



Ağustos 2022

# *ipsogen*<sup>®</sup> RT Kit

## Kullanım Talimatları (Ürün Formu)

Sürüm 2

IVD

CE

REF



R1 MAT

679823

QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden

1128912TR

## Kullanım Amacı

### **İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir**

*ipsogen*, RT Kit, insan örneklerinden ekstrakte edilen RNA üzerinde bir ters transkripsiyon reaksiyonu gerçekleştirmek için gerekli olan şablon dışındaki tüm reaktifleri içerir. *İpsogen* RT Kit, *ipsogen* RT Kitin bir aksesuar kiti olarak listelendiği *in vitro* tanı amaçlı QIAGEN ürünleri ile kombinasyon halinde kullanılması amaçlanmaktadır.

*ipsogen* RT Kitin yalnızca özel eğitim almış, moleküler biyoloji teknikleri konusunda öğrenim görmüş ve cihaz teknolojisiyle ilgili bilgi sahibi olan profesyonel kişiler tarafından kullanılması amaçlanmaktadır. Cihaz prosedürü moleküler biyoloji laboratuvar ortamında uygulanacaktır.

*ipsogen* RT Kit, *in vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.

### **Açıklama**

*ipsogen* RT Kit total RNA'nın ters transkripsiyonunun moleküler tanı amaçlı testlerde kullanılmasına olanak tanır: RNA'ya bağlı DNA polimeraz aktivitesi (ters transkripsiyon), cDNA'yı bir RNA şablonundan kopyalar.

## Kit İçeriĐi

Reverse Transcriptase (Ters Transkriptaz)	36 µl
5x RT Buffer for reverse transcription (Ters transkripsiyon için 5x RT Tamponu)	180 µl
dNTP Mix * (dNTP Karışımı)	72 µl
Random Primer † (Rastgele Primer)	190 µl
RNase Inhibitor (RNaz İnhibitörü)	18 µl
DTT ‡	45 µl

\* Deoksिनükleotidler her biri 10 mM

† Rastgele nonamer oligonükleotid

‡ Ditioneitol, 0,1 M

## Gerekli Olan Ancak SaĐılanmayan Malzemeler

### Sarf Malzemeleri

- Nükleaz içermeyen aerosole dirençli steril hidrofobik filtreli PCR pipeti uçları
- 0,5 ml veya 0,2 ml nükleaz içermeyen tüp

### Reaktifler

- Nükleaz içermeyen PCR sınıfı su

**Not:** Belirli bir su referansının kullanılıp kullanılmayacağını gormek için lütfen *ipsogen* RT Kitin bir aksesuar kiti olarak listelendiği QIAGEN rnlerinin el kitabına başvurun.

## Ekipman

- RT-PCR (1-10 µl; 10-100 µl; 20-200 µl; 100-1000 µl) için ayrılmış ayarlanabilir pipetler\*  
**Not:** Minimum iki pipet seti tavsiye edilir: RT reaksiyon karışımlarının hazırlanışı ve dağıtımı için bir tane, RNA kullanımı için bir tane.
- 0,2 ml / 0,5 ml'lik reaksiyon tüpleri için rotora sahip masaüstü santrifüj\* (8000 × g veya 10.000 rpm'ye ulaşma özelliğinde)
- Spektrofotometre\*
- Isıl döngüleyici\*
- Isıtma bloğu
- Buz veya mikro tüp ve PCR plaka soğutucusu

\* Kullanım öncesinde cihazların üreticinin önerilerine göre kontrol edildiğinden ve kalibre edildiğinden emin olun.

## Nakliye ve Saklama

*ipsogen* RT Kit kuru buzda gönderilir ve teslim alınmasından hemen sonra sabit sıcaklıktaki bir soğutucuda  $-30^{\circ}\text{C}$  ile  $-15^{\circ}\text{C}$  arasında saklanmalıdır.

*ipsogen* RT Kit, belirtilen saklama koşullarında saklandığı zaman kutu etiketinde belirtilen son kullanma tarihine kadar stabil kalır.

Bir kez açıldığında, reaktifler belirtilen son kullanma tarihlerine kadar  $-30^{\circ}\text{C}$  ile  $-15^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta orijinal ambalajı içinde saklanabilir. Tekrarlanan dondurma ve çözündürme işlemlerinden kaçınılmalıdır. En fazla 7 dondurma-çözündürme döngüsünü aşmayın.

Etiket üzerinde belirtilenlerin dışındaki koşullarda saklanan bileşenler düzgün çalışmayabilir ve tahlil sonuçlarını olumsuz etkileyebilir.

## Numune Saklama ve Kullanma

Uzun süre saklanması gereken saflaştırılmış RNA, izolasyon sonrasında  $-30^{\circ}\text{C}$  ile  $-15^{\circ}\text{C}$  arasında veya daha düşük sıcaklıkta ( $-90^{\circ}\text{C}$  ile  $-65^{\circ}\text{C}$ ) saklanabilir.

## Protokol: Ters transkripsiyon

### Başlamadan önce önemli noktalar

- Kullanılacak reaktiflerin son kullanma tarihinin geçmediğinden ve bunların üreticinin tavsiyelerine göre nakledilip saklandığından emin olun.
- RT negatif kontrol (RT-Neg), nükleaz içermeyen PCR sınıfı su kullanılarak ters transkripsiyon adımı esnasında elde edilir.  
**Not:** RT-Neg için belirli bir su referansının kullanılıp kullanılmayacağını görmek için lütfen *ipsogen* RT Kitin bir aksesuar kiti olarak listelendiği QIAGEN ürünlerinin el kitabına başvurun.
- Gerekli girdi, örnek başına 1 µg RNA'dır.

### Başlamadan önce yapılacaklar

- Ters transkripsiyon (reverse transcription, RT) karışımı hazırlanacak tezgahın üzerini, herhangi bir şablon veya nükleaz kontaminasyonuna karşı temizleyin.
- Kullanılmadığında dondurucuda tutulması gereken ters transkriptaz ve RNaz inhibitörü haricinde tüm gerekli bileşenleri çözündürün ve buz üzerine veya bir mikro tüp ve PCR plaka soğutucusuna yerleştirin.  
**Not:** Çözündürme adımı 30 dakikadan uzun sürmemelidir; aksi takdirde malzeme bozulabilir.
- Tüpleri birkaç kez ters yüz ederek nazikçe karıştırın (vorteksle karıştırmayın) ve sıvıyı tüpün altında toplamak için kısa süreli santrifüj edin.
- Nükleaz içermeyen su ile RNA örneklerini 0,1 µg/µl olarak ayarlayın.  
**Not:** RNA örneği normalizasyonu için olmasının yanı sıra uygun olduğu takdirde RNA miktar tayini, kalifikasyonu ve normalizasyon protokolleri için belirli bir su referansının kullanılıp kullanılmayacağını görmek için lütfen *ipsogen* RT Kitin bir aksesuar kiti olarak listelendiği QIAGEN ürünlerinin el kitabına başvurun.

## Prosedür

1. Test edilecek (10 µl) her bir RNA örneğinin 1 µg'ını bir ısıtma bloğu kullanarak 65°C'de 5 dakika süreyle inkübe edin.
2. Örneği bir ısıtma bloğunda 4°C'de soğutun ve kullanıma kadar 2°C ila 8°C'de veya buz üzerinde (veya bir mikro tüp ve PCR plaka soğutucusu üzerinde) tutun.
3. Sıvıları tüpün altında toplamak için kısa süre santrifüj edin. Buz üzerinde (veya bir mikro tüp ve PCR plaka soğutucusu üzerinde) tutun.
4. Ters transkripsiyon ön karışımını buz üzerinde veya bir mikro tüp soğutucusunda hazırlayın ve buz üzerinde (veya bir mikro tüp ve PCR plaka soğutucusu üzerinde) tutun (bkz. Tablo 1).

**Tablo 1. Ters transkripsiyon ön karışımının hazırlanması\***

Ön karışım bileşeni	Örnek başına hacim (µl)	Nihai konsantrasyon
5x Ters transkriptaz tamponu	5,0	1x
dNTP (her biri 10 mM)	2,0	0,8 mM
Rastgele nonamer (100 µM)	5,25	21 µM
RNaz İnhibitörü (40 U/µl)	0,5	0.8 U/µl
Ters transkriptaz (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-

**Örnek başına RT ön karışım hacmi 15**

\* n +1 reaksiyonları için ön karışım hacmini hazırlayın, buradaki n test edilecek RNA örneklerinin sayısıdır

5. Yukarı ve aşağı pipetleyerek dikkatlice karıştırın (vorteksle karıştırmayın), kısa süreli santrifüj edin ve her bir RNA örneği için ve su kontrolü (RT-Neg) için ön karışımdan 15 µl ekleyin. Buz üzerinde (veya bir mikro tüp ve PCR plaka soğutucusu üzerinde) tutun.
6. Her bir tüpü birkaç kez yukarı ve aşağı pipetleyerek dikkatlice karıştırın (vorteksle karıştırmayın) ve kısa süreli santrifüj edin.
7. Isıl döngüleyiciyi kullanarak ters transkripsiyon programını çalıştırın (bkz. Tablo 2).

**Tablo 2. Ters transkripsiyon programı**

Ters transkripsiyon 1	10 dakika süreyle 25°C
Ters transkripsiyon 2	60 dakika süreyle 50°C
İnaktivasyon	5 dakika süreyle 85°C
Soğutma	5 dakika süreyle 4°C

8. cDNA'yı tüpün altında toplamak için kısa süre santrifüj edin.
9. 2°C ila 8°C'de veya buz üzerinde (veya bir mikro tüp ve PCR plaka soğutucusu üzerinde) tutun ve qPCR'ye ilerleyin.



## Semboller



Bu ürün, in vitro tanı amaçlı tıbbi cihazlar için Avrupa Yönetmeliği 2017/746'nın gerekliliklerini karşılamaktadır.



İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz



Katalog numarası



Malzeme numarası



Lot numarası



Küresel Ticaret Parça Numarası



Benzersiz Cihaz Tanımlayıcı



İçindekiler



Bileşen



Numara

Rn

R Ürün Formu revizyonudur ve n revizyon numarasıdır



Kullanacak kişi:



Sıcaklık sınırlamaları



Yasal üretici



Şu adresten indirebileceğiniz kullanım talimatlarına başvurun:

[resources.qiagen.com/679823](https://resources.qiagen.com/679823)



<N>

<N> reaksiyon için yeterli reaktif içerir

## Güvenlik Bilgileri

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN® kiti ve kit bileşenlerine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) adresinde çevrimiçi olarak pratik ve kompakt PDF biçiminde mevcuttur.

Diğer tüm "Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler" ile ilgili güvenlik bilgileri için, lütfen reaktifler için ilgili SDS'ye ve ilgili alet kullanım kılavuzlarına başvurun.

Aşağıdaki tehlike ve ikaz ifadeleri *ipsogen* RT Kitin bileşenleri için geçerlidir:

### DTT

Uyarı! Gözlerde, ciltte ve mukoz membranlarda hafif kaşınmaya neden olur. Kaşınma görülürse: doktor tavsiyesi/tıbbi yardım alın.

Örnek ve tahlil atığını yerel güvenlik düzenlemelerinize uygun olarak atın.

## Kalite Kontrol

QIAGEN ISO sertifikalı Kalite Yönetim Sistemi uyarınca, *ipsogen* RT Kitin her bir lotu tutarlı ürün kalitesi sağlamak için önceden belirlenmiş özelliklere göre test edilir.

## Sipariř Bilgileri

Ürün	İçerik	Kat. no.
<i>ipsogen</i> <sup>®</sup> RT Kit	24 örnek için: Ters transkriptaz, 5x RT tamponu, dNTP karışımı, Rastgele primer, RNaz İnhibitörü, DTT	679823

Güncel lisanslama bilgileri ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servisleri veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

## Belge Revizyon GemiŖi

Tarih	DeęiŖiklikler
08/2022	İlk revizyon

Ticari Markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, *ipsogen*® (QIAGEN Group). Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu Ŗekilde belirtilmemiŖ olsa bile yasalarda korunmaktadır.

1128912TR 08/2022 HB-2939-001 © 2022 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

SipariŖ [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknik Destek [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com) | Web Sitesi [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)