



Julho de 2024

# Instruções de utilização do *ipsogen*<sup>®</sup> RT Kit (Folheto do produto)



Versão 2



Para utilização em diagnóstico in vitro



679823



QIAGEN, GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALEMANHA



1133762PT

# Índice

Utilização prevista	3
Descrição	3
Conteúdo do kit	4
Materiais necessários, mas não fornecidos	5
Consumíveis	5
Reagentes	5
Equipamento	5
Informações de segurança	6
Informações para casos de emergência	6
Controlo de qualidade	7
Transporte e armazenamento	7
Armazenamento e manuseamento de espécimes	7
Protocolo: Transcrição reversa	8
Símbolos	11
Informações para encomendas	13
Histórico de revisões do documento	14

# Utilização prevista

## Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

O *ipsogen*® RT Kit contém todos os reagentes, exceto o modelo, necessários para realizar uma transcrição reversa de reação em ARN extraído de amostras de origem humana. O *ipsogen* RT Kit destina-se a ser utilizado em conjunto com dispositivos QIAGEN de diagnóstico *in vitro* para os quais o *ipsogen* RT Kit está indicado como kit complementar.

O *ipsogen* RT Kit não é um dispositivo automatizado.

O *ipsogen* RT Kit destina-se a ser utilizado apenas por profissionais com formação específica, especializados em técnicas de biologia molecular e familiarizados com a tecnologia do dispositivo. O procedimento do dispositivo destina-se a ser implementado num ambiente laboratorial de biologia molecular.

O *ipsogen* RT Kit destina-se a ser utilizado em diagnóstico *in vitro*.

## Descrição

O *ipsogen* RT Kit permite a utilização de transcrição reversa de ARN total em testes de diagnóstico molecular: a atividade de polimerase de ADN dependente do ARN (transcrição reversa) transcreve ADNc de um modelo de ARN.

# Conteúdo do kit

Conteúdo	Volume (µL)
Reverse transcriptase (Transcriptase reversa)	36
5x RT Buffer for reverse transcription (5x tampão de TR para transcrição reversa)	180
dNTP Mix (Mistura de dNTP)*	72
Random Primer (Primer aleatório)†	190
RNase Inhibitor (Inibidor de RNase)	18
DTT‡	45

\*Desoxirribonucleótidos, 10 mM cada

†Oligonucleótido nonúmero aleatório

‡Ditioneitol, 0,1 M

# Materiais necessários, mas não fornecidos

## Consumíveis

- Água isenta de nuclease própria para PCR
- Tubos isentos de nuclease de 0,5 mL ou 0,2 mL

## Reagentes

- Água isenta de nuclease própria para PCR

**Nota:** Consulte o manual de produtos QIAGEN para os quais o *ipsogen* RT Kit está indicado como kit complementar, para verificar se deve ser utilizada uma referência de água específica.

## Equipamento

- Pipetas ajustáveis\* dedicadas para RT-PCR (1-10 µL 10-100 µL; 20-200 µL; 100-1000 µL)

**Nota:** São recomendados, no mínimo, dois conjuntos de pipetas: um para a preparação e distribuição de misturas de reação de RT e outro para manusear ARN.

- Centrífuga\* de bancada com rotor para tubos de reação de 0,2 mL/0,5 mL (capaz de atingir 8000 x g ou 10.000 rpm)
- Espectrofotômetro\*
- Termociclador\* indicado nas instruções de utilização do produto de diagnóstico *in vitro* combinado da QIAGEN para o qual o kit *ipsogen* RT está indicado como kit complementar

\*Antes de utilizar, certifique-se de que os instrumentos foram verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

- Bloco de aquecimento
- Gelo ou refrigerador de microtubos e placas de PCR

## Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, use sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (FDS) adequadas. Estas estão disponíveis online no formato PDF prático e compacto em [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a FDS de cada kit QIAGEN e dos respectivos componentes.

Para obter informações de segurança relativas a todos os outros materiais necessários, mas não fornecidos, consulte a respetiva FDS (de reagentes) e os manuais do utilizador do instrumento relevante.

Elimine os resíduos de amostras e de ensaios de acordo com o local onde se encontra e os regulamentos de segurança.

As seguintes advertências de perigo e precaução aplicam-se a componentes do *ipsogen* RT Kit:

### DTT

Conteúdo: (R\*, R\*)-1,4-Dimercaptobutano-2,3-diol. Aviso! Provoca uma ligeira irritação da pele. Usar luvas de proteção, vestuário de proteção, proteção ocular/proteção facial.

## Informações para casos de emergência

CHEMTREC

Fora dos EUA e do Canadá +1 703-527-3887

# Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de gestão da qualidade certificado pela norma ISO da QIAGEN, todos os lotes de *ipsogen* RT Kit são testados conforme especificações predeterminadas para garantir uma qualidade consistente do produto.

## Transporte e armazenamento

O *ipsogen* RT Kit é expedido em gelo seco e deve ser conservado entre -30 °C e -15 °C imediatamente após a receção num congelador de temperatura constante.

Quando armazenado nas condições de armazenamento especificadas, o *ipsogen* RT Kit permanece estável até à data de validade indicada no rótulo da caixa.

Uma vez abertos, os reagentes podem ser armazenados nas respetivas embalagens originais a temperaturas entre -30 e -15 °C até à data do prazo de validade indicada. Deve ser evitado o descongelamento/congelamento repetido. Não exceda um máximo de 7 ciclos de congelamento/descongelamento.

Os componentes conservados noutras condições que não as indicadas nos rótulos podem não apresentar um desempenho apropriado e afetar negativamente os resultados do ensaio.

## Armazenamento e manuseamento de espécimes

Após o isolamento, o ARN purificado pode ser armazenado a uma temperatura entre -30 e -15 °C ou inferior (-90 a -65 °C), caso seja necessário um armazenamento a longo prazo.

# Protocolo: Transcrição reversa

## Aspetos importantes antes de começar

- Certifique-se de que os reagentes a serem utilizados não estão expirados e foram transportados e armazenados de acordo com as recomendações do fabricante.
- O controlo negativo de TR (RT-Neg) é gerado durante o passo de transcrição reversa utilizando água isenta de nuclease própria para PCR.

**Nota:** Consulte o manual de produtos QIAGEN para os quais o *ipsogen* RT Kit está indicado como kit complementar, para verificar se deve ser utilizada uma referência de água específica para RT-Neg.

- A saída necessária é de 1 µg de ARN por amostra.

## Passos a seguir antes de iniciar o procedimento

- Limpe a área da bancada dedicada à preparação da mistura de transcrição reversa (TR) para assegurar que não há contaminação de modelos ou de nuclease.
- Descongele todos os componentes necessários, exceto a transcriptase reversa e o inibidor de RNase, que devem ser mantidos no congelador quando não estão a ser utilizados, e coloque-os em gelo ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR.

**Nota:** Não exceda 30 minutos no passo de descongelamento para evitar a degradação dos materiais.

- Misture cuidadosamente invertendo os tubos várias vezes (não agite em vórtex) e centrifugue brevemente para recolher o líquido no fundo do tubo.
- Ajuste a concentração das amostras de ARN para 0,1 µg/µL com água isenta de nuclease.

**Nota:** Consulte o manual de produtos QIAGEN para os quais o *ipsogen* RT Kit está indicado como kit complementar, para verificar se deve ser utilizada uma referência de água específica para normalização de amostras de ARN, bem como para os protocolos de quantificação, qualificação e normalização de RNA, quando aplicável.

## Procedimento

1. Faça a incubação de 1 µg de cada amostra de ARN a testar (10 µL) durante 5 minutos a 65 °C utilizando um bloco de aquecimento.
2. Arrefeça a amostra a 4 °C num bloco de aquecimento e mantenha a 2-8 °C ou em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR).
3. Centrifugue brevemente para recolher o líquido no fundo do tubo. Mantenha em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR).
4. Prepare a pré-mistura de transcrição reversa em gelo ou num refrigerador de microtubos e mantenha em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR). Consulte a Tabela 1.

**Tabela 1. Preparação da pré-mistura da transcrição reversa\***

Componente da pré-mistura	Volume por amostra (µL)	Concentração final
5x tampão para transcriptase reversa	5,0	1x
dNTP (10 mM cada)	2,0	0,8 mM
Nonâmero aleatório (100 µM)	5,25	21 µM
Inibidor de RNase (40 U/µL)	0,5	0,8 U/µL
Transcriptase reversa (200 U/µL)	1,0	8 U/µL
DTT	1,25	–

**Volume de pré-mistura de TR por amostra 15**

\*Prepare volume de pré-mistura para n+1 reações, em que n é o número de amostras de ARN que vão ser testadas.

5. Misture cuidadosamente, pipetando para cima e para baixo (não agite em vórtex), centrifugue brevemente e adicione 15 µL da pré-mistura a cada amostra de ARN e ao controlo de água (RT-Neg). Mantenha em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR).

- Misture cuidadosamente cada tubo, pipetando para cima e para baixo várias vezes (não agite em vortéx) e centrifugue brevemente.
- Execute o programa de transcrição reversa (consulte a Tabela 2) utilizando um termociclador.

**Tabela 2. Programa de transcrição reversa**

<b>Passo</b>	<b>Tempo</b>
Transcrição reversa 1	25 °C durante
Transcrição reversa 2	50 °C durante 60 min
Inativação	85 °C durante 5 min
Arrefecimento	4 °C durante 5 min

- Centrifugue brevemente para recolher o ADNc no fundo do tubo.
- Mantenha entre 2-8 °C ou em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR) e prossiga para a qPCR.

# Símbolos

Os seguintes símbolos aparecem nas instruções de utilização ou na embalagem e nos rótulos:

Símbolo	Definição do símbolo
	Contém reagentes suficientes para <N> reações
	Prazo de validade
	Este produto cumpre os requisitos do Regulamento europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro
	Número de catálogo
	Número do lote
	Número de material (por exemplo, rotulagem de componentes)
	Número global de item comercial
	Identificação única do dispositivo
	Conteúdo

## Símbolo

## Definição do símbolo



Componente



Número

Rn

R refere-se à revisão das Instruções de utilização e n é o número da revisão



Limites de temperatura



Fabricante



Consultar as instruções de utilização transferíveis em [resources.qiagen.com/679823](https://resources.qiagen.com/679823)



Cuidado, consultar a documentação adjunta

# Informações para encomendas

Produto	Conteúdo	N.º de cat.
<i>ipsogen</i> ® RT Kit	para 24 amostras: Reverse transcriptase (Transcriptase reversa), 5x RT buffer (5x tampão de TR), dNTP mix (Mistura de dNTP), Random primer (Primer aleatório), RNase Inhibitor (Inibidor de RNase), DTT	679823

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncias de responsabilidade específicas do produto, consulte as instruções de utilização do respetivo kit QIAGEN. As instruções de utilização do kit QIAGEN estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser solicitadas aos Serviços de Assistência da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

# Histórico de revisões do documento

Revisão	Descrição
R1, agosto de 2022	Primeira edição
R2, julho de 2024	Foi adicionado um esclarecimento na secção Utilização prevista, onde era referido que o <i>ipsogen</i> RT Kit não é um dispositivo automatizado Foi atualizada a secção Informações de segurança para atualizar o aviso DTT e adicionar informações de emergência CHEMTREC

### Contrato de Licença Limitada do *ipsogen*<sup>®</sup> RT Kit

A utilização deste produto implica a aceitação dos seguintes termos por parte de qualquer comprador ou utilizador do produto:

1. O produto deverá ser utilizado unicamente em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e com estas instruções de utilização e recorrendo à utilização exclusiva dos componentes contidos no painel. Nos termos dos direitos de propriedade intelectual, a QIAGEN não concede nenhuma licença para utilizar ou incluir os componentes incluídos neste painel com quaisquer componentes não incluídos neste painel, salvo conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, nestas Instruções de utilização e em quaisquer protocolos adicionais disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Alguns destes protocolos adicionais foram fornecidos por utilizadores de produtos QIAGEN para utilizadores de produtos QIAGEN. Os referidos protocolos não foram testados de forma exaustiva ou otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não assegura nem garante que os referidos protocolos não infringem os direitos de terceiros.
2. À exceção de licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não fornece qualquer garantia de que este painel e/ou a sua utilização ou utilizações não infrinjam os direitos de terceiros.
3. Este painel e respetivos componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, reconicionados ou objeto de revenda.
4. A QIAGEN recusa especificamente qualquer outra licença, expressa ou implícita, à exceção das expressamente declaradas.
5. O comprador e o utilizador do painel concordam em não tomar nem permitir que terceiros tomem medidas que possam conduzir a ou facilitar qualquer dos atos acima proibidos. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições do presente Contrato de Licença Limitada em qualquer tribunal e deverá recuperar todas as custas judiciais e de investigação em que incorra, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir o presente Contrato de Licença Limitada ou qualquer um dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao painel e/ou aos seus componentes.

Para obter os termos de licença atualizados, aceda a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marcas comerciais: QIAGEN<sup>®</sup>, Sample to Insight<sup>®</sup>, *ipsogen*<sup>®</sup>. Os nomes registados, as marcas comerciais, etc. utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados especificamente como tal, não devem ser considerados como não protegidos por lei.

07/2024 HB-2939-002 1133762 ©2024 QIAGEN, todos os direitos reservados.

Encomendas [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistência técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)