

# Gebruiksaanwijzing (Productblad)

## *ipsogen*<sup>®</sup> RT Kit



Versie 2

IVD

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik



REF

679823



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, DUITSLAND

R2 MAT

1133762NL

# Inhoudsopgave

Beoogd gebruik	3
Beschrijving	3
Inhoud van de kit	4
Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen	5
Verbruiksartikelen	5
Reagentia	5
Apparatuur	5
Veiligheidsinformatie	6
Informatie voor noodgevallen	6
Kwaliteitscontrole	7
Transport en opslag	7
Bewaren en hanteren van specimens	7
Protocol: Omgekeerde transcriptie	8
Symbolen	11
Bestelgegevens	13
Revisiegeschiedenis van document	14

# 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 hulpmiddelen van QIAGEN waarvoor de *ipsogen* RT Kit wordt genoemd als accessoirekit.

De *ipsogen* RT Kit is geen geautomatiseerd apparaat.

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

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

\* Deoxynucleotiden, 10 mM per stuk

† Willekeurige nonameeroligonucleotide

‡ Dithiothreitol, 0,1 M

# Benodigde maar niet-meegeleverde materialen

## Verbruiksartikelen

- Nucleasevrij water van PCR-kwaliteit
- 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 raden aan 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\* vermeld als combinatie met een *in-vitro*diagnostische QIAGEN-product zoals vermeld in de gebruiksaanwijzing waarvoor de *ipsogen* RT Kit is vermeld als een accessoirekit
- Verwarmblok
- Ijs of microbuisje en PCR-plaatkoeler

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

# Veiligheidsinformatie

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB). Deze zijn online beschikbaar in handig en compact pdf-formaat via [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Hier kunt u de VIB van alle kits en kitcomponenten van QIAGEN 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 gebruiksaanwijzingen bij de instrumenten.

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

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

## DTT

Bevat: (r\*, r\*)-1,4-dimercaptobutaan-2,3-diol. Waarschuwing! Veroorzaakt lichte huidirritatie. Draag beschermende handschoenen, beschermende kleding, oog-/gezichtsbescherming.

## Informatie voor noodgevallen

CHEMTREC

Buiten de VS en Canada +1 703-527-3887

# Kwaliteitscontrole

In overeenstemming met het ISO-gecertificeerde kwaliteitsmanagementsysteem van QIAGEN wordt elke partij *ipsogen* RT Kit getest tegen vooraf vastgestelde specificaties, om een consistente kwaliteit van het product te waarborgen.

## Transport en opslag

De *ipsogen* RT Kit wordt op droog ijs verzonden en moet onmiddellijk na ontvangst bij  $-30\text{ °C}$  tot  $-15\text{ °C}$  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  $-30\text{ °C}$  tot  $-15\text{ °C}$  tot de vermelde vervaldatum. Herhaaldelijk invriezen en ontdooien moet worden vermeden. Houd een maximum aan van 7 cycli van invriezen en 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 kan na isolatie worden bewaard bij  $-30\text{ °C}$  tot  $-15\text{ °C}$  of kouder ( $-90\text{ °C}$  tot  $-65\text{ °C}$ ) bij langdurige opslag.

# Protocol: Omgekeerde transcriptie

## Belangrijke punten 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 voor 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 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 de 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 normalisatie van RNA-monsters, evenals voor de RNA-kwantificering, -kwalificatie en -normalisatieprotocollen, indien van toepassing.

## 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 2-8 °C of op ijs (of in een microbuisje op een PCR-plaatkoeler).
3. Centrifugeer het buisje kort zodat alle vloeistof zich onder in het buisje 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). Zie 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 (elk 10 mM)	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	-
<b>Volume RT-voormengsel per monster</b>	<b>15</b>	

\*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 en PCR-plaatkoeler).
6. Meng de inhoud van elk buisje voorzichtig door deze meerdere keren op en neer te pipetteren (niet schudden) en centrifugeer de buisjes kortdurend.
7. Voor met behulp van een thermocycler het omgekeerde-transcriptieprogramma uit (zie tabel 2).











**Tabel 2. Omgekeerde-transcriptieprogramma**

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

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

# Symbolen

De volgende symbolen worden in de gebruiksaanwijzing of op de verpakking en etiketten weergegeven:

Symbol	Symboldefinitie
	Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties
	Uiterste gebruiksdatum
	Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese verordening 2017/746 betreffende medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek.
	Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek
	Catalogusnummer
	Lot number (Partijnummer)
	Materiaalnummer (m.b.t. labeling van componenten)
	Artikelnummer wereldhandel
	Uniek hulpmiddel-identificatienummer
	bevat

**Symbool****Symbooldefinitie**

Bestanddeel



Nummer

Rn

'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer



Temperatuurbepering



Fabrikant

Raadpleeg de gebruiksinstructies, die u kunt downloaden via [resources.qiagen.com/679823](https://resources.qiagen.com/679823)

Vorzichtig, raadpleeg de meegeleverde documentatie

# 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

Voor actuele licentie-informatie en productspecifieke disclaimers raadpleegt u de respectieve QIAGEN-kit gebruikersaanwijzing. De gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

# Revisiegeschiedenis van document

Herziening	Beschrijving
R1, augustus 2022	Eerste release
R2, juli 2024	Verduidelijking toegevoegd in het gedeelte Beoogd gebruik dat de <i>ipsogen</i> RT Kit geen geautomatiseerd apparaat is Bijgewerkt gedeelte Veiligheidsinformatie om de DTT-waarschuwing bij te werken en CHEMTREC-noodgevalleninformatie toe te voegen

## Beperkte licentieovereenkomst voor *ipsogen*<sup>®</sup> RT Kit

Door dit product te gebruiken verklaart de koper of gebruiker zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze gebruiksaanwijzing zijn meegeleverd, en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in de panel bevinden. QIAGEN geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van deze panel te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij de panel zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze gebruiksaanwijzing zijn meegeleverd, en in aanvullende protocollen die beschikbaar zijn op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Sommige van deze aanvullende protocollen zijn verstrekt door QIAGEN-gebruikers, voor QIAGEN-gebruikers. Deze protocollen zijn niet uitgebreid door QIAGEN getest of geoptimaliseerd. QIAGEN garandeert deze protocollen niet en kan evenmin waarborgen dat ze geen rechten van derden schenden.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert QIAGEN niet dat dit paneel en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Dit paneel en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. QIAGEN doet in het bijzonder afstand van enige andere licenties die worden genoemd of geïmpliceerd, anders dan de uitdrukkelijk gestelde.
5. De koper en gebruiker van het paneel gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen en niemand anders toestaan stappen te ondernemen die tot bovenstaande verboden handelingen kunnen leiden of deze vergemakkelijken. QIAGEN mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten, inclusief advocaatkosten, verhalen bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met het paneel en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Zie voor bijgewerkte licentievoorwaarden [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Handelsmerken: QIAGEN<sup>®</sup>, Sample to Insight<sup>®</sup>, *ipsogen*<sup>®</sup>. Gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd.

07/2024 HB-2939-002 1133762 ©2024 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

Bestellen [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Technische ondersteuning [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)