

Upute za uporabu kompleta *ipsogen*[®] RT Kit (specifikacijski list proizvoda)



24

Inačica 2

IVD

Za in vitro dijagnostičku uporabu



REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, NJEMAČKA

R2

MAT

1133762HR

Sadržaj

Predviđena uporaba _____	3
Opis _____	3
Sadržaj kompleta _____	4
Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni _____	5
Potrošni materijal _____	5
Reagensi _____	5
Oprema _____	5
Sigurnosne informacije _____	6
Podaci o kontaktu za hitne slučajeve _____	6
Kontrola kvalitete _____	7
Oprema i pohrana _____	7
Pohrana ispitaka i rukovanje ispircima _____	7
Protokol: obrnuta transkripcija _____	8
Simboli _____	11
Informacije za naručivanje _____	13
Povijest revizije dokumenta _____	14

Predviđena uporaba

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

Komplet *ipsogen*[®] RT Kit sadržava sve reagense, osim predloška, potrebne za izvođenje reakcije obrnute transkripcije na RNK ekstrahiranoj iz humanih uzoraka. Komplet *ipsogen* RT Kit namijenjen je za uporabu u kombinaciji s *in vitro* dijagnostičkim proizvodima tvrtke QIAGEN za koje je komplet *ipsogen* RT Kit naveden kao pomoćni komplet.

Komplet *ipsogen* RT Kit nije automatizirani uređaj.

Komplet *ipsogen* RT Kit namijenjen je za uporabu samo osoblju koje je primilo posebne upute i obučeno je za tehnike molekularne biologije te je upoznato s tehnologijom proizvoda. Postupak za primjenu proizvoda treba se implementirati u okruženju laboratorija za molekularnu biologiju.

Komplet *ipsogen* RT Kit namijenjen je za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

Opis

Komplet *ipsogen* RT Kit omogućuje uporabu obrnute transkripcije ukupne RNK u molekularnom dijagnostičkom testiranju: aktivnost RNK-ovisne DNK-polimeraze (obrnuta transkripcija) transkribira cDNK iz predloška RNK.

Sadržaj kompleta

Sadržaj	Volumen (µl)
Reverse Transcriptase (Obmuta transkriptaza)	36
5x RT Buffer for reverse transcription (5x RT pufer za obmutu transkripciju)	180
dNTP Mix* (dNTP mješavina*)	72
Random Primer (Nasumična početnica) †	190
RNase Inhibitor (Inhibitor RNaze)	18
DTT ‡	45

* Deoksinukleotidi, svaki 10 mM

† Nasumični nonamerni oligonukleotid

‡ Ditiotreitol, 0,1 M

Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni

Potrošni materijal

- Voda stupnja čistoće za PCR bez nukleaze
- Epruvete bez nukleaze od 0,5 ml ili 0,2 ml

Reagensi

- Voda stupnja čistoće za PCR bez nukleaze

Napomena: pogledajte priručnik za proizvode tvrtke QIAGEN za koje je komplet *ipsogen* RT Kit naveden kao pomoćni komplet kako biste saznali je li potrebno upotrebljavati posebnu referencu za vodu.

Oprema

- Prilagodljive pipete* namijenjene za RT-PCR (1 – 10 µl; 10 – 100 µl; 20 – 200 µl; 100 – 1000 µl)

Napomena: preporučuju se minimalno dva skupa pipeta: jedan za pripremu i distribuciju RT reakcijske mješavine, a jedan za rukovanje s RNK.

- Stolna centrifuga* s rotorom za reakcijske epruvete od 0,2 ml / 0,5 ml (koja može postići 8000 x g ili 10.000 o/min)
- Spektrofotometar*
- Termocikler* naveden u uputama za uporabu kombiniranog *in vitro* dijagnostičkog proizvoda tvrtke QIAGEN za koji je komplet *ipsogen* RT Kit naveden kao pomoćni komplet
- Blok za zagrijavanje
- Led ili mikroepreveta i hladnjak za PCR pločicu

* Prije uporabe provjerite jesu li instrumenti provjereni i kalibrirani prema preporukama proizvođača.

Sigurnosne informacije

Kada radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS). Oni su dostupni na mreži u praktičnom i kompaktnom PDF formatu na web-adresi www.qiagen.com/safety. Ondje možete pronaći, pregledati i ispisati sigurnosno-tehnički list (Safety Data Sheet, SDS) za svaki komplet QIAGEN i komponentu kompleta.

Za sigurnosne informacije koje se odnose na sve druge materijale koji su potrebni, ali nisu isporučeni pogledajte odgovarajući sigurnosno-tehnički list (Safety Data Sheet, SDS) za reagense i korisničke priručnike za odgovarajuće instrumente.

Bacite otpad od uzoraka i ispitivanja u skladu s lokalnim i sigurnosnim propisima.

Sljedeće izjave o opasnosti i mjerama opreza odnose se na komponente kompleta *ipsogen*RT Kit:

DTT

Sadržava: (R*, R*)- 1,4- dimerkaptobutan- 2,3- diol. Upozorenje! Uzrokuje blago nadraživanje kože. Nositi zaštitne rukavice / zaštitno odijelo / zaštitu za oči / zaštitu za lice.

Podaci o kontaktu za hitne slučajeve

CHEMTREC

Izvan SAD-a i Kanade +1 703-527-3887

Kontrola kvalitete

U skladu sa Sustavom upravljanja kvalitetom tvrtke QIAGEN koji nosi ISO certifikat, za svaku seriju kompleta *ipsogen* RT Kit testiraju se unaprijed određene specifikacije kako bi se osigurala ujednačena kvaliteta proizvoda.

Otprema i pohrana

Komplet *ipsogen* RT Kit isporučuje se na suhom ledu i odmah po primitku mora se pohraniti na temperaturi od -30 do -15 °C u zamrzivaču s konstantnom temperaturom.

Kada je pohranjen u specificiranim uvjetima pohrane, komplet *ipsogen* RT Kit stabilan je do isteka roka trajanja navedenog na naljepnici kutije.

Nakon otvaranja reagensi se mogu pohraniti u originalnom pakiranju na -30 do -15 °C do navedenog datuma isteka roka trajanja. Treba izbjegavati ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje. Nemojte premašivati maksimalno 7 ciklusa zamrzavanja i odmrzavanja.

Komponente koje se pohranjuju pod nekim drugim uvjetima, a ne onim koji su navedeni na naljepnicama, možda neće pravilno funkcionirati, što može negativno utjecati na rezultate ispitivanja.

Pohrana ispitaka i rukovanje ispiticima

Nakon izolacije pročišćena RNK može se pohraniti na temperaturi od -30 do -15 °C ili nižoj (od -90 do -65 °C) ako je potrebna dugoročna pohrana.

Protokol: obrnuta transkripcija

Važne napomene prije započinjanja

- Provjerite da reagensi koji će se upotrebljavati nisu istekli te jesu li transportirani i pohranjeni u skladu s preporukama proizvođača.
- RT negativna kontrola (RT-Neg) generira se tijekom koraka obrnute transkripcije primjenom vode bez nukleaze stupnja čistoće za PCR.

Napomena: pogledajte priručnik za proizvode tvrtke QIAGEN za koje je komplet *ipsogen* RT Kit naveden kao pomoćni komplet kako biste saznali je li potrebno upotrebljavati posebnu referencu za vodu za RT-Neg.

- Potrebna izlazna količina je 1 µg RNK po uzorku.

Postupci koje treba izvršiti prije započinjanja

- Očistite radnu površinu koja je namijenjena za pripremu mješavine za obrnutu transkripciju (RT) kako biste osigurali da ne dođe do kontaminacije predloškom ili nukleazom.
- Odmrznite sve potrebne komponente, osim obrnute transkriptaze i inhibitora RNaze, koji se moraju čuvati u zamrzivaču kada se ne upotrebljavaju, i stavite ih na led ili u mikroeprevetu i hladnjak za PCR pločicu.

Napomena: pobrinite se da korak odmrzavanja ne traje dulje od 30 minuta kako bi se izbjegla degradacija materijala.

- Nježno promiješajte preokretanjem epruvete nekoliko puta (ne miješajte vorteks miješalicom) i kratko centrifugirajte kako bi se tekućina skupila na dnu epruvete.
- Prilagodite uzorke RNK na 0,1 µg/µl vodom bez nukleaze.

Napomena: pogledajte priručnik za proizvode tvrtke QIAGEN za koje je komplet *ipsogen* RT Kit naveden kao pomoćni komplet kako biste saznali je li potrebno upotrebljavati posebnu referencu za vodu za normalizaciju uzoraka RNK, kao i za protokole za kvantifikaciju, kvalifikaciju i normalizaciju RNK kada je to primjenjivo.

Postupak

1. Inkubirajte 1 µg svakog uzorka RNK koji je potrebno testirati (10 µl) u trajanju od 5 min na 65 °C primjenom bloka za zagrijavanje.
2. Ohladite uzorak na 4 °C u bloku za zagrijavanje i držite na temperaturi od 2 do 8 °C ili na ledu (ili u mikroepreveti i u hladnjaku za PCR pločicu).
3. Kratko centrifugirajte kako bi se tekućina skupila na dnu epruvete. Držite na ledu (ili u mikroepreveti i hladnjaku za PCR pločicu).
4. Pripremite prethodnu mješavinu za obrnutu transkripciju na ledu ili u hladnjaku za mikroeprevetu i držite na ledu (ili u mikroepreveti i hladnjaku za PCR pločicu). Pogledajte tablicu 1.

Tablica 1. Priprema prethodne mješavine za obrnutu transkripciju*

Komponenta prethodne mješavine	Volumen po uzorku (µl)	Konačna koncentracija
5x pufer za obrnutu transkriptazu	5,0	1 x
dNTP (10 mM svaki)	2,0	0,8 mM
Nasumični nonamer (100 µM)	5,25	21 µM
Inhibitor RNaze (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Obrnuta transkriptaza (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	–
Volumen prethodne mješavine RT po uzorku	15	

* Pripremite volumen prethodne mješavine za n + 1 reakcija, pri čemu je n broj uzoraka RNK koji se trebaju testirati.

5. Pažljivo miješajte pipetiranjem gore i dolje (ne miješajte vorteks miješalicom), kratko centrifugirajte i dodajte 15 µl prethodne mješavine svakom uzorku RNK i kontroli na bazi vode (RT-Neg). Držite na ledu (ili u mikroepreveti i hladnjaku za PCR pločicu).

- Pažljivo promiješajte svaku epruvetu pipetiranjem gore i dolje nekoliko puta (ne miješajte vorteks miješalicom) i kratko centrifugirajte.
- Pokrenite program za obrnutu transkripciju (pogledajte tablicu 2.) pomoću termociklera.











Tablica 2. Program obrnute transkripcije

Korak	Vrijeme
Obnuta transkripcija 1	25 °C na 10 min
Obnuta transkripcija 2	50 °C na 60 min
Inaktivacija	85 °C na 5 min
Hlađenje	4 °C na 5 min

- Kratko centrifugirajte kako bi se cDNK skupila na dnu epruvete.
- Držite na temperaturi od 2 do 8 °C ili na ledu (ili u mikroepreveti i hladnjaku za PCR pločicu) i nastavite na qPCR.

Simboli

U uputama za uporabu ili na ambalaži i naljepnicama prikazuju se sljedeći simboli:

Simbol	Definicija simbola
	Sadržava reagensa dovoljno za <N> reakcija
	Upotrijebiti do
	Ovaj proizvod ispunjava zahtjeve Uredbe (EU) 2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima.
	In vitro dijagnostički medicinski proizvod
	Kataloški broj
	Broj serije
	Broj materijala (tj. oznaka komponente)
	Globalni broj trgovačke jedinice
	Jedinstvena identifikacija proizvoda
	Sadržava

Simbol**Definicija simbola**

Komponenta



Broj

Rn

R se odnosi na reviziju uputa za uporabu, a n je broj revizije



Ograničenje temperature



Proizvođač

Pogledajte upute za uporabu koje možete preuzeti s web-mjesta resources.qiagen.com/679823

Oprez, pročitajte prateće dokumente

Informacije za naručivanje

Proizvod	Sadržaj	Kat. br.
Komplet <i>ipsogen</i> [®] RT Kit	Za 24 uzorka: obrnuta transkriptaza, 5 x RT pufer, dNTP mješavina, nasumična početnica, inhibitor RNaze, DTT	679823

Ažurirane informacije o licenciranju i izjave o odricanju odgovornosti specifične za proizvod pogledajte u odgovarajućim uputama za uporabu za komplet tvrtke QIAGEN. Upute za uporabu za komplete tvrtke QIAGEN dostupne su na www.qiagen.com ili ih možete zatražiti od Tehničke službe tvrtke QIAGEN ili svojeg lokalnog distributera.

Povijest revizije dokumenta

Revizija	Opis
R1, kolovoz 2022.	Prvo izdanje
R2, srpanj 2024.	U odjeljak Predviđena uporaba dodano je pojašnjenje da komplet <i>ipsogen</i> RT Kit nije automatizirani uređaj Ažuriran je odjeljak Sigurnosne informacije radi ažuriranja upozorenja na DTT i dodavanja podataka o kontaktu za hitne slučajeve (CHEMTREC)

Ugovor o ograničenoj licenciji za komplet *ipsogen*[®] RT Kit

Uporabom ovog proizvoda svaki kupac ili korisnik proizvoda pristaje na sljedeće uvjete:

1. Proizvod se može upotrebljavati samo u skladu s protokolima koji su isporučeni s proizvodom i ovim uputama za uporabu i namijenjen je samo za uporabu s komponentama koje su sadržane u panelu. Tvrtka QIAGEN ne daje nikakvu licenciju za svoje intelektualno vlasništvo za uporabu ili objedinjavanje komponenata ovog panela s bilo kojom komponentom koja nije sadržana u ovom panelu, osim kako je opisano u protokolima koji su isporučeni s proizvodom, u ovim uputama za uporabu i drugim protokolima dostupnima na stranici www.qiagen.com. Neke od tih dodatnih protokola korisnici proizvoda tvrtke QIAGEN omogućili su drugim korisnicima proizvoda tvrtke QIAGEN. Tvrtka QIAGEN nije temeljito ispitala niti optimizirala te protokole. QIAGEN ne daje na njih nikakva jamstva niti jamči da ne krše prava trećih strana.
2. Osim izričito navedenih licencija, QIAGEN ne jamči da ovaj panel i/ili njegova uporaba ne krši prava trećih strana.
3. Ovaj panel i njegove komponente licencirani su samo za jednokratnu uporabu i ne smiju se ponovno upotrebljavati, prerađivati niti preprodavati.
4. QIAGEN se odriče svih drugih licencija, izričitih ili impliciranih, osim onih koje su izričito navedene.
5. Kupac i korisnik ovog panela potvrđuju da neće poduzimati korake niti dopustiti drugim osobama poduzimanje koraka koji bi mogli dovesti do kršenja gore navedenih odredbi ili omogućiti njihovo kršenje. QIAGEN može provesti zabrane navedene u ovom Ugovoru o ograničenoj licenciji na bilo kojem sudu te će potraživati sve sudske troškove i troškove postupka istraživanja, uključujući troškove odvjetnika, za svaku radnju s ciljem provedbe ovog Ugovora o ograničenoj licenciji ili bilo kojeg svojeg prava intelektualnog vlasništva povezanog s panelom i/ili njegovim komponentama.

Za ažurirane uvjete licencije pogledajte web-mjesto www.qiagen.com.

Zaštitni znakovi: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], *ipsogen*[®]. Registrirani nazivi, zaštitni znakovi itd. upotrijebljeni u ovom dokumentu, čak i ako nisu posebno označeni kao takvi, ne smiju se smatrati zakonski nezaštićenima.

07/2024 HB-2939-002 1133762 ©2024 QIAGEN, sva prava pridržana.

Narudžbe www.qiagen.com/shop | Tehnička podrška support.qiagen.com | Web-mjesto www.qiagen.com