

ipsogen[®] RT Kit Instrucțiuni de utilizare (Fișă produs)



Versiunea 2

IVD

A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro



REF

679823



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

R2 **MAT**

1133762RO

Cuprins

Domeniul de utilizare _____	3
Descriere _____	3
Conținutul kitului _____	4
Materiale necesare, dar nefurnizate _____	5
Consumabile _____	5
Reactivi _____	5
Echipamente _____	5
Informații de siguranță _____	6
Informații pentru situații de urgență _____	6
Controlul calității _____	7
Expedierea și depozitarea _____	7
Depozitarea și manipularea speci­menelor _____	7
Protocol: Revers-transcriere _____	8
Simboluri _____	11
Informații pentru comandă _____	13
Istoricul revizuirilor documentului _____	14

Domaniul de utilizare

A se utiliza pentru diagnosticarea *in vitro*.

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

ipsogen RT Kit nu este un dispozitiv automat.

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

Conținutul kitului

Conținut	Volum (μl)
Revers-transcriptază	36
5x RT Buffer pentru transcriere inversă	180
dNTP Mix*	72
Soluție de amorsare aleatorie †	190
Inhibitor de RNază	18
DTT ‡	45

* Deoxinucleotide câte 10 mM

† Oligonucleotidă nonamer aleatorie

‡ Ditiotritol, 0,1M

Materiale necesare, dar nefurnizate

Consumabile

- Apă de calitate PCR fără nuclează
- Eprubete fără nuclează de 0,5 sau 0,2 ml

Reactivi

- Apă de calitate PCR fără nuclează

Notă: 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; 20–200 µl; 100–1000 µl)

Notă : 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 10.000 rot/min)
- Spectrofotometru*
- Ciclator termic* menționat în instrucțiunile de utilizare împreună cu produsele QIAGEN pentru diagnosticare *in vitro*, pentru care *ipsogen* RT Kit este menționat drept kit de accesorii

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

- Bloc de încălzire
- Gheață sau dispozitiv de răcire pentru microtuburi și plăci PCR

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 Sheet, SDS) corespunzătoare. Acestea sunt disponibile online într-un format PDF ușor de utilizat și compact, la adresa www.qiagen.com/safety unde puteți găsi, vizualiza și tipări fișa cu date de securitate a fiecărui kit și componente a kitului QIAGEN.

Pentru informații de siguranță referitoare la toate celelalte materiale necesare, dar nefurnizate, vă rugăm să consultați fișa cu date de securitate (Safety Data Sheet, SDS) respectivă – pentru reactivi – și manualele de utilizare ale instrumentului relevant.

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

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

DTT

Conține: (R*, R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol. Avertisment! Provoacă iritarea ușoară a pielii. Purtați mănuși de protecție, îmbrăcăminte de protecție, ochelari de protecție/mască de protecție.

Informații pentru situații de urgență

CHEMTREC

În afara SUA și a Canadei +1 703-527-3887

Controlul calității

În conformitate cu sistemul QIAGEN de management al calității certificat ISO, fiecare lot de *ipsogen* RT Kit este testat conform specificațiilor prestabilite pentru a asigura o calitate constantă a produsului.

Expedierea și depozitarea

ipsogen RT Kit este expedit 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: Revers-transcriere

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 revers-transcriere, utilizând apă de calitate PCR fără nuclează.

Notă: 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 ieșire 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.

Notă: 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 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ cu apă fără nuclează.

Notă: 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 cuantificarea, calificarea și protocoalele de normalizare a ARN-ului, atunci când este cazul.

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 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 revers-transcriere 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 revers-transcriere*

Componentă amestec preliminar	Volum per probă (μl)	Concentrație finală
5x soluție tampon revers-transcriptază	5,0	1x
dNTP (10 mM fiecare)	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 revers-transcriere

Etapă	Timp
Revers-transcriere 1	25 °C timp de
Revers-transcriere 2	50 °C timp de 60 min
Inactivare	85 °C timp de 5 min
Răcire	4 °C timp de 5 min

8. Centrifugați pentru scurt timp pentru a colecta ADN-ul complementar în partea de jos a tubului.
9. 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

În instrucțiunile de utilizare sau pe ambalaj și pe etichete pot apărea următoarele simboluri:

Simbol	Definiția simbolului
	Conține reactivi suficienți pentru <N> reacții
	Data de expirare
	Acest produs îndeplinește cerințele Regulamentului european 2017/746 privind dispozitivele medicale pentru diagnostic in vitro.
	Dispozitiv medical pentru diagnostic in vitro
	Număr de catalog
	Număr de lot
	Număr de material (adică eticheta componentei)
	Numărul global de articol comercial (GTIN)
	Identificator unic dispozitiv
	Conține

Simbol**Definiția simbolului**

Componentă



Număr

Rn

R reprezintă revizuirea Instrucțiunilor de utilizare, iar n este numărul revizuirii



Limită de temperatură



Producător



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



Atenție, consultați documentele însoțitoare

Informații pentru comandă

Produs	Conținut	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 declinări de răspundere specifice produsului, consultați Instrucțiunile de utilizare ale kitului QIAGEN respectiv. Instrucțiunile de utilizare pentru kiturile QIAGEN sunt disponibile la adresa www.qiagen.com sau pot fi solicitate de la Serviciile tehnice QIAGEN sau de la distribuitorul dumneavoastră local.

Istoricul revizuirilor documentului

Revizuire	Descriere
R1, august 2022	Ediție inițială
R2, iulie 2024	S-au adăugat clarificări în secțiunea Domeniul de utilizare, și anume, faptul că <i>ipsogen</i> RT Kit nu este un dispozitiv automat S-a actualizat secțiunea Informații de siguranță pentru a actualiza avertismentul DTT și pentru a adăuga informații în caz de urgență CHEMTREC

Acord de licență limitată pentru *ipsogen*® RT Kit

Utilizarea acestui produs înseamnă acceptarea următorilor termeni de către orice cumpărător sau utilizator al produsului:

1. Produsul poate fi utilizat doar în conformitate cu protocoalele furnizate împreună cu produsul și aceste Instrucțiuni de utilizare și doar împreună cu componentele incluse în panou. QIAGEN nu acordă nicio licență pentru niciuna dintre proprietățile sale intelectuale în vederea utilizării sau încorporării componentelor incluse în acest panou cu orice componentă care nu este inclusă în acest panou, dacă nu este precizat astfel în protocoalele furnizate împreună cu produsul, în aceste Instrucțiuni de utilizare și în protocoalele suplimentare disponibile la adresa www.qiagen.com. Unele dintre aceste protocoale suplimentare au fost furnizate de utilizatorii QIAGEN pentru utilizatorii QIAGEN. Aceste protocoale nu au fost testate riguros sau optimizate de QIAGEN. QIAGEN nu le garantează și nici nu asigură faptul că acestea nu încalcă drepturile terților.
2. În afară de licențele acordate în mod explicit, QIAGEN nu garantează sub nicio formă că acest panou și/sau utilizarea (utilizările) acestuia nu încalcă drepturile terților.
3. Acest panou și componentele sale sunt licențiate pentru o singură utilizare și nu pot fi reutilizate, recondiționate sau revândute.
4. QIAGEN declină în mod specific orice licențe, explicite sau implicite, altele decât cele declarate în mod explicit.
5. Cumpărătorul și utilizatorul panoului acceptă să nu ia măsuri și să nu permită niciunei persoane să ia măsuri care ar putea conduce la sau facilita oricare dintre acțiunile interzise prezentate mai sus. QIAGEN poate pune în aplicare interdicțiile din acest Acord de licență limitată în orice instanță și va recupera toate costurile anchetelor și cheltuielile de judecată, inclusiv onorariile avocaților, în orice acțiune pentru aplicarea acestui Acord de licență limitată sau a oricăruia dintre drepturile sale de proprietate intelectuală legate de panou și/sau componentele acestuia.

Pentru clauzele de licență actualizate, consultați www.qiagen.com.

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

07/2024 HB-2939-002 1133762 ©2024 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

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