voll funktionsfähig und können die Assayergebnisse beeinträchtigen.

## Lagerung und Handhabung der Proben

Aufgereinigte RNA kann nach der Isolierung bei  $-30\text{ °C}$  bis  $-15\text{ °C}$  oder bei niedrigeren Temperaturen ( $-90\text{ °C}$  bis  $-65\text{ °C}$ ) aufbewahrt werden, wenn eine Langzeitlagerung erforderlich ist.

## Protokoll: Reverse Transkription

### Wichtige Hinweise vor Beginn

- Vergewissern Sie sich, dass die zu verwendenden Reagenzien nicht abgelaufen sind und gemäß den Empfehlungen des Herstellers transportiert und gelagert wurden.
- Die RT-Negativkontrolle (RT-Neg) wird während des Schritts der reversen Transkription mit nukleasefreiem Wasser in PCR-Qualität angesetzt.  
**Hinweis:** Bitte sehen Sie das Handbuch der QIAGEN Produkte ein, für die das *ipsogen* RT Kit als Zubehörkit aufgeführt ist, um zu überprüfen, ob für RT-Neg eine bestimmte Wasserreferenz verwendet werden muss.
- Die benötigte Aufgabemenge beträgt 1 µg RNA pro Probe.

### Vorbereitende Schritte

- Reinigen Sie den Arbeitsbereich, der für die Herstellung des RT-Gemisches vorgesehen ist, um sicherzustellen, dass es nicht zur Kontamination durch Template oder Nuklease kommt.
- Tauen Sie alle benötigten Komponenten auf und stellen Sie sie auf Eis oder in einen Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten. Ausgenommen hiervon sind die reverse Transkriptase und der RNase-Inhibitor, die bei Nichtgebrauch im Gefrierschrank aufbewahrt werden müssen.  
**Hinweis:** Begrenzen Sie die Auftauzeit auf 30 Minuten, um eine Zersetzung des Materials zu verhindern.
- Mischen Sie vorsichtig, indem Sie die Röhrchen mehrmals umschwenken (nicht vortexieren) und zentrifugieren Sie kurz, damit sich die Lösung am Boden des Röhrchens sammelt.
- Stellen Sie die RNA-Proben mit nukleasefreiem Wasser auf 0,1 µg/µl ein.  
**Hinweis:** Bitte sehen Sie das Handbuch der QIAGEN Produkte ein, für die das *ipsogen* RT Kit als Zubehörkit aufgeführt ist, um zu überprüfen, ob für die Normalisierung der RNA-Proben und ggf. für die Protokolle zur Quantifizierung, Qualifizierung und Normalisierung der RNA eine bestimmte Wasserreferenz verwendet werden muss.

## Verfahren

1. Inkubieren Sie 1 µg jeder zu testenden RNA-Probe (10 µl) 5 Minuten lang bei 65 °C in einem Heizblock.
2. Kühlen Sie die Probe bei 4 °C in einem Heizblock und bewahren Sie sie bis zur Verwendung bei 2 °C bis 8 °C oder auf Eis (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf.
3. Zentrifugieren Sie kurz, damit sich der Flüssigkeit am Boden des Röhrchens sammelt. Bewahren Sie auf Eis oder (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf.
4. Bereiten Sie den Prämix für die reverse Transkription auf Eis oder in einem Kühler für Mikroröhrchen vor und bewahren Sie ihn auf Eis (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf (siehe Tabelle 1).

**Tabelle 1. Vorbereitung des Prämixes für die reverse Transkription\***

Prämix-Komponente	Volumen pro Probe (µl)	Endkonzentration
5x Puffer für die reverse Transkriptase	5,0	1x
dNTP (je 10 mM)	2,0	0,8 mM
Random-Nonamer (100 µM)	5,25	21 µM
RNase-Inhibitor (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Reverse Transkriptase (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-
<b>RT-Prämix-Volumen pro Probe</b>	<b>15</b>	

\* Bereiten Sie das Prämix-Volumen für n + 1 Reaktionen vor, wobei n die Anzahl der zu testenden RNA-Proben ist.

5. Mischen Sie vorsichtig durch Auf- und Abpipettieren (nicht vortexieren), zentrifugieren Sie kurz und geben Sie 15 µl Prämix zu jeder RNA-Probe und zur Wasserkontrolle (RT-Neg) zu. Bewahren Sie auf Eis oder (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf.
6. Mischen Sie jedes Röhrchen vorsichtig durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren (nicht vortexieren) und zentrifugieren Sie kurz.
7. Führen Sie in einem Thermocycler das Programm für die reverse Transkription (siehe Tabelle 2) aus.

**Tabelle 2. Programm für die reverse Transkription**

Reverse Transkription 1	25 °C für 10 min
Reverse Transkription 1	50 °C für 60 min
Inaktivierung	85 °C für 5 min
Kühlung	4 °C für 5 min

8. Zentrifugieren Sie kurz, damit sich die cDNA am Boden des Röhrchens sammelt.
9. Bewahren Sie bei 2 °C bis 8 °C oder auf Eis (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf und führen Sie die qPCR durch.



## Symbole



Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.



In-vitro-Diagnostikum



Katalognummer



Materialnummer



Chargenbezeichnung



Global Trade Item Number



Einmalige Produktkennung



Enthält



Komponente



Anzahl

Rn

R = Revision des Produktblatts, n = Revisionsnummer



Verwendbar bis



Temperaturbegrenzung



Hersteller i. S. d. Gesetzes



Beachten Sie die Gebrauchsanweisung, die Sie unter [resources.qiagen.com/679823](https://resources.qiagen.com/679823) herunterladen können



<N>

Inhalt ausreichend für <N> Reaktionen

## Sicherheitshinweise

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien stets einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen finden Sie in den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (SDB). Diese sind im praktischen, kompakten PDF-Format online unter [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) verfügbar; hier können Sie die Sicherheitsdatenblätter zu allen Kits und Kit-Komponenten von QIAGEN® einsehen und ausdrucken.

Sicherheitshinweise zu allen anderen „Erforderlichen, nicht mitgelieferten Materialien“ finden Sie im jeweiligen SDB für Reagenzien und in den entsprechenden Benutzerhandbüchern der Geräte.

Für die Komponenten des *ipsogen* RT Kits gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise:

### DTT

Warnung! Verursacht leichte Reizungen von Augen, Haut und Schleimhäuten. Wenn eine Reizung auftritt: ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Proben- und Assayabfälle sind gemäß den örtlichen Sicherheitsbestimmungen zu entsorgen.

## Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagementsystem von QIAGEN wird jede Charge des *ipsogen* RT Kits zur Gewährleistung einer einheitlichen Produktqualität nach festgelegten Prüfkriterien getestet.

## Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>ipsogen</i> <sup>®</sup> RT Kit	Für 24 Proben: Reverse Transkriptase, 5x RT-Puffer, dNTP-Gemisch, Random-Primer, RNase-Inhibitor, DTT	679823

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie im jeweiligen QIAGEN Kit-Handbuch oder Benutzerhandbuch. QIAGEN Kit-Handbücher und Benutzerhandbücher sind unter [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) verfügbar oder können beim technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

## Revisionsverlauf des Dokuments

Datum	Änderungen
08/2022	Erste Überarbeitung

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, *ipsogen*® (QIAGEN Group). Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.

1128912DE 08/2022 HB-2939-001 © 2022 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Bestellungen [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Technischer Support [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)