



Agosto 2022

ipsogen[®] RT Kit

Istruzioni per l'uso (scheda prodotto)

Versione 2

IVD



REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden

R1 **MAT**

1128912IT

Uso previsto

Per uso diagnostico in vitro

ipsogen RT Kit contiene tutti i reagenti, tranne il template, necessari per eseguire una reazione di trascrizione inversa su RNA estratto da campioni umani. *ipsogen* RT Kit è destinato all'uso in combinazione con i prodotti di diagnostica *in vitro* QIAGEN per i quali *ipsogen* RT Kit è elencato come kit accessorio.

ipsogen RT Kit è destinato all'uso esclusivamente da parte di professionisti preparati e addestrati in modo specifico all'uso delle tecnologie di biologia molecolare e con competenze specifiche sulla tecnologia di questo dispositivo. La procedura del dispositivo deve essere implementata in un ambiente di laboratorio di biologia molecolare.

ipsogen RT Kit è destinato all'uso nella diagnostica *in vitro*.

Descrizione

ipsogen RT Kit consente la trascrizione inversa dell'RNA totale da utilizzare nei test di diagnostica molecolare: l'attività della DNA-polimerasi RNA-dipendente (trascrizione inversa) trascrive il cDNA da un modello di RNA.

Contenuto del kit

Reverse Transcriptase (Trascrittasi inversa)	36 µl
5x RT Buffer for reverse transcription (5x Tampone RT per trascrizione inversa)	180 µl
dNTP Mix (Miscela dNTP) *	72 µl
Random Primer (Primer Random) †	190 µl
RNase Inhibitor (Inibitore RNasi)	18 µl
DTT ‡	45 µl

* Deossinucleotidi 10 mM cad.

† Oligonucleotide nonamero Random

‡ Ditiotreitolo, 0,1M

Materiali necessari ma non in dotazione

Materiali di consumo

- Puntali per pipette per PCR sterili, resistenti alla contaminazione da aerosol, privi di nucleasi, con filtri idrofobici
- Provette prive di nucleasi da 0,5 ml o da 0,2 ml

Reagenti

- Acqua per PCR priva di nucleasi

Nota: consultare il manuale dei prodotti QIAGEN per i quali *ipsogen* RT Kit è elencato come kit accessorio per verificare se deve essere utilizzato un riferimento idrico specifico.

Strumentazione

- Pipette regolabili* dedicate per RT-PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 20–200 µl 100–1000 µl)
Nota: Si consiglia di utilizzare almeno due set di pipette: uno per la preparazione e la distribuzione delle miscele di reazione RT e uno per la gestione dell'RNA.
- Centrifuga da banco* con rotore per provette di reazione da 0,2 ml e da 0,5 ml (velocità raggiunta 8.000 x g o 10.000 rpm)
- Spettrofotometro*
- Termociclatore*
- Blocco riscaldante
- Ghiaccio o raffreddatore per microprovette e piastre per PCR

* Prima dell'uso, assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati secondo le raccomandazioni del produttore.

Trasporto e conservazione

ipsogen RT Kit viene spedito in ghiaccio secco e, alla ricezione, deve essere conservato immediatamente in un freezer a temperatura costante compresa tra -30°C e -15°C.

Se conservato nelle condizioni specificate, *ipsogen* RT Kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta della confezione.

Dopo l'apertura, i reagenti possono essere conservati nella loro confezione originale a una temperatura compresa tra -30°C e -15°C, fino alla data di scadenza. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente. Non superare il numero massimo di 7 cicli di congelamento/decongelamento.

I componenti conservati in condizioni diverse da quelle indicate sulle etichette potrebbero non funzionare adeguatamente e inficiare i risultati dell'esame.

Conservazione e manipolazione dei campioni

Dopo l'estrazione, l'RNA purificato può essere conservato tra -30°C e -15°C o a temperature inferiori (tra -90°C e -65°C) se la conservazione avverrà per periodi prolungati.

Protocollo: Trascrizione inversa

Punti importanti prima di iniziare

- Assicurarsi che i reagenti da utilizzare non siano scaduti e siano stati trasportati e conservati secondo le raccomandazioni del produttore.
- Il controllo RT-negativo (RT-Neg) viene generato durante la fase di trascrizione inversa, utilizzando acqua priva di nucleasi di grado PCR.

Nota: consultare il manuale dei prodotti QIAGEN per i quali *ipsogen* RT Kit è elencato come kit accessorio, per verificare se per l'RT-negativo deve essere utilizzato un riferimento idrico specifico.

- Il volume iniziale deve essere di 1 µg di RNA per campione.

Operazioni da eseguire prima di iniziare

- Pulire l'area del tavolo dedicata alla preparazione della miscela per la trascrizione inversa (Reverse Transcription, RT), in modo da evitare qualsiasi contaminazione con stampi o nucleasi.
- Scongelare tutti i componenti necessari - ad eccezione della trascrittasi inversa e dell'inibitore della RNasi, che devono essere conservati in freezer quando non vengono utilizzati - e metterli in ghiaccio o in un raffreddatore per microprovette e piastre per PCR.
Nota: per evitare che il materiale si degradi, la fase di scongelamento non deve durare più di 30 minuti.

- Miscelare delicatamente capovolgendo diverse volte le provette (non agitare in vortex) e centrifugare brevemente per raccogliere il liquido sul fondo della provetta.
- Regolare i campioni di RNA fino a 0,1 µg/µl con acqua priva di nucleasi.

Nota: consultare il manuale dei prodotti QIAGEN per i quali *ipsogen* RT Kit è elencato come kit accessorio per verificare se deve essere utilizzato un riferimento idrico specifico per la normalizzazione dei campioni di RNA, nonché per i protocolli di quantificazione, qualificazione e normalizzazione dell'RNA, se applicabile.

Procedura

1. Incubare 1 µg di ogni campione di RNA da analizzare (10 µl) per 5 minuti a 65°C utilizzando un blocco riscaldante.
2. Raffreddare il campione a 4°C in un blocco riscaldante e conservarlo a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C o in ghiaccio (o su un raffreddatore per microprovette e piastre per PCR) fino al momento dell'uso.
3. Centrifugare brevemente affinché il liquido si depositi sul fondo della provetta. Conservare in ghiaccio (o su un raffreddatore per microprovette e piastre per PCR).
4. Preparare la premiscela per la trascrizione inversa in ghiaccio o in un raffreddatore per microprovette e conservarla in ghiaccio (o in un raffreddatore per microprovette e piastre per PCR) (vedere Tabella 1).

Tabella 1. Preparazione della premiscela di trascrizione inversa*

Componente premiscela	Volume per campione (µl)	Concentrazione finale
5x tampone trascrittasi inversa	5,0	1x
dNTP (10 mM cad.)	2,0	0,8 mM
Nonamero random (100 µM)	5,25	21 µM
Inibitore della RNasi (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Trascrittasi inversa (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-
Volume premiscela RT per campione	15	

* Preparare volume premiscela per n +1, dove n è il numero di campioni di RNA da analizzare

5. Miscelare con cura aspirando e rilasciando (non agitare in vortex), centrifugare brevemente e aggiungere 15 µl di premiscela in ogni campione di RNA e in ogni controllo di acqua (RT-negativo). Conservare in ghiaccio (o su un raffreddatore per microprovette e piastre per PCR).
6. Miscelare con cura ogni provetta aspirando e rilasciando diverse volte (non agitare in vortex) e centrifugare brevemente.
7. Eseguire il programma di trascrizione inversa (vedere la Tabella 2) utilizzando un termociclatore.

Tabella 2. Programma trascrizione inversa

Trascrizione inversa 1	25°C per 10 min
Trascrizione inversa 2	50°C per 60 min
Inattivazione	85°C per 5 min
Raffreddamento	4°C per 5 min

8. Centrifugare brevemente affinché il cDNA si depositi sul fondo della provetta.
9. Conservare tra 2°C e 8°C o in ghiaccio (o in un raffreddatore per microprovette e piastre per PCR) e procedere alla qPCR.

Simboli



Questo prodotto soddisfa i requisiti del Regolamento europeo 2017/746 per i dispositivi medico-diagnostici in vitro.



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Numero di catalogo



Numero di materiale



Numero di lotto



Codice GTIN (Global Trade Item Number)



UDI (identificatore univoco del dispositivo)



Contiene



Componente



Numero

Rn

R indica la revisione della scheda prodotto e n il numero della revisione



Deve essere utilizzato da



Limiti di temperatura



Produttore legale



Consultare le istruzioni per l'uso scaricabili da resources.qiagen.com/679823



<N>

Contenuto di reagenti sufficiente per <N> reazioni

Informazioni sulla sicurezza

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le corrispondenti schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS). Le schede, nel pratico e compatto formato PDF, sono disponibili online all'indirizzo www.qiagen.com/safety. Qui è possibile trovare, visualizzare e stampare la scheda SDS per ciascun kit QIAGEN® e relativi componenti.

Per le informazioni sulla sicurezza relative a tutti gli altri "Materiali necessari ma non in dotazione", fare riferimento alla rispettiva scheda SDS - per i reagenti - e ai manuali d'uso dei relativi strumenti.

Ai componenti di *ipsogen* RT Kit sono associate le seguenti informazioni su rischi e misure precauzionali:

DTT

Avvertenza! Provoca una lieve irritazione degli occhi, della pelle e delle membrane mucose. In caso di irritazione: consultare un medico.

Smaltire i campioni e i materiali di scarto dell'esame secondo le disposizioni locali in materia di sicurezza.

Controllo di qualità

In conformità con il Sistema di Gestione della Qualità di QIAGEN, dotato di certificazione ISO, ogni lotto di *ipsogen* RT Kit è stato sottoposto a test sulla base di specifiche tecniche predefinite, in modo da garantire la costante qualità del prodotto.

Informazioni per gli ordini

Prodotto	Contenuto	N. cat.
<i>ipsogen</i> [®] RT Kit	Per 24 campioni: Trascrittasi inversa, 5x Tampone RT, miscela dNTP, primer Random, Inibitore di RNasi, DTT	679823

Per informazioni aggiornate sulle licenze e sulle esclusioni di responsabilità specifiche del prodotto, vedere il manuale del kit QIAGEN o il manuale dell'utente. I manuali dei kit e i manuali utente QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richiesti ai servizi tecnici QIAGEN o al distributore locale.

Cronologia delle revisioni del documento

Data	Modifiche
08/2022	Revisione iniziale

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, ipsogen® (QIAGEN Group). I marchi registrati, di fabbrica e così via utilizzati in questo documento, anche se non indicati in modo specifico come tali, devono essere considerati come protetti dalla legge.

1128912IT 08/2022 HB-2939-001 © 2022 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

Ordini www.qiagen.com/shop | Assistenza tecnica support.qiagen.com | Sito web www.qiagen.com