



Luglio 2024

Istruzioni per l'uso *ipsogen*[®] RT Kit (scheda prodotto)



Versione 2

IVD

Per uso diagnostico in vitro



REF

679823



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANIA

R2 **MAT**

1133762IT

Indice

Uso previsto _____	3
Descrizione _____	3
Contenuto del kit _____	4
Materiali necessari ma non in dotazione _____	5
Materiali di consumo _____	5
Reagenti _____	5
Strumentazione _____	5
Informazioni sulla sicurezza _____	6
Informazioni di emergenza _____	6
Controllo di qualità _____	7
Trasporto e conservazione _____	7
Conservazione e manipolazione dei campioni _____	7
Protocollo: Trascrizione inversa _____	8
Simboli _____	11
Informazioni per gli ordini _____	13
Cronologia delle revisioni del documento _____	14

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 dispositivi di diagnostica *in vitro* QIAGEN per i quali *ipsogen* RT Kit è elencato come kit accessorio.

ipsogen RT Kit non è un dispositivo automatico.

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

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

* Deossinucleotidi 10 mM cad.

† Oligonucleotide nonamero Random

‡ Ditioneitrato, 0,1 M

Materiali necessari ma non in dotazione

Materiali di consumo

- Nuclease-free PCR grade water (Acqua per PCR priva di nucleasi)
- Provette prive di nucleasi da 0,5 mL o da 0,2 mL

Reagenti

- Nuclease-free PCR grade water (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 manipolazione 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* elencato nelle istruzioni per l'uso del prodotto QIAGEN per la diagnostica *in vitro* da utilizzare in combinazione con *ipsogen* RT Kit come kit accessorio
- Blocco riscaldante
- Ghiaccio o raffreddatore per microprovette e piastre per PCR

*Prima dell'uso, assicurarsi che tutti gli strumenti siano stati controllati e tarati in conformità alle istruzioni del produttore.

Informazioni sulla sicurezza

Quando si utilizzano sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio adeguato, guanti monouso e occhiali di protezione. Per maggiori informazioni, consultare le corrispondenti schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS). Le schede SDS, 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 i 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.

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

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

DTT

Contiene: (R*, R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diolo. Avvertenza! Causa lieve irritazione cutanea. Indossare guanti protettivi e indumenti protettivi. Proteggere gli occhi e il viso.

Informazioni di emergenza

CHEMTREC

Al di fuori di USA e Canada +1 703-527-3887

Controllo di qualità

In conformità con il Sistema di Gestione della Qualità certificato ISO di QIAGEN, ogni lotto di *ipsogen* RT Kit è testato in base a specifiche predeterminate per garantire una qualità costante del prodotto.

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 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 e -15 °C fino alla data di scadenza. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente. Non superare il numero massimo di 7 cicli di congelamento/scongelo.

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 e -15 °C o a temperature inferiori (tra -90 e -65 °C) se la conservazione avverrà per periodi prolungati.

Protocollo: trascrizione inversa

Aspetti importanti da considerare prima di iniziare

- Assicurarsi che i reagenti da utilizzare non siano scaduti e che siano stati trasportati e conservati secondo le istruzioni 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-Neg deve essere utilizzato un riferimento idrico specifico.

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

Ulteriori accorgimenti 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 e 8 °C o in ghiaccio (o su un raffreddatore per microprovette e piastre per PCR).
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 la 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 di premiscela RT per campione	15	

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

5. Miscelare con cura aspirando e rilasciando con la pipetta (non agitare in vortex), centrifugare brevemente e aggiungere 15 μ L di premiscela in ogni campione di RNA e in ogni controllo di acqua (RT-Neg). Conservare in ghiaccio (o su un raffreddatore per microprovette e piastre per PCR).
6. Miscelare con cura ogni provetta aspirando e rilasciando con la pipetta 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 di trascrizione inversa

Passaggio	Tempo
Trascrizione inversa 1	25 °C per 10
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 e 8 °C o in ghiaccio (o in un raffreddatore per microprovette e piastre per PCR) e procedere alla qPCR.

Simboli

I seguenti simboli compaiono nelle istruzioni per l'uso o su confezioni ed etichette:

Simbolo	Definizione del simbolo
	Contenuto di reagenti sufficiente per <N> reazioni
	Data di scadenza
	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 lotto
	Numero di materiale (vale a dire, l'etichetta del componente)
	Codice GTIN (Global Trade Item Number)
	Identificatore univoco del dispositivo
	Contenuto

Simbolo**Definizione del simbolo**

Componente



Numero

Rn

R indica la revisione delle Istruzioni per l'uso e n indica il numero della revisione



Limite di temperatura



Produttore

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

Cautela, consultare la documentazione allegata

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 le informazioni di licenza aggiornate e le clausole di esclusione della responsabilità per i singoli prodotti, consultare le Istruzioni per l'uso del rispettivo kit QIAGEN. Le Istruzioni per l'uso dei kit QIAGEN sono disponibili sul sito www.qiagen.com oppure possono essere richieste ai servizi tecnici QIAGEN o al distributore locale.

Cronologia delle revisioni del documento

Revisione	Descrizione
R1, agosto 2022	Versione iniziale
R2, luglio 2024	Nella sezione "Uso previsto" è stata aggiunta la dichiarazione per cui <i>ipsogen</i> RT Kit non è un dispositivo automatico Aggiornamento dell'avviso DTT e aggiunte le informazioni in caso di emergenza CHEMTREC nella sezione "Informazioni sulla sicurezza"

Contratto di licenza limitata per *ipsogen*® RT Kit

L'uso di questo prodotto implica l'accordo di qualsiasi acquirente o utente del prodotto ai seguenti termini:

1. Il prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e alle presenti Istruzioni per l'uso e soltanto con i componenti contenuti nel pannello. QIAGEN non concede nessuna licenza, nell'ambito della sua proprietà intellettuale, per l'utilizzo o l'integrazione dei componenti di questo pannello con qualsiasi componente non incluso in questo pannello, fatta eccezione per i protocolli forniti con il prodotto, le presenti Istruzioni per l'uso e i protocolli aggiuntivi disponibili sul sito www.qiagen.com. Alcuni di questi protocolli aggiuntivi sono stati messi a punto da utenti QIAGEN a beneficio degli utenti QIAGEN. Si tratta di protocolli che non sono stati collaudati o ottimizzati da QIAGEN. QIAGEN non offre alcuna garanzia in merito a essi né alla violazione da parte di essi di eventuali diritti di terzi.
2. Al di fuori delle licenze espressamente dichiarate, QIAGEN non garantisce che questo pannello e/o il suo utilizzo non violino i diritti di terzi.
3. Questo pannello e i relativi componenti sono concessi in licenza per un unico uso e non possono essere riutilizzati, rinnovati o rivenduti.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del pannello accettano di non prendere o permettere a chiunque altro di prendere misure che potrebbero portare o facilitare qualsiasi atto vietato sopra. QIAGEN farà valere i divieti di questo Contratto di licenza limitata presso qualsiasi foro e otterrà il risarcimento di tutte le spese sostenute a scopo di indagine e consulenza legale, ivi comprese le parcelle degli avvocati, con riferimento a qualsiasi causa legale intentata per fare rispettare questo Contratto di licenza limitata o qualsiasi altro diritto di proprietà intellettuale correlato a questo pannello e/o ai relativi componenti.

Per le condizioni di licenza aggiornate, consultare il sito www.qiagen.com.

Marchi commerciali: QIAGEN®, Sample to Insight®, *ipsogen*®. I marchi, nomi registrati, ecc., utilizzati nel presente documento, anche se non contrassegnati specificamente come tali, vanno considerati protetti dalla legge.

07/2024 HB-2939-002 1133762 ©2024 QIAGEN, tutti i diritti riservati.

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