



Août 2022

ipsogen[®] RT Kit

Instructions d'utilisation (fiche technique)

Version 2

IVD



REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden

R1 **MAT**

1128912FR

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro*

L'*ipsogen* RT Kit contient tous les réactifs, excepté la matrice, nécessaire à la réaction de transcription inverse sur l'ARN extrait d'échantillons humains. L'*ipsogen* RT Kit est destiné à être utilisé en combinaison avec les produits de diagnostic *in vitro* QIAGEN pour lesquels l'*ipsogen* RT Kit est répertorié comme un kit accessoire.

L'*ipsogen* RT Kit est destiné à être utilisé uniquement par les professionnels ayant reçu les instructions et la formation spécialement liées aux techniques de biologie moléculaires et étant familiarisé avec la technologie de l'appareil. La procédure de l'appareil doit être exécutée dans un environnement de laboratoire de biologie moléculaire.

L'*ipsogen* RT Kit est conçu pour une utilisation en diagnostic *in vitro*.

Description

L'*ipsogen* RT Kit permet la transcription inverse de l'ARN total à utiliser dans les tests diagnostics moléculaires : l'activité de l'ADN polymérase ARN-dépendante (transcription inverse) transcrit l'ADNc à partir d'une matrice d'ARN.

Contenu du kit

Reverse Transcriptase (transcriptase inverse)	36 µl
5x RT Buffer for reverse transcription (5 x tampons RT pour la transcription inverse)	180 µl
dNTP Mix* (mélange dNTP)	72 µl
Random Primer † (amorce aléatoire)	190 µl
RNase Inhibitor (inhibiteur de RNase)	18 µl
DTT ‡	45 µl

* Désoxynucléotides de 10 mM chacun

† Oligonucléotide nonamère aléatoire

‡ Dithiothréitol, 0,1 M

Matériel nécessaire, mais non fourni

Consommables

- Pointes de pipette pour PCR avec filtre hydrophobe, stériles, exemptes de nucléase et aérosol-résistantes
- Tubes exemptes de nucléase de 0,5 ml ou 0,2 ml

Réactifs

- Eau sans nucléase pour PCR

Remarque : veuillez consulter le manuel des produits QIAGEN pour lesquels l'*ipsogen* RT Kit est répertorié comme un kit accessoire, afin de savoir si une référence d'eau spécifique doit être utilisée.

Équipement

- Pipettes réglables* spécialement conçues pour la RT-PCR (1–10 µl ; 10–100 µl ; 20–200 µl ; 100–1000 µl)

Remarque : deux jeux de pipettes sont recommandés au minimum : le premier pour la préparation et la distribution des mélanges réactionnels RT et le second pour la manipulation du de l'ARN.

- Centrifugeuse de paillasse* avec rotor pour tubes de réaction de 0,2 ml/0,5 ml (capable d'atteindre 8 000 × g ou 10 000 tr/min)
- Spectrophotomètre*
- Thermocycleur*
- Bloc chauffant
- Glace ou microtube et refroidisseur de plaque de PCR

* Avant utilisation, s'assurer que les instruments ont été vérifiés et calibrés conformément aux recommandations du fabricant.

Transport et conservation

L'*ipsogen* RT Kit est expédié sur un lit de carboglace et doit être stocké entre -30 °C et -15 °C dès la réception, dans un congélateur à température constante.

Lorsqu'il est stocké dans les conditions de conservation spécifiées, l'*ipsogen* RT Kit est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la boîte.

Une fois ouverts, les réactifs peuvent être conservés dans leur emballage d'origine à une température comprise entre -30 °C et -15 °C jusqu'à la date de péremption indiquée. Éviter de répéter les cycles de congélation-décongélation. Ne pas dépasser un maximum de 7 cycles de congélation-décongélation.

Tous les composants stockés dans des conditions autres que celles mentionnées sur l'étiquetage peuvent ne pas fonctionner correctement et affecter les résultats des dosages.

Conservation et manipulation des échantillons

Après sa séparation, l'ARN purifié peut être conservé à une température comprise entre -30 °C et -15 °C ou à une température plus faible (-90 °C à -65 °C) si un stockage de longue durée est nécessaire.

Protocole : Transcription inverse

Points importants avant de commencer

- Vérifier que les réactifs à utiliser ne sont pas périmés et qu'ils ont été transportés et stockés selon les recommandations du fabricant.
- Le contrôle Rt-négatif (RT-nég) est généré lors de l'étape de transcription inverse à l'aide d'eau sans nucléase pour PCR.

Remarque : veuillez consulter le manuel des produits QIAGEN pour lesquels l'*ipsogen* RT Kit est répertorié comme un kit accessoire, afin de savoir si une référence d'eau spécifique doit être utilisée pour le RT-nég.

- La quantité nécessaire est de 1 µg d'ARN par échantillon.

Étapes préliminaires

- Nettoyer la zone de la paillasse consacrée à la préparation du mélange pour transcription inverse (RT) afin d'éviter toute contamination de matrice ou de nucléase.
- Décongeler tous les composants nécessaires, à l'exception de la transcriptase inverse et de l'inhibiteur de RNase, qui doit être conservé au congélateur quand il n'est pas utilisé, et les placer sur de la glace ou dans un microtube et un refroidisseur de plaque de PCR.

Remarque : l'étape de décongélation ne doit pas dépasser 30 minutes afin d'éviter toute dégradation des produits.

- Mélanger doucement en retournant les tubes plusieurs fois (ne pas agiter au vortex), puis passer brièvement à la centrifugeuse avant utilisation pour prélever le liquide au fond du tube.
- Ajuster les échantillons d'ARN à 0,1 µg/µL avec de l'eau exempte de nucléase.

Remarque : veuillez consulter le manuel des produits QIAGEN pour lesquels l'*ipsogen* RT Kit est répertorié comme un kit accessoire, afin de savoir si une référence d'eau spécifique doit être utilisée pour les protocoles de normalisation des échantillons d'ARN, de qualification et de normalisation le cas échéant.

Procédure

1. Incuber 1 µg de chaque échantillon d'ARN à tester (10 µl) pendant 5 min à 65 °C avec le bloc chauffant.
2. Refroidir l'échantillon à 4 °C dans un bloc chauffant et conserver entre 2 °C et 8 °C ou sur de la glace (ou dans un microtube et un refroidisseur de plaque de PCR) jusqu'à l'utilisation.
3. Centrifuger brièvement pour que le liquide soit rassemblé au fond du tube. Conserver sur la glace (ou dans un microtube et un refroidisseur de plaque de PCR).
4. Préparer le pré-mélange de transcription inverse sur de la glace ou dans un refroidisseur de microtube et conserver sur la glace (ou dans un microtube et un refroidisseur de plaque de PCR) (voir Tableau 1).

Tableau 1. Préparation du pré-mélange de transcription inverse*

Composant de pré-mélange	Volume par échantillon (µl)	Concentration finale
5x tampons de transcriptase inverse	5,0	1x
dNTP (10 mM chacun)	2,0	0,8 mM
Nonamère aléatoire (100 µM)	5,25	21 µM
Inhibiteur de RNase (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Transcriptase inverse (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-
Volume de pré-mélange RT par échantillon	15	

* Préparer un volume de pré-mélange pour n +1 réactions, où n correspond au nombre d'échantillons d'ARN à tester

5. Mélanger délicatement par aspiration-refoulement avec la pipette (ne pas agiter au vortex), centrifuger brièvement et ajouter 15 µl du pré-mélange à chaque échantillon d'ARN et au témoin eau (RT-nég). Conserver sur la glace (ou dans un microtube et un refroidisseur de plaque de PCR).
6. Mélanger délicatement chaque tube par aspiration-refoulement avec la pipette (ne pas agiter au vortex) et centrifuger brièvement.
7. Effectuer le programme de transcription inverse (voir tableau 2) sur un thermocycleur.

Tableau 2. Programme de transcription inverse

Transcription inverse 1	25 °C pendant 10 min
Transcription inverse 2	50 °C pendant 60 min
Inactivation	85 °C pendant 5 min
Refroidissement	4 °C pendant 5 min

- Centrifuger brièvement pour que l'ADNc soit rassemblé au fond du tube.
- Conserver entre 2 °C et 8 °C ou sur de la glace (ou dans un microtube et refroidisseur de plaque de PCR) et passer au qPCR.

Symboles



Ce produit est conforme aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.



Dispositif médical de diagnostic in vitro



Numéro de référence



Référence produit



Numéro de lot



Numéro d'article du commerce global



Identificateur unique d'appareil



Contient



Composant



Numéro

Rn

R indique qu'il s'agit d'une révision de la fiche technique et n indique le numéro de révision



À utiliser avant



Limites de température



Fabricant légal



Consulter le mode d'emploi pouvant être téléchargé sur resources.qiagen.com/679823



<N>

Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions

Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Celles-ci sont disponibles en ligne dans un format PDF pratique et compact sur le site www.qiagen.com/safety répertoriant les FDS imprimables pour chaque kit QIAGEN® et chaque composant.

Pour les informations de sécurité relatives à tous les autres « Matériel nécessaire mais non fourni », veuillez consulter la FDS correspondante – pour les réactifs – et les manuels d'utilisation des instruments concernés.

Les avertissements et conseils de prudence suivants s'appliquent aux composants de l'*ipsogen* RT Kit :

DTT

Avertissement ! Cause une légère irritation des yeux, de la peau et des membranes des muqueuses. En cas d'irritation : consulter un médecin.

Mettre au rebut les déchets d'échantillons et de dosages conformément aux règles de sécurité locales.

Contrôle de la qualité

Conformément au système de gestion de la qualité certifié ISO de QIAGEN, chaque lot d'*ipsogen* RT Kit est testé selon des spécifications prédéterminées afin de garantir une qualité constante du produit.

Informations pour commander

Produit	Sommaire	N° de réf.
<i>ipsogen</i> [®] RT Kit	Pour 24 échantillons : transcriptase inverse, 5x tampons RT, mélange dNTP, amorce aléatoire, inhibiteur de RNase, DTT	679823

Pour connaître les dernières informations sur les licences et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

Historique des révisions du document

Date	Changements
08/2022	Révision initiale

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, *ipsogen*® (groupe QIAGEN). Les noms déposés, marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

1128912FR 08/2022 HB-2939-001 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.

Pour commander www.qiagen.com/shop | Assistance technique support.qiagen.com | Site Web www.qiagen.com