



August 2022

ipsogen[®] RT Kit

Instrucțiuni de utilizare (Fișă produs)

Versiunea 2



679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden



1128912RO

Domeniul de utilizare

A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro*

ipsogen RT Kit conține toți reactivii, cu excepția șablonului, necesari pentru efectuarea unei reacții de transcriere inversă pe ARN-ul extras din probe umane. *ipsogen* RT Kit este destinat utilizării împreună cu produsele QIAGEN pentru diagnosticare *in vitro*, pentru care *ipsogen* RT Kit este menționat drept kit de accesorii.

ipsogen RT Kit este destinat exclusiv utilizării de cadre medicale instruite și formate special în tehnicile de biologie moleculară, care sunt familiarizate tehnologia dispozitivului. Procedura specifică dispozitivului trebuie implementată într-un mediu de laborator de biologie moleculară.

ipsogen RT Kit este destinat utilizării pentru diagnosticarea *in vitro*.

Descriere

ipsogen RT Kit permite transcrierea inversă a ARN-ului total, care va fi utilizat în testarea pentru diagnosticare moleculară: activitatea ADN-polimerazei dependentă de ARN (transcriere inversă) transcrie ADN complementar dintr-un șablon de ARN.

Conținutul kitului

Reverse Transcriptase (Revers-transcriptază)	36 µl
5x RT Buffer for reverse transcription (5x RT Buffer pentru transcriere inversă)	180 µl
dNTP Mix *	72 µl
Random Primer † (Soluție de amorsare aleatorie †)	190 µl
RNase Inhibitor (Inhibitor de RNază)	18 µl
DTT ‡	45 µl

* Deoxinucleotide câte 10 mM

† Oligonucleotidă nonamer aleatorie

‡ Ditiotritol, 0,1M

Materiale necesare, dar nefurnizate

Consumabile

- Vârfuri de pipetă PCR sterile, fără nuclează, rezistente la aerosoli, cu filtre hidrofobe
- Eprubete non- nuclează de 0,5 sau 0,2 ml

Reactivi

- Apă de calitate PCR fără nuclează

Rețineți: Consultați manualele produselor QIAGEN pentru care *ipsogen* RT Kit este menționat drept kit de accesorii pentru a vedea dacă trebuie utilizată o anumită calitate a apei.

Echipamente

- Pipete cu volum ajustabil* dedicate pentru RT-PCR (1-10 µl; 10-100 µl; 20-200µl; 100-1000 µl)

Rețineți: Sunt recomandate cel puțin două seturi de pipete: unul pentru prepararea și distribuirea amestecurilor de reacție RT, unul pentru manipularea ARN-ului.

- Centrifugă de banc* cu rotor pentru eprubete de reacție de 0,2/0,5 ml (capabile să atingă 8000 x g sau 10000 rot/min)
- Spectrofotometru*
- Ciclator termic*
- Bloc de încălzire
- Gheață sau dispozitiv de răcire pentru microtuburi și plăci PCR

* Înainte de utilizare, asigurați-vă că instrumentele au fost verificate și calibrate în conformitate cu recomandările producătorului.

Expedierea și depozitarea

ipsogen RT Kit este expediat pe gheață carbonică și trebuie depozitat imediat după primire, la o temperatură cuprinsă între -30 și -15 °C, într-un congelator cu temperatură constantă.

Atunci când este depozitat în condițiile specificate de depozitare, *ipsogen* RT Kit este stabil până la data de expirare menționată pe eticheta de pe cutie.

După deschidere, reactivii pot fi depozitați în ambalajul original, la o temperatură cuprinsă între -30 și -15 °C, până la data de expirare menționată. Trebuie evitate congelarea și decongelare repetate. Nu depășiți maximum 7 cicluri de congelare-decongelare.

Componentele depozitate în alte condiții decât cele menționate pe etichete pot să nu funcționeze corespunzător și pot afecta negativ rezultatele testului.

Depozitarea și manipularea speciemenelor

În urma izolării, ARN-ul purificat poate fi depozitat la o temperatură cuprinsă între -30 și -15 °C sau mai mică (între -90 și -65 °C), dacă este necesară depozitarea pe termen lung.

Protocol: Transcriere inversă

Informații importante înainte de a începe

- Asigurați-vă că reactivii care vor fi utilizați nu sunt expirați și au fost transportați și depozitați în conformitate cu recomandările producătorului.
- Substanța de control negativă la RT (RT-negative, RT-Neg) este generată în timpul etapei de transcriere inversă, utilizând apă de calitate PCR fără nuclează.
Rețineți: Consultați manualele produselor QIAGEN pentru care *ipsogen* RT Kit este menționat drept kit de accesorii pentru a vedea dacă trebuie utilizată o anumită calitate a apei pentru RT-Neg.
- Cantitatea de introducere necesară este de 1 μg de ARN per probă.

Operațiuni care trebuie executate înainte de începere

- Curățați zona bancului de lucru dedicată preparării amestecului pentru transcriere inversă (reverse transcription, RT) pentru a vă asigura că nu există contaminare cu șablon sau cu nuclează.
- Decongețați toți componenții necesari, cu excepția inhibitorilor de revers-transcriptază și de RNază, care trebuie păstrați la congelator atunci când nu sunt utilizați, apoi așezați-i pe gheață sau într-un dispozitiv de răcire pentru microtuburi și plăci PCR.
Rețineți: Etapa de decongelare nu trebuie să depășească 30 de minute pentru a evita posibila degradare a materialelor.
- Amestecați delicat, prin răsturnarea de mai multe ori a tuburilor (fără vortexare) și centrifugați pentru scurt timp pentru a colecta lichidul în partea de jos a tubului.
- Ajustați probele de ARN la 0,1 μg/μl cu apă fără nuclează.
Rețineți: Consultați manualele produselor QIAGEN pentru care *ipsogen* RT Kit este menționat drept kit de accesorii pentru a vedea dacă trebuie utilizată o anumită calitate a apei pentru normalizarea probelor de ARN, precum și pentru protocoalele de cuantificare, calificare și normalizare a ARN-ului, atunci când este necesar.

Procedură

1. Incubați câte 1 µg din fiecare probă de ARN care urmează să fie testată (10 µl) timp de 5 minute la 65 °C, utilizând un bloc de încălzire.
2. Răciți proba la 4 °C într-un bloc de încălzire și, până la utilizare, păstrați-o la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C sau pe gheață (sau într-un dispozitiv de răcire pentru microtuburi și plăci PCR).
3. Centrifugați pentru scurt timp pentru a colecta lichidul în partea de jos a tubului. Păstrați pe gheață (sau într-un dispozitiv de răcire pentru microtuburi și plăci PCR).
4. Preparați amestecul preliminar pentru transcriere inversă pe gheață sau într-un dispozitiv de răcire pentru microtuburi și păstrați-l pe gheață (sau într-un dispozitiv de răcire pentru microtuburi și plăci PCR) (consultați Tabelul 1).

Tabelul 1. Prepararea amestecului preliminar pentru transcriere inversă*

Componentă amestec preliminar	Volum per probă (µl)	Concentrație finală
5x soluție tampon revers-transcriptază	5,0	1x
dNTP (câte 10 mM)	2,0	0,8 mM
Nonamer aleatoriu (100 µM)	5,25	21 µM
Inhibitor de RNază (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Revers-transcriptază (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-
Volum de amestec preliminar RT per probă	15	

* Preparați un volum de amestec preliminar pentru n + 1 reacții, unde n este numărul de probe de ARN de testat

5. Amestecați cu grijă prin pipetare pe verticală (nu vortexați), centrifugați pentru scurt timp și adăugați 15 µl de amestec preliminar în fiecare probă de ARN și în substanța de control cu apă (RT-Neg). Păstrați pe gheață (sau într-un dispozitiv de răcire pentru microtuburi și plăci PCR).
6. Amestecați cu grijă fiecare tub, prin pipetare pe verticală efectuată de mai multe ori (nu vortexați) și centrifugați pentru scurt timp.
7. Rulați programul de transcriere inversă (consultați Tabelul 2) utilizând un ciclator termic.

Tabelul 2. Program de transcriere inversă

Transcriere inversă 1	25 °C timp de 10 min
Transcriere inversă 2	50 °C timp de 60 min
Inactivare	85 °C timp de 5 min
Răcire	4 °C timp de 5 min

- Centrifugați pentru scurt timp pentru a colecta ADN-ul complementar în partea de jos a tubului.
- Păstrați la o temperatură cuprinsă între 2 și 8 °C sau pe gheață (sau într-un dispozitiv de răcire pentru microtuburi și plăci PCR) și continuați cu qPCR.

Simboluri



Acest produs îndeplinește cerințele Regulamentului european 2017/746 pentru dispozitive medicale pentru diagnostic in vitro.



Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro



Număr catalog



Număr material



Număr de lot



Număr de comercializare global articol



Identificator unic dispozitiv



Conține



Componentă



Număr

Rn

R reprezintă revizuirea Fișei produsului și n este numărul revizuirii



Destinat utilizării de către



Limitări de temperatură



Producător legal



Consultați instrucțiunile de utilizare, care pot fi descărcate de la adresa resources.qiagen.com/679823



<N>

Conține reactivi suficienți pentru <N> reacții

Informații de siguranță

Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvate. Pentru informații suplimentare, vă rugăm să consultați fișele cu date de securitate (Safety Data Sheets, SDS) corespunzătoare. Acestea sunt disponibile online în format PDF, compact și ușor de folosit, la adresa www.qiagen.com/safety, unde puteți găsi, vizualiza și tipări fișa cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) pentru fiecare kit QIAGEN® și pentru componentele kiturilor.

Pentru informațiile de siguranță referitoare la toate celelalte „Materiale necesare, dar nefurnizate”, consultați fișa cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) respectivă – pentru reactivi – și manualele de utilizare ale instrumentelor relevante.

Următoarele fraze de pericol și de precauție se aplică pentru componentele *ipsogen* RT Kit:

DTT

Avertisment! Provoacă iritarea ușoară a ochilor, a pielii și a membranelor mucoase. Dacă apare iritarea: solicitați asistență medicală.

Aruncați deșeurile de probe și de test în conformitate cu reglementările locale de siguranță.

Controlul calității

În conformitate cu sistemul de management al calității certificat ISO al QIAGEN, fiecare lot de *ipsogen* RT Kit este testat pentru specificațiile prestabilite, pentru a asigura calitatea consecventă a produsului.

Informații pentru comandă

Produs	Cuprins	Nr. cat.
<i>ipsogen</i> [®] RT Kit	Pentru 24 de probe: Revers-transcriptază, 5x RT buffer, amestec dNTP, Soluție de amorsare aleatorie, Inhibitor de RNază, DTT	679823

Pentru informații actualizate privind licențele și clauzele de declinare a răspunderii specifice produselor, consultați ghidul sau manualul de utilizare al kitului QIAGEN respectiv. Ghidurile și manualele de utilizare pentru kiturile QIAGEN sunt disponibile pe www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciile tehnice QIAGEN sau distribuitorul dumneavoastră local.

Istoricul modificărilor documentului

Data	Modificări
08/2022	Revizuire inițială

Mărci comerciale: QIAGEN®, Sample to Insight®, *ipsogen*® (QIAGEN Group). Denumirile înregistrate, mărcile comerciale etc. utilizate în documentul de față, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific, sunt protejate prin lege.

1128912RO 08/2022 HB-2939-001 © 2022 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

Pentru comenzi www.qiagen.com/shop | Suport tehnic support.qiagen.com | Site web www.qiagen.com