

Instrucciones de uso (hoja de información) de *ipsogen*[®] RT Kit



Versión 2

IVD

Para uso en diagnóstico in vitro



REF

679823



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANIA

R2

MAT

1133762ES

Índice

Uso previsto _____	3
Descripción _____	3
Contenido del kit _____	4
Materiales necesarios pero no suministrados _____	5
Consumibles _____	5
Reactivos _____	5
Equipo _____	5
Información de seguridad _____	6
Información para emergencias _____	6
Control de calidad _____	7
Envío y almacenamiento _____	7
Manipulación y almacenamiento de material de muestra _____	7
Protocolo: Transcripción inversa _____	8
Símbolos _____	11
Información para pedidos _____	13
Historial de revisiones del documento _____	14

Uso previsto

Para uso en diagnóstico *in vitro*.

El *ipsogen*® RT Kit contiene todos los reactivos, excepto la plantilla, necesarios para realizar una reacción de transcripción inversa en ARN extraído de muestras humanas. El *ipsogen* RT Kit está diseñado para usarse en combinación con los dispositivos QIAGEN para diagnóstico *in vitro* para los que el *ipsogen* RT Kit está enumerado como kit accesorio.

El *ipsogen* RT Kit no es un dispositivo automatizado.

Solo profesionales especialmente formados y cualificados en las técnicas de biología molecular y que estén familiarizados con la tecnología del instrumento pueden utilizar el *ipsogen* RT Kit. La técnica del instrumento está diseñada para implementarse en un entorno de laboratorio de biología molecular.

El *ipsogen* RT Kit está diseñado para uso en diagnóstico *in vitro*.

Descripción

El *ipsogen* RT Kit permite la transcripción inversa de ARN total que va a usarse en análisis de diagnóstico molecular: la actividad de ADN polimerasa dependiente de ARN (transcripción inversa) transcribe el ADNc a partir de una plantilla de ARN.

Contenido del kit

Contenido	Volumen (μl)
Reverse transcriptase (Transcriptasa inversa)	36
5x RT Buffer for reverse transcription (Tampón RT 5x para transcripción inversa)	180
dNTP Mix* (Mezcla dNTP)	72
Random Primer† (Cebador aleatorio)	190
RNase Inhibitor (Inhibidor de RNasa)	18
DTT‡	45

* Deoxinucleótidos 10 mM cada uno

† Oligonucleótido nonúmero aleatorio

‡ Ditioneitol, 0,1 M

Materiales necesarios pero no suministrados

Consumibles

- Agua libre de nucleasas apta para PCR
- Tubos libres de nucleasas de 0,5 ml o 0,2 ml

Reactivos

- Agua libre de nucleasas apta para PCR

Nota: Consulte el manual de uso de los productos QIAGEN para los que el *ipsogen* RT Kit figura como kit accesorio, para comprobar si debe usarse una referencia de agua específica.

Equipo

- Pipetas ajustables* específicas para RT-PCR (1-10 µl; 10-100 µl; 20-200 µl; 100-1000 µl)

Nota: Se recomienda un mínimo de dos juegos de pipetas, uno para la preparación y distribución de mezclas de reacción RT y otro para la manipulación del ARN.

- Centrifugadora de mesa* con rotor para tubos de reacción de 0,2 ml/0,5 ml (capaz de alcanzar 8000 × g o 10.000 rpm)
- Espectrofotómetro*
- Termociclador* enumerado en las instrucciones de uso del producto QIAGEN para diagnóstico *in vitro* combinado para el que el *ipsogen* RT Kit figura como kit accesorio
- Bloque calefactor
- Hielo o microtubo y enfriador de placas para PCR

*Antes del uso, compruebe que los equipos se han revisado y calibrado según las recomendaciones del fabricante.

Información de seguridad

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Si desea obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Están disponibles en línea en un práctico y compacto formato PDF en www.qiagen.com/safety, donde puede encontrar, ver e imprimir la SDS de cada kit QIAGEN y componente del kit.

Para obtener la información de seguridad relativa a todos los demás “Materiales necesarios pero no suministrados”, consulte la SDS correspondiente (para los reactivos) y los manuales del usuario de los instrumentos relevantes.

Elimine los desechos de las muestras y del ensayo de conformidad con la normativa local y en materia de seguridad.

Las siguientes indicaciones de riesgo y advertencia hacen referencia a los componentes del *ipsogen* RT Kit:

DTT

Contiene: (R*, R*)-1,4-Dimercaptobutano-2,3-diol. ¡Advertencia! Causa irritación leve de la piel. Llevar guantes, prendas, gafas, máscara de protección.

Información para emergencias

CHEMTREC

Fuera de EE. UU. y Canadá +1 703-527-3887

Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del *ipsogen* RT Kit se ensaya frente a especificaciones predeterminadas para garantizar una calidad homogénea del producto.

Envío y almacenamiento

El *ipsogen* RT Kit se envía en hielo seco, pero debe conservarse entre $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ tras su recepción en un congelador de temperatura constante.

Si se almacena en las condiciones especificadas, el *ipsogen* RT Kit se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

Una vez abiertos, los reactivos deben almacenarse en el embalaje original a una temperatura comprendida entre $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta la fecha de caducidad indicada. No es aconsejable descongelarlos y volver luego a congelarlos. No exceda un máximo de 7 ciclos de congelación-descongelación.

El incumplimiento de las condiciones de almacenamiento de los componentes que aparecen indicadas en las etiquetas podría afectar negativamente a los resultados del ensayo.

Manipulación y almacenamiento de material de muestra

Después del aislamiento, el ARN purificado puede almacenarse a una temperatura comprendida entre -30 y $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferior (entre -90 y $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$) para un almacenamiento a largo plazo.

Protocolo: transcripción inversa

Cuestiones importantes antes de comenzar

- Asegúrese de que los reactivos que se van a utilizar no hayan caducado y de que se hayan transportado y almacenado según las recomendaciones del fabricante.
- El control negativo para la transcripción inversa (RT-Neg) se genera durante el paso de transcripción inversa utilizando agua libre de nucleasas de calidad PCR.

Nota: Consulte el manual de uso de los productos QIAGEN para los que el *ipsogen* RT Kit figura como kit accesorio, para comprobar si debe usarse una referencia de agua específica para el RT-Neg.

- La cantidad necesaria es de 1 µg de ARN por muestra.

Antes de comenzar

- Limpie la zona de trabajo dedicada a la preparación de la mezcla de transcripción inversa (TI) para asegurarse de que no se contaminan los moldes ni las nucleasas.
- Descongele todos los componentes necesarios (excepto la transcriptasa inversa y el inhibidor de RNasa, que deben conservarse en el congelador cuando no se estén usando) y colóquelos en hielo o en un microtubo y un enfriador de placas para PCR.

Nota: No tarde más de 30 minutos en llevar a cabo la descongelación para evitar la degradación de los materiales.

- Mezcle suavemente invirtiendo los tubos varias veces (no mezcle en vórtex) y centrifugue brevemente para recoger el líquido que se deposita en el fondo del tubo.
- Prepare muestras de ARN de 0,1 µg/µl con agua exenta de nucleasas.

Nota: Consulte el manual de uso de los productos QIAGEN para los que el *ipsogen* RT Kit figura como kit accesorio, para comprobar si debe usarse una referencia de agua específica para normalización de muestras de ARN, así como para los protocolos de cuantificación, calificación y normalización de ARN cuando corresponda.

Procedimiento

1. Incube 1 µg de cada muestra de ARN que deba analizarse (10 µl) durante 5 min a 65 °C con un bloque calefactor.
2. Enfría la muestra a 4 °C en un bloque calefactor y manténgala a una temperatura entre 2 °C y 8 °C en hielo (o en un microtubo y un enfriador de placas para PCR).
3. Centrifugue brevemente para recoger el líquido depositado en el fondo del tubo. Conserve en hielo (o en un microtubo y un enfriador de placas para PCR).
4. Prepare la premezcla para transcripción inversa en hielo o en un enfriador de microtubos y conserve en hielo (o en un microtubo y un enfriador de placas para PCR). Consulte la tabla 1.

Tabla 1. Preparación de la premezcla de la transcripción inversa*

Componente de la premezcla	Volumen por muestra (µl)	Concentración final
Tampón 5x para transcriptasa inversa	5,0	1x
dNTP (10 mM cada uno)	2,0	0,8 mM
Nonúmero aleatorio (100 µM)	5,25	21 µM
Inhibidor de RNasa (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Transcriptasa inversa (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	–
Volumen de premezcla de RT por muestra	15	

*Prepare el volumen de premezcla para n + 1 reacciones, donde n es el número de muestras de ARN que va a analizarse.

5. Mezcle con cuidado pipeteando arriba y abajo (no mediante vórtex), centrifugue brevemente y añada 15 µl de la premezcla a cada muestra de ARN y al control de agua (RT-Neg). Mantener en hielo (o en un microtubo y enfriador de placas para PCR).
6. Mezcle cada tubo con cuidado pipeteando arriba y abajo varias veces (no mediante vórtex) y centrifugue brevemente.

7. Ejecute el programa de transcripción inversa (véase la tabla 2) con un termociclador.

Tabla 2. Programa de transcripción inversa

Paso	Tiempo
Transcripción inversa 1	25 °C durante
Transcripción inversa 2	50 °C durante 60 min
Inactivación	85 °C durante 5 min
Enfriamiento	4 °C durante 5 min

8. Centrifugue brevemente para recoger el ADNc depositado en el fondo del tubo.

9. Conserve a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C o en hielo (o en un microtubo y un enfriador de placas para PCR) y proceda con la qPCR.

Símbolos

En las instrucciones de uso o en el embalaje y en el etiquetado aparecen los siguientes símbolos:

Símbolo	Definición del símbolo
	Contiene suficientes reactivos para <N> reacciones
	Fecha de caducidad
	Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de catálogo
	Número de lote
	Número de material (p. ej., el etiquetado de los componentes)
	Número mundial de artículo comercial
	Identificador único de dispositivo
	Contiene

Símbolo**Definición del símbolo**

Componente



Número

Rn

“R” es la revisión de las Instrucciones de uso y “n” es el número de revisión



Limitación de temperatura



Fabricante



Consulte las instrucciones de uso que se pueden descargar en resources.qiagen.com/679823



Precaución, consulte los documentos adjuntos

Información para pedidos

Contenido del	producto	N.º de cat.
<i>ipsogen</i> ® RT Kit	Para 24 muestras: Transcriptasa inversa, tampón RT 5x, mezcla dNTP, primer aleatorio, inhibidor de RNasa, DTT	679823

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte las instrucciones de uso del kit QIAGEN. Las instrucciones de uso del kit de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico de QIAGEN o a su distribuidor local.

Historial de revisiones del documento

Revisión	Descripción
R1, agosto de 2022	Versión inicial
R2, julio de 2024	Se agregó una aclaración en la sección Uso previsto de que el <i>ipsogen</i> RT Kit no es un dispositivo automatizado. Se ha actualizado la sección Información de seguridad para renovar la advertencia de DTT y agregar información de emergencia de CHEMTREC

Acuerdo de licencia limitada para *ipsogen*[®] RT Kit

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del producto la aceptación de los siguientes términos:

1. El producto puede utilizarse únicamente conforme a los protocolos suministrados con el mismo y a estas instrucciones de uso y para su uso exclusivo con los componentes incluidos en el panel. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en este panel con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, estas instrucciones de uso y otros protocolos disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales los han proporcionado usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este panel ni su(s) uso(s) no infrinjan derechos de terceros.
3. Este panel y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN renuncia específicamente a toda responsabilidad respecto a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del panel aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los gastos judiciales, incluidas las costas procesales, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y/o con sus componentes.

Para consultar los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

Marcas comerciales: QIAGEN[®], Sample to Insight[®], *ipsogen*[®]. No debe considerarse que los nombres registrados, marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley.

07/2024 HB-2939-002 1133762 ©2024 QIAGEN. Todos los derechos reservados.

Pedidos www.qiagen.com/shop | Servicio técnico support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com