



2022 m. rugpjūčio mėn.

ipsogen[®] RT Kit

Naudojimo instrukcijos (produkto instrukcija)

2 versija

IVD



REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden

R1 MAT

1128912LT

Numatytoji paskirtis

Skirta *in vitro* diagnostikai

Rinkinyje „*ipsogen* RT Kit“ yra visi reagentai (išskyrus matricą), reikalingi norint atlikti atvirkštinės transkripcijos reakciją RNR, išskirtoje iš žmogaus mėginių. „*ipsogen* RT Kit“ skirtas naudoti kartu su *in vitro* diagnostikos QIAGEN produktais, kurių aprašuose „*ipsogen* RT Kit“ nurodytas kaip papildomas rinkinys.

„*ipsogen* RT Kit“ skirtas naudoti tik specialistams, specialiai instrukuotiems ir išmokytiems naudoti molekulinės biologijos metodus ir susipažinusiems su priemonės technologija. Priemonės procedūra turi būti vykdoma molekulinės biologijos laboratorijos aplinkoje.

„*ipsogen* RT Kit“ skirtas *in vitro* diagnostikai.

Aprašas

Naudojant „*ipsogen* RT Kit“ galima atlikti bendros RNR atvirkštinę transkripciją, naudojamą molekulinuose diagnostiniuose testuose: nuo RNR priklausomos DNR polimerazės veikla (atvirkštinė transkripcija) transkribuoja cDNR iš RNR matricos.

Rinkinio turinys

„Reverse Transcriptase“ (atvirkštinė transkriptazė)	36 µl
5x „RT Buffer for reverse transcription“ (RT buferinis tirpalas, skirtas atvirkštinei transkripcijai)	180 µl
„dNTP Mix“ (dNTP mišinys)*	72 µl
„Random Primer“ (atsitiktinis pradmuo) †	190 µl
„RNase Inhibitor“ (ribonukleazės inhibitorius)	18 µl
DTT ‡	45 µl

* Deoksinukleotidai, kiekvienas po 10 mM

† Atsitiktinis nonamerinis oligonukleotidas

‡ Ditioneitolis, 0,1 M

Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos

Eksploataciniai reikmenys

- Aerosoliui atsparūs sterilūs PGR pipečių antgaliai be nukleazės su hidrofobiniais filtrais
- 0,5 ml arba 0,2 ml mėgintuvėliai be nukleazės

Reagentai

- PGR klasės vanduo be nukleazės

Pastaba. Peržiūrėkite QIAGEN produktų, kurių aprašuose „*ipsogen* RT Kit“ nurodytas kaip papildomas rinkinys, vadovą, kad sužinotumėte, ar reikia naudoti konkretaus tipo vandenį.

Įranga

- Reguliuojamo tūrio pipetės, * skirtos RT-PGR (1–10 µl; 10–100 µl; 20–200 µl; 100–1000 µl)

Pastaba. Rekomenduojami mažiausiai du pipečių rinkiniai: vienas skirtas RT reakcijos mišiniams paruošti ir paskirstyti, kitas – RNR naudoti.

- Stalinė centrifuga* su rotoriumi, skirta 0,2 ml / 0,5 ml reakcijų mėgintuvėliams (galinti pasiekti 8 000 x g arba 10 000 aps./min.)
- Spektrofotometras*
- Termocikleris*
- Kaitinimo blokas
- Ledas arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaisas

* Prieš naudodami įsitikinkite, kad visi instrumentai patikrinti ir sukalibruoti pagal gamintojo rekomendacijas.

Gabenimo ir laikymo sąlygos

„*ipsogen* RT Kit“ gabenamas ant sauso ledo ir iškart po gavimo turi būti laikomas nuo $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ iki $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, pastovios temperatūros šaldiklyje.

Laikant nurodytomis laikymo sąlygomis, „*ipsogen* RT Kit“ rinkinys išlieka stabilus iki galiojimo pabaigos datos, nurodytos ant dėžutės etiketės.

Atidarytus reagentus galima laikyti jų originalioje pakuotėje nuo $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ iki $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje iki nurodytos galiojimo pabaigos datos. Venkite pakartotinai atšildyti ir užšaldyti. Atlikite ne daugiau kaip 7 atšildymo ir užšaldymo ciklus.

Jei komponentai bus laikomi kitokiomis, nei ant etikečių nurodytomis sąlygomis, jie gali veikti netinkamai ir neigiamai paveikti tyrimo rezultatus.

Bandinių laikymas ir naudojimas

Jei reikia ilgą laiką saugoti, po išskyrimo išgryninta RNR gali būti laikoma nuo $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ iki $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ arba žemesnėje temperatūroje (nuo $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ iki $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Protokolas: atvirkštinė transkripcija

Svarbi informacija prieš pradedant

- Įsitinkite, kad naudojamų reagentų galiojimo laikas nepasibaigęs ir kad jie buvo gabenami ir laikomi pagal gamintojo rekomendacijas.
- RT neigiama kontrolinė medžiaga (RT-Neig) sukuriama atvirkštinės transkripcijos etape, naudojant PGR klasės vandenį be nukleazės.

Pastaba. Peržiūrėkite QIAGEN produktų, kurių aprašuose „*ipsogen* RT Kit“ nurodytas kaip papildomas rinkinys, vadovą, kad sužinotumėte, ar RT-Neig kontrolinei medžiagai reikia naudoti konkretaus tipo vandenį.

- Reikia įdėti 1 µg RNR į kiekvieną mėginį.

Ką reikia atlikti prieš pradedant

- Nuvalykite atvirkštinės transkripcijos (RT) mišinio paruošimui skirtą darbatalį, kad išvengtumėte matricos ar nukleazės užteršimo.
- Atšildykite visus reikalingus komponentus, išskyrus atvirkštinę transkriptazę ir RNazės inhibitorių, kurie turi būti laikomi šaldiklyje, kai yra nenaudojami, ir padėkite ant ledo arba į mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaisą.

Pastaba. Nevykdyskite atšildymo etapo ilgiau nei 30 minučių, kad medžiaga nesuirytų.

- Sumaišykite švelniai apversdami mėgintuvėlius kelis kartus (ne sukurinėje maišyklėje) ir trumpai centrifuguokite, kad mėgintuvėlio apačioje susirinktų skystis.
- Lašindami vandenį be nukleazės pakoreguokite RNR mėginius, kad būtų 0,1 µg/µl.

Pastaba. Peržiūrėkite QIAGEN produktų, kurių aprašuose „*ipsogen* RT Kit“ nurodytas kaip papildomas rinkinys, vadovą, kad sužinotumėte, ar RNR mėginių normalizavimui, taip pat RNR kiekybinio nustatymo, vertinimo ir normalizavimo protokolams, kai taikytina, reikia naudoti konkretaus tipo vandenį.

Procedūra

1. Naudodami kaitinimo bloką, inkubuokite 1 µg kiekvieno tiriamo RNR mėginio (10 µl) 5 minutes 65 °C temperatūroje.
2. Atvėsinkite mėginį 4 °C temperatūroje kaitinimo bloke ir laikykite nuo 2 °C iki 8 °C temperatūroje arba ant ledo (ar mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaise), kol naudosite.
3. Trumpai centrifuguokite, kad mėgintuvėlio apačioje susirinktų skystis. Laikykite ant ledo (arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaise).
4. Paruoškite atvirkštinės transkripcijos iš anksto paruošiamą mišinį ant ledo ar mikromėgintuvėlių vėsavimo prietaise ir laikykite ant ledo (arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaise) (žr. 1 lentelę).

1 lentelė. Atvirkštinės transkripcijos iš anksto paruošiamo mišinio paruošimas*

Iš anksto paruošto mišinio komponentas	Tūris vienam mėginiui (µl)	Galutinė koncentracija
5x atvirkštinės transkripcijos buferinis tirpalas	5,0	1x
dNTP (kiekvienas po 10 mM)	2,0	0,8 mM
Atsitiktinis nonameras (100 µM)	5,25	21 µM
RNRazės inhibitorius (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Atvirkštinė transkriptazė (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-
RT iš anksto paruošto mišinio tūris vienam mėginiui	15	

* Paruoškite iš anksto paruošiamą mišinį n +1 reakcijoms, kur n yra tiriamų RNR mėginių kiekis

5. Atsargiai sumaišykite įtraukdami ir išleisdami pipete (ne sukūrinėje maišyklėje), trumpai centrifuguokite ir į kiekvieną RNR mėginį ir vandens kontrolinę medžiagą (RT-Neig) įlašinkite 15 µl iš anksto paruošto mišinio. Laikykite ant ledo (arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsavimo prietaise).
6. Atsargiai sumaišykite įtraukdami ir išleisdami kiekvieno mėgintuvėlio turį pipete (ne sukūrinėje maišyklėje) ir trumpai centrifuguokite.
7. Termocikleriu vykdykite atvirkštinės transkripcijos programą (žr. 2 lentelę).

2 lentelė. Atvirkštinė transkripcijos programa

1 atvirkštinė transkripcija	25 °C temperatūroje 10 min.
2 atvirkštinė transkripcija	50 °C temperatūroje 60 min.
Inaktyvinimas	85 °C temperatūroje 5 min.
Vėsinimas	4 °C temperatūroje 5 min.

- Trumpai centrifuguokite, kad mėgintuvėlio apačioje susirinktų cDNR.
- Laikykite nuo 2 iki 8 °C temperatūroje ar ant ledo (arba mikromėgintuvėlių ir PGR plokštelių vėsinimo prietaiso) ir pereikite prie qPGR.

Simboliai



Šis produktas atitinka Europos reglamento 2017/746 dėl *in vitro* diagnostikos medicinos priemonių reikalavimus.



In vitro diagnostikos medicinos priemonė



Katalogo numeris



Medžiagos numeris



Partijos numeris



Visuotinis prekės numeris



Unikalūs priemonės identifikatoriai



Sudėtyje yra



Komponentas



Numeris

Rn

R – produkto duomenų lapo peržiūra, o n – peržiūros numeris



Tinka naudoti iki



Temperatūros apribojimai



Teisėtas gamintojas



Skaitykite naudojimo instrukcijas, kurias galima atsisiųsti svetainėje

resources.qiagen.com/679823



<N>

Sudėtyje yra pakankamas reagentų kiekis <N> reakcijoms atlikti

Saugos informacija

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis, visada dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinės pirštines ir naudokite apsauginius akinius. Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL). Juos patogiu ir kompaktišku PDF formatu rasite interneto svetainėje www.qiagen.com/safety. Čia galite rasti, perskaityti ir išsispausdinti kiekvieno QIAGEN® rinkinio ir rinkinio komponento SDL.

Saugos informacijos, susijusios su kitomis skyriuje „Reikalingos, tačiau nepateikiamos medžiagos“ nurodytomis medžiagomis, rasite atitinkamuose reagentų SDL ir instrumentų naudotojo vadovuose.

„*ipsogen* RT Kit“ komponentams taikomi toliau nurodyti pavojingumo ir atsargumo teiginiai.

DTT

Įspėjimas! Nežymiai dirgina akis, odą ir gleivines. Esant sudirginimui: kreiptis į gydytoją.

Mėginių ir tyrimų atliekas išmeskite laikydamiesi vietinių saugos reikalavimų.

Kokybės kontrolė

Vadovaujantis QIAGEN ISO sertifikuota Kokybės valdymo sistema, kiekviena „*ipsogen* RT Kit“ partija išbandoma pagal nustatytas specifikacijas, siekiant nuolat išlaikyti produktų kokybę.

Užsakymo informacija

Produktas	Turinys	Kat. Nr.
<i>ipsogen</i> [®] RT Kit	24 mėginiams: atvirkštinė transkriptazė, 5x RT buferinis tirpalas, dNTP mišinys, atsitiktinis pradmuo, ribonukleazės inhibitorius, DTT.	679823

Naujausia informacija apie licencijavimą ir tam tikrų gaminių garantinių įsipareigojimų ribojimą pateikta atitinkamame QIAGEN rinkinio vadove arba naudotojo vadove. QIAGEN rinkinių vadovai ir naudotojo vadovai pateikiami svetainėje www.qiagen.com arba galite jų paprašyti QIAGEN techninės priežiūros skyriaus ar vietinio platintojo.

Dokumento peržiūrų istorija

Data	Keitimai
2022-08	Pradinė versija

Prekių ženklai: QIAGEN®, „Sample to Insight®“, *ipsogen*® („QIAGEN Group“). Šiame dokumente vartojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jeigu jie nėra specialiai pažymėti, vis tiek saugomi įstatymų.

1128912LT 08/2022 HB-2939-001 © QIAGEN, 2022, visos teisės saugomos.

Užsakymas www.qiagen.com/shop | Techninė pagalba support.qiagen.com | Svetainė www.qiagen.com