



kolovoz 2022.

ipsogen[®] RT Kit

Upute za uporabu (specifikacijski list proizvoda)

Inačica 2

IVD



REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden

R1 **MAT**

1128912HR

Predviđena uporaba

Za *in vitro* dijagnostičku uporabu

Komplet *ipsogen* RT Kit sadržava sve reagense, osim predloška, potrebne za izvođenje reakcije obrnute transkripcije na RNK ekstrahiranoj iz humanih uzoraka. Komplet *ipsogen* RT Kit namijenjen je za uporabu u kombinaciji s *in vitro* dijagnostičkim proizvodima tvrtke QIAGEN za koje je komplet *ipsogen* RT Kit naveden kao pomoćni komplet.

Komplet *ipsogen* RT Kit namijenjen je za uporabu smo osoblju koje je primilo posebne upute i obučeno je za tehnike molekularne biologije te je upoznato s tehnologijom uređaja. Postupak uređaja treba se implementirati u okruženju laboratorija za molekularnu biologiju.

Komplet *ipsogen* RT Kit namijenjen je za *in vitro* dijagnostičku uporabu.

Opis

Komplet *ipsogen* RT Kit omogućuje uporabu obrnute transkripcije ukupne RNK u molekularnom dijagnostičkom testiranju: aktivnost RNK-ovisne DNK-polimeraze (obrnuta transkripcija) transkribira cDNK iz predloška RNK.

Sadržaj kompleta

Reverse Transcriptase (Obrnuta transkriptaza)	36 µl
5x RT pufera za obrnutu transkripciju	180 µl
dNTP Mix (dNTP mješavina) *	72 µl
Random Primer (Nasumična početnica) †	190 µl
RNase Inhibitor (Inhibitor RNaze)	18 µl
DTT ‡	45 µl

* Deoksinukleotidi, svaki 10 mM

† Nasumični nonamerni oligonukleotid.

‡ Ditiotritol, 0,1 M

Materijali koji su potrebni, ali nisu isporučeni

Potrošni materijal

- Sterilni vrhovi pipeta s hidrofobnim filtrima otporni na aerosole za PCR bez nukleaze
- Epruvete bez nukleaze od 0,5 ml ili 0,2 ml

Reagensi

- Voda stupnja čistoće za PCR bez nukleaze

Napomena: pogledajte priručnik za proizvode tvrtke QIAGEN za koje je komplet *ipsogen* RT Kit naveden kao pomoćni komplet kako biste saznali je li potrebno upotrebljavati posebnu referencu za vodu.

Oprema

- Prilagodljive pipete* namijenjene za RT-PCR (1 – 10 μ l; 10 – 100 μ l; 20 – 200 μ l; 100 – 1000 μ l)

Napomena: preporučuju se minimalno dva skupa pipeta: jedan za pripremu i distribuciju RT reakcijske mješavine, a jedan za rukovanje s RNK.

- Stolna centrifuga* s rotorom za reakcijske epruvete od 0,2 ml/0,5 ml (koja može postići 8000 x g ili 10.000 o/min)
- Spektrofotometar*
- Termocikler*
- Blok za zagrijavanje
- Led ili mikroepruveta i hladnjak za PCR pločicu

* Prije uporabe provjerite jesu li instrumenti provjereni i kalibrirani u skladu s preporukama proizvođača.

Otprema i pohrana

Komplet *ipsogen* RT Kit isporučuje se na suhom ledu i po prijmu se mora pohraniti na temperaturi od -30 °C do -15 °C u zamrzivaču s konstantnom temperaturom.

Kada je pohranjen u specificiranim uvjetima pohrane, komplet *ipsogen* RT Kit stabilan je do isteka roka trajanja navedenog na naljepnici kutije.

Nakon otvaranja, reagensi se mogu pohraniti u originalnom pakiranju na -30 °C do -15 °C do navedenog datuma isteka roka trajanja. Treba izbjegavati ponovljeno zamrzavanje i odmrzavanje. Nemojte premašiti maksimalno 7 ciklusa zamrzavanja i odmrzavanja.

Komponente koje se pohranjuju pod nekim drugim uvjetima, a ne onim koji su navedeni na naljepnicama, možda neće pravilno funkcionirati, što može negativno utjecati na rezultate ispitivanja.

Pohrana i rukovanje ispitcima

Nakon izolacije pročišćena RNK može se pohraniti na temperaturi od -30 °C do -15 °C ili nižoj (od -90 °C do -65 °C) ako je potrebna dugoročna pohrana.

Protokol: obrnuta transkripcija

Važne napomene prije započinjanja

- Provjerite da reagensi koji će se upotrebljavati nisu istekli te jesu li transportirani i pohranjeni u skladu s preporukama proizvođača.
- RT negativna kontrola (RT-Neg) generira se tijekom koraka obrnute transkripcije primjenom vode bez nukleaze stupnja čistoće za PCR.

Napomena: pogledajte priručnik za proizvode tvrtke QIAGEN za koje je komplet *ipsogen* RT Kit naveden kao pomoćni komplet kako biste saznali je li potrebno upotrebljavati posebnu referencu za vodu za RT-Neg.

- Potreban unos je 1 µg RNK po uzorku.

Postupci koje treba napraviti prije započinjanja

- Očistite radnu površinu koja je namijenjena za pripremu mješavine za obrnutu transkripciju (RT) kako biste osigurali da ne dođe do kontaminacije predloškom ili nukleazom.
- Odmrznite sve potrebne komponente, osim obrnute transkriptaze i inhibitora RNaze, koji se moraju čuvati u zamrzivaču kada se ne upotrebljavaju, i stavite ih na led ili u mikroeprevetu i hladnjak za PCR pločicu.

Napomena: pobrinite se da korak odmrzavanja ne traje dulje od 30 minuta kako bi se izbjegla degradacija materijala.

- Nježno promiješajte preokretanjem epruvete nekoliko puta (ne miješajte vorteks miješalicom) i kratko centrifugirajte kako bi se tekućina skupila na dnu epruvete.
- Prilagodite uzorke RNK na 0,1 µg/µl vodom bez nukleaze.

Napomena: pogledajte priručnik za proizvode tvrtke QIAGEN za koje je komplet *ipsogen* RT Kit naveden kao pomoćni komplet kako biste saznali je li potrebno upotrebljavati posebnu referencu za vodu za normalizaciju uzoraka RNK, kao i za protokole kvantifikacije, kvalifikacije i normalizacije RNK, kada je to primjenjivo.

Postupak

1. Inkubirajte 1 µg svakog uzorka RNK koji je potrebno testirati (10 µl) u trajanju od 5 min na 65 °C primjenom bloka za zagrijavanje.
2. Ohladite uzorak na 4 °C u bloku za zagrijavanje i držite na temperaturi od 2 °C do 8 °C ili na ledu (ili u mikroeproveti i u hladnjaku za PCR pločicu) do uporabe.
3. Kratko centrifugirajte kako bi se tekućina skupila na dnu epruvete. Držite na ledu (ili u mikroeproveti i hladnjaku za PCR pločicu).
4. Pripremite prethodnu mješavinu za obrnutu transkripciju na ledu ili u hladnjaku za mikroeprovetu i držite na ledu (ili u mikroeproveti i hladnjaku za PCR pločicu) (pogledajte tablicu 1.).

Tablica 1. Priprema prethodne mješavine za obrnutu transkripciju*

Komponenta prethodne mješavine	Volumen po uzorku (µl)	Konačna koncentracija
5x pufer za obrnutu transkriptazu	5,0	1 x
dNTP (10 mM svaki)	2,0	0,8 mM
Nasumični nonamer (100 µM)	5,25	21 µM
Inhibitor RNaze (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Obrnuta transkriptaza (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-
Volumen prethodne mješavine RT po uzorku	15	

* Pripremite volumen prethodne mješavine za n + 1 reakcija, pri čemu je n broj uzoraka RNK koji se trebaju testirati

5. Pažljivo miješajte pipetiranjem gore i dolje (ne miješajte vorteks miješalicom), kratko centrifugirajte i dodajte 15 µl prethodne mješavine svakom uzorku RNK i kontroli na bazi vode (RT-Neg). Držite na ledu (ili u mikroeproveti i hladnjaku za PCR pločicu).
6. Pažljivo izmiješajte svaku epravetu pipetiranjem gore i dolje nekoliko puta (ne miješajte vorteks miješalicom) i kratko centrifugirajte.
7. Pokrenite program za obrnutu transkripciju (pogledajte tablicu 2.) pomoću termociklera.

Tablica 2. Program obrnute transkripcije

Obrnuta transkripcija 1	25 °C na 10 min
Obrnuta transkripcija 2	50 °C na 60 min
Inaktivacija	85 °C na 5 min
Hlađenje	4 °C na 5 min

8. Kratko centrifugirajte kako bi se cDNK skupila na dnu epruvete.
9. Držite na temperaturi od 2 °C do 8 °C ili na ledu (ili u mikroepreveti i u hladnjaku za PCR pločicu) i nastavite na qPCR.

Simboli



Ovaj proizvod ispunjava zahtjeve Uredbe (EU) 2017/746 o in vitro dijagnostičkim medicinskim proizvodima.



In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Kataloški broj



Broj materijala



Broj serije.



Globalni broj trgovačke jedinice



Jedinstvena identifikacija proizvoda



Sadržava



Komponenta



Broj

Rn

R označava reviziju specifikacijskog lista proizvoda, a n broj revizije



Upotrijebiti do



Ograničenja temperature



Zakonski proizvođač



Pogledajte upute za uporabu koje možete preuzeti s web-mjesta

resources.qiagen.com/679823



<N>

Sadržava reagensa dovoljno za <N> reakcija

Sigurnosne informacije

Kada radite s kemikalijama, uvijek nosite odgovarajuću laboratorijsku kutu, rukavice za jednokratnu uporabu i zaštitne naočale. Više informacija potražite u odgovarajućim sigurnosno-tehničkim listovima (Safety Data Sheet, SDS). Oni su dostupni na mreži u praktičnom i kompaktnom PDF formatu na web-mjestu www.qiagen.com/safety, gdje možete pronaći, pregledati i ispisati sigurnosno-tehnički list (Safety Data Sheet, SDS) za svaki komplet i komponentu kompleta QIAGEN®.

Za sigurnosne informacije koje se odnose na sve druge „Materijale koji su potrebni, ali nisu isporučeni“ pogledajte odgovarajući SDS (za reagense) i korisničke priručnike za odgovarajuće materijale.

Sljedeće izjave o opasnosti i mjerama opreza odnose se na komponente kompleta *ipsogen* RT Kit:

DTT

Upozorenje! Uzrokuje blago nadraživanje oka, kože i sluznica. Ako dođe do nadraživanja: zatražiti savjet/pomoć liječnika.

Bacite otpad od uzoraka i ispitivanja u skladu s lokalnim sigurnosnim propisima.

Kontrola kvalitete

U skladu sa sustavom za upravljanje kvalitetom društva QIAGEN certificiranim u skladu s normom ISO, svaka serija kompleta *ipsogen* RT Kit ispituje se prema unaprijed određenim specifikacijama kako bi se osigurala dosljedna kvaliteta proizvoda.

Informacije za naručivanje

Proizvod	Sadržaj	Kat. br.
<i>ipsogen</i> [®] RT Kit	Za 24 uzorka: obrnuta transkriptaza, 5x RT pufer, dNTP mješavina, nasumična početnica, inhibitor RNaze, DTT	679823

Ažurirane informacije o licenciranju i izjave o odricanju od odgovornosti specifične za proizvod pogledajte u odgovarajućem priručniku ili korisničkom priručniku za komplet tvrtke QIAGEN. Priručnici za komplete i korisnički priručnici tvrtke QIAGEN dostupni su na web-mjestu www.qiagen.com ili ih možete zatražiti od tehničke službe tvrtke QIAGEN ili svojeg lokalnog distributera.

Povijest revizija dokumenta

Datum	Izmjene
08/2022	Prvo izdanje

Zaštitni znakovi: QIAGEN®, Sample to Insight®, *ipsogen*® (grupacija QIAGEN). Registrirani nazivi, zaštitni znakovi itd. upotrijebljeni u ovom dokumentu, čak i ako nisu posebno označeni kao takvi, ne smiju se smatrati zakonski nezaštićenima.

1128912HR 08/2022 HB-2939-001 © 2022 QIAGQIAGEN, sva prava pridržana.

Narudžbe www.qiagen.com/shop | Tehnička podrška support.qiagen.com | Web-mjesto www.qiagen.com