



Agosto de 2022

ipsogen[®] RT Kit

Instrucciones de uso (Hoja de información)

Versión 2

IVD



REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden

R1 **MAT**

1128912ES

Uso previsto

Para uso 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 productos QIAGEN para diagnóstico *in vitro* para los que el *ipsogen* RT Kit está enumerado como kit accesorio.

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 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

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

* Deoxinucleótidos 10 mM cada uno

† Oligonucleótido nonúmero aleatorio

‡ Ditioneitol, 0,1 M

Materiales necesarios pero no suministrados

Consumibles

- Puntas de pipeta para PCR estériles, libres de nucleasas, resistentes a aerosoles y con filtros hidrófobos
- 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; 100–1.000 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 8.000 x g o 10.000 rpm)
- Espectrofotómetro*
- Termociclador*
- Bloque calefactor
- Hielo o microtubo y enfriador de placas para PCR

* Antes de usar el producto, asegúrese de que los instrumentos se hayan verificado y calibrado siguiendo las recomendaciones del fabricante.

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 pueden 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. No es aconsejable descongelarlos y volver luego a congelarlos. No exceda el 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 $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ o inferior (entre $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 la normalización de muestras de ARN, así como para los protocolos de cuantificación, cualificación y normalización de ARN, si procede.

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. Enfríe 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) hasta el uso.
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). Conserve en hielo (o en un microtubo y un 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

Transcripción inversa 1	25 °C durante 10 min
Transcripción inversa 2	50 °C durante 60 min
Inactivation (Inactivación)	85 °C durante 5 min
Refrigeración	4 °C durante 5 min

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



Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro.



Producto sanitario para diagnóstico in vitro



Número de catálogo



Número de material



Número de lote



Número mundial de artículo comercial



Identificador único de dispositivo



Contiene



Componente



Número

Rn

“R” significa revisión de la hoja de información del producto y “n” es el número de revisión



Fecha de caducidad



Limitaciones de temperatura



Fabricante legal



Consulte las instrucciones de uso que se pueden descargar en

resources.qiagen.com/679823



<N>

Contiene suficientes reactivos para <N> reacciones

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 fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en www.qiagen.com/safety, desde donde también podrá buscar, ver e imprimir las SDS de todos los kits y componentes de los kits QIAGEN®.

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.

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

DTT

¡Advertencia! Provoca irritación leve en los ojos, la piel y las membranas mucosas. Si aparece irritación, consulte con un médico.

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

Control de calidad

En cumplimiento del sistema de gestión de calidad con certificación ISO de QIAGEN, cada lote del *ipsogen* RT Kit se analiza en relación con especificaciones predeterminadas para garantizar la uniformidad de la calidad del producto.

Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de cat.
<i>ipsogen</i> [®] RT Kit	Para 24 muestras: Reverse transcriptase, 5x RT buffer, dNTP mix, Random primer, RNase Inhibitor, DTT	679823

Para obtener información actualizada sobre licencias y exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual de uso o la guía del usuario del kit de QIAGEN correspondiente. Los manuales de uso y las guías del usuario de los kits 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

Fecha	Cambios
08/2022	Versión inicial

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, ipsogen® (QIAGEN Group). Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc., utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.

1128912ES 08/2022 HB-2939-001 © 2022 QIAGEN. Todos los derechos reservados.

Pedidos www.qiagen.com/shop | Asistencia técnica support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com