



Augustus 2022

ipsogen[®] RT Kit

Gebruiksaanwijzing (Productblad)

Versie 2

IVD



REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden

R1 MAT

1128912NL

Beoogd gebruik

Voor *in-vitro*diagnostisch gebruik

De *ipsogen* RT Kit bevat alle reagentia (m.u.v. de template) die nodig zijn om een omgekeerde-transcriptiereactie uit te voeren op RNA dat is geëxtraheerd uit menselijke monsters. De *ipsogen* RT Kit is bedoeld voor gebruik in combinatie met *in-vitro*diagnostische producten van QIAGEN waarvoor de *ipsogen* RT Kit wordt genoemd als accessoirekit.

De *ipsogen* RT Kit is uitsluitend bedoeld voor gebruik door professionals die speciaal zijn opgeleid en getraind in het gebruik van moleculaire biologische technieken en bekend zijn met de technologie van het hulpmiddel. De hulpmiddelprocedure moet in een moleculair-biologische laboratoriumomgeving worden geïmplementeerd.

De *ipsogen* RT Kit is bedoeld voor gebruik voor *in-vitro*diagnostiek.

Beschrijving

Met de *ipsogen* RT Kit kunt u omgekeerde transcriptie van totaal-RNA ten behoeve van moleculaire diagnostiek uitvoeren: door de activiteit van de RNA-afhankelijke DNA-polymerase (omgekeerde transcriptie) wordt cDNA getranscribeerd uit een RNA-template.

Inhoud van de kit

Reverse Transcriptase (Omgekeerde transcriptase)	36 µl
5x RT Buffer for reverse transcription (5x RT-buﬀer voor omgekeerde transcriptie)	180 µl
dNTP Mix (dNTP-mengsel)*	72 µl
Random Primer (Willekeurige primer) †	190 µl
RNase Inhibitor (RNase-remmer)	18 µl
DTT ‡	45 µl

* Deoxynucleotiden, 10 mM per stuk

† Willekeurige nonameeroligonucleotide

‡ Dithiothreitol, 0,1 M

Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Verbruiksartikelen

- Nucleasevrije, aerosolbestendige, steriele PCR-pipetpunten met hydrofoob filter
- Nucleasevrije buisjes van 0,5 ml of 0,2 ml

Reagentia

- Nucleasevrij water van PCR-kwaliteit

Opmerking: raadpleeg de handleiding van QIAGEN-producten waarvoor de *ipsogen* RT Kit wordt genoemd als accessoirekit, om te zien of er een specifieke verwijzing naar water wordt gebruikt.

Apparatuur

- Verstelbare pipetten* bestemd voor RT-PCR (1-10 µl; 10-100 µl; 20-200 µl; 100-1.000 µl)
Opmerking: we aan raden minstens twee sets pipetten te gebruiken; een voor de voorbereiding en distributie van RT-reactiemengsels en een voor RNA-hantering.
- Tafelcentrifuge* met rotor voor reageerbuisjes van 0,2 ml/0,5 ml (die 8.000 x g of 10.000 tpm kan halen)
- Spectrofotometer*
- Thermocycler*
- Verwarmblok
- Ijs of microbuisje en PCR-plaatkoeler

* Verzeker u er voor gebruik van dat de apparaten zijn gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.

Transport en opslag

De *ipsogen* RT Kit wordt op droog ijs verzonden en moet onmiddellijk na ontvangst bij -30 °C tot -15 °C worden bewaard in een vriezer met een constante temperatuur.

Als de *ipsogen* RT Kit wordt bewaard in de gespecificeerde bewaarcondities, is de kit stabiel tot de vervaldatum die staat vermeld op het etiket op de doos.

Eenmaal geopend kunnen reagentia in de originele verpakking worden bewaard bij een temperatuur van -30 °C tot -15 °C tot de vervaldatum. Herhaaldelijk invriezen en ontdooien moet worden vermeden. Niet vaker dan 7 keer invriezen/ontdooien.

Componenten die onder andere omstandigheden dan de op de etiketten vermelde omstandigheden worden bewaard, werken mogelijk niet naar behoren en kunnen de assayresultaten negatief beïnvloeden.

Bewaren en hanteren van specimens

Gezuiverd RNA dat langdurig moet worden bewaard, kan na isolatie worden bewaard bij -30 °C tot -15 °C of kouder (-90 °C tot -65 °C).

Protocol: Omgekeerde transcriptie

Wat u moet weten voordat u begint

- Zorg ervoor dat de vervaldatum van de reagentia niet is verstreken en dat deze zijn vervoerd en bewaard volgens de aanbevelingen van de fabrikant.
- De RT-negatieve controle (RT-Neg) wordt tijdens de omgekeerde transcriptie gegenereerd met behulp van nucleasevrij water van PCR-kwaliteit.
Opmerking: raadpleeg de handleiding van QIAGEN-producten waarvoor de *ipsogen* RT Kit wordt genoemd als accessoirekit, om te zien of er een specifieke verwijzing naar water wordt gebruikt voor de RT-Neg.
- De vereiste inbreng is 1 µg RNA per monster.

Wat u moet doen voordat u begint

- Reinig het gedeelte van de tafel waarop u het mengsel voor omgekeerde transcriptie (RT) wilt bereiden om contaminatie met template of nucleasen te voorkomen.
- Ontdooi alle benodigde bestanddelen, behalve de omgekeerde transcriptase en de RNase-remmer. Deze twee bestanddelen moeten in de vriezer worden bewaard als ze niet worden gebruikt. Plaats de overige benodigde bestanddelen op ijs of in een microbuisje op een PCR-plaatkoeler.
Opmerking: ontdooi niet langer dan 30 minuten om degradatie van het materiaal te voorkomen.
- Meng voorzichtig door de buisjes meerdere keren om te draaien (niet vortexen) en deze daarna kort te centrifugeren om het vloeistof op de bodem van het buisje te verzamelen.
- Verdun de RNA-monsters tot 0,1 µg/µl met nucleasevrij water.
Opmerking: raadpleeg de handleiding van QIAGEN-producten waarvoor de *ipsogen* RT Kit wordt genoemd als accessoirekit, om te zien of er een specifieke verwijzing naar water wordt gebruikt voor RNA-monsternormalisatie en indien van toepassing voor RNA-kwantificering, -kwalificering en normalisatieprotocollen.

Procedure

1. Incubeer met behulp van een verwarmblok 1 µg van ieder RNA-monster dat u wilt testen (10 µl) gedurende 5 min. bij 65 °C.
2. Koel het monster bij 4 °C in een verwarmblok en bewaar tot gebruik bij 2 tot 8 °C of op ijs (of in een microbuisje op een PCR-plaatkoeler).
3. Centrifugeer het busje kort zodat alle vloeistof zich onder in het busje bevindt. Bewaar op ijs (of in een microbuisje op een PCR-plaatkoeler).
4. Bereid het voormengsel voor de omgekeerde transcriptie op ijs of in een microbuisjeskoeler en bewaar op ijs (of in een microbuisje op een PCR-plaatkoeler) (see tabel 1).

Tabel 1. Bereiden van het voormengsel voor de omgekeerde transcriptie*

Componenten van het voormengsel	Volume per monster (µl)	Uiteindelijke concentratie
5x omgekeerde-transcriptasebuffer	5,0	1x
dNTP (10 mM per stuk)	2,0	0,8 mM
Willekeurige nonameer (100 µM)	5,25	21 µM
RNase-remmer (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Omgekeerde transcriptase (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-
Volume RT-voormengsel per monster	15	

* Bereid voormengselvolume voor n+1 reacties, waarbij n het aantal RNA-monsters is dat wordt getest

5. Meng het voormengsel voorzichtig door het op en neer te pipetteren (niet schudden), centrifugeer het kort en voeg 15 µl van het voormengsel toe aan elk RNA-monster en aan de watercontrole (RT-Neg). Bewaar op ijs (of in een microbuisje op een PCR-plaatkoeler).
6. Meng de inhoud van elk busje voorzichtig door deze meerdere keren op en neer te pipetteren (niet schudden) en centrifugeer de busjes kortdurend.
7. Voor met behulp van een thermocycler het omgekeerde-transcriptieprogramma uit (zie tabel 2).

Tabel 2. Omgekeerde-transcriptieprogramma

Omgekeerde transcriptie 1	25 °C gedurende 10 min
Omgekeerde transcriptie 2	50°C gedurende 60 min
Inactivering	85°C gedurende 5 min
Koeling	4°C gedurende 5 min

- Centrifugeer het buisje kort zodat alle cDNA zich onder in het buisje bevindt.
- Bewaar bij 2 tot 8 °C of op ijs (of in een microbuisje op een PCR-plaatkoeler) en ga verder met de qPCR.

Symbolen



Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese verordening 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek



In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel



Catalogusnummer



Materiaalnummer



Partijnummer



Artikelnummer wereldhandel



Uniek hulpmiddel-identificatienummer



Bevat



Component



Nummer

Rn

R staat voor de revisie van het productblad en n is het revisienummer



Houdbaar tot



Temperatuurlimieten



Wettelijke fabrikant



Raadpleeg de gebruiksinstructies, die u kunt downloaden via

resources.qiagen.com/679823



<N>

Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties

Veiligheidsinformatie

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's). Deze zijn als handige, compacte pdf-bestanden beschikbaar op www.qiagen.com/safety. Hier kunt u ook het VIB voor elke QIAGEN®-kit en elk onderdeel van de kit vinden, bekijken en afdrukken.

Zie voor veiligheidsinformatie gerelateerd aan alle andere "Benodigde maar niet meegeleverde materialen" de respectievelijke VIB voor reagentia en aan de toepasselijke gebruikershandleidingen bij de instrumenten.

De volgende gevarenaanduidingen en voorzorgsmaatregelen zijn van toepassing op onderdelen van de *ipsogen* RT Kit:

DTT

Waarschuwing! Is mild irriterend voor de ogen, huid en slijmvliezen. Schakel onmiddellijk een arts in wanneer irritatie optreedt.

Gooi monster- en assayafval weg in overeenstemming met de plaatselijke veiligheidsvoorschriften.

Kwaliteitscontrole

In overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsbeheersysteem van QIAGEN wordt elke partij *ipsogen* RT Kit getest aan de hand van vooraf vastgestelde specificaties om consistente productkwaliteit te garanderen.

Bestelgegevens

Product	Inhoud	Cat.nr.
<i>ipsogen</i> [®] RT Kit	Voor 24 monsters: Omgekeerde transcriptase, 5x RT-buffer, dNTP-mengsel, willekeurige primer, RNase-remmer, DTT	679823

Raadpleeg de handleiding of gebruiksaanwijzing van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. Handleidingen en gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Geschiedenis van herziening document

Datum	Wijzigingen
08/2022	Oorspronkelijke herziening

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, *ipsogen*® (QIAGEN Group). Gedeponeerde namen, handelsmerken enz. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd.

1128912NL 08/2022 HB-2939-001 © 2022 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

Bestellen www.qiagen.com/shop | Technische ondersteuning support.qiagen.com | Website www.qiagen.com