

ipsogen® RT Kit

Gebrauchsanweisung (Produktblatt)



Version 2

IVD

Zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik

CE

REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, 40724 Hilden, DEUTSCHLAND

R2 **MAT**

1133762DE

Inhaltsverzeichnis

Verwendungszweck	3
Beschreibung	3
Kit-Inhalt	4
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	5
Verbrauchsmaterialien	5
Reagenzien	5
Ausstattung/Geräte	5
Sicherheitshinweise	6
Notfallinformationen	6
Qualitätskontrolle	7
Transport und Lagerung	7
Lagerung und Handhabung der Proben	7
Protokoll: Reverse Transkription	8
Symbole	11
Bestellinformationen	13
Revisionsverlauf des Dokuments	14

Verwendungszweck

Zur Verwendung in der *In-vitro*-Diagnostik.

Das *ipsogen*® RT Kit enthält außer dem Template alle Reagenzien zur Durchführung einer reversen Transkriptionsreaktion an RNA, die aus menschlichen Proben extrahiert wurde. Das *ipsogen* RT Kit ist für die Verwendung in Kombination mit QIAGEN Produkten für die In-vitro-Diagnostik vorgesehen, für die das *ipsogen* RT Kit als Zubehörkit aufgeführt ist.

Das *ipsogen* RT Kit ist kein automatisiertes Produkt.

Das *ipsogen* RT Kit darf nur von Personen verwendet werden, die für die Anwendung molekularbiologischer Verfahren und das hier beschriebene System speziell eingewiesen und geschult wurden. Das Geräteverfahren ist in einer molekularbiologischen Laborumgebung durchzuführen.

Das *ipsogen* RT Kit ist für den Einsatz in der *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.

Beschreibung

Das *ipsogen* RT Kit dient zur reversen Transkription der Gesamt-RNA in molekulardiagnostischen Tests: Die RNA-abhängige DNA-Polymeraseaktivität (reverse Transkription) transkribiert cDNA von einem RNA-Template.

Kit-Inhalt

Inhalt	Volumen (µl)
Reverse Transcriptase (reverse Transkriptase)	36
5x RT Buffer for reverse transcription (RT-Puffer für die reverse Transkription)	180
dNTP Mix (dNTP-Gemisch)*	72
Random Primer (Random-Primer) †	190
RNase Inhibitor (RNase-Inhibitor)	18
DTT ‡	45

* Desoxynukleotide je 10 mM

† Random-Nonamer-Oligonukleotid

‡ Dithiothreitol, 0,1 M

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Verbrauchsmaterialien

- Nukleasefreies Wasser (PCR-Qualität)
- Nukleasefreie 0,5-ml-oder 0,2-ml-Röhrchen

Reagenzien

- Nukleasefreies Wasser (PCR-Qualität)

Hinweis: Bitte sehen Sie im Handbuch der QIAGEN Produkte nach, für die das *ipsogen* RT Kit als Zubehörkit aufgeführt ist, um zu überprüfen, ob eine bestimmte Wasserreferenz verwendet werden muss.

Ausstattung/Geräte

- Einstellbare Pipetten* für die RT-PCR (1–10 µl, 10–100 µl, 20–200 µl, 100–1.000 µl)
- **Hinweis:** Es wird der Gebrauch von mindestens zwei Sätzen Pipetten empfohlen: ein Satz für die Vorbereitung und Verteilung der RT-Reaktionsgemische und einer für die RNA-Handhabung.
- Tischzentrifuge* mit Rotor für 0,2-ml-/0,5-ml-Reaktionsröhrchen (geeignet für 8.000 g oder 10.000 U/min)
- Spektralphotometer*
- Thermocycler*, aufgeführt in der Gebrauchsanweisung für das *in-vitro*-diagnostische Kombinationsprodukt von QIAGEN, für welches das *ipsogen* RT Kit als Zubehörkit aufgeführt ist

* Stellen Sie vor dem Gebrauch sicher, dass die Geräte gemäß den Empfehlungen des Herstellers geprüft und kalibriert wurden.

- Heizblock
- Eis oder Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten

Sicherheitshinweise

Beim Arbeiten mit Chemikalien immer einen geeigneten Laborkittel, Einweghandschuhe und Schutzbrille tragen. Weitere Informationen sind den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS) zu entnehmen. In unserer Online-Sammlung der Sicherheitsdatenblätter unter www.qiagen.com/safety finden Sie zu jedem QIAGEN Kit und jeder Kit-Komponente das jeweilige SDB als praktische und kompakte PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.

Sicherheitshinweise zu allen anderen „erforderlichen, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltenen Materialien“ finden Sie im jeweiligen SDB für Reagenzien und in den entsprechenden Benutzerhandbüchern der Geräte.

Proben- und Assayabfälle sind gemäß den örtlichen und Sicherheitsbestimmungen zu entsorgen.

Für die Komponenten des *ipsogen* RT Kits gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise:

DTT

Enthält: (R*, R*)-1,4-Dimercaptobutan-2,3-diol. Warnung! Verursacht leichte Hautreizungen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.

Notfallinformationen

CHEMTREC

Außerhalb der USA und Kanadas +1 703-527-3887

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagementsystem von QIAGEN wird jede Charge des *ipsogen* RT Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Transport und Lagerung

Das *ipsogen* RT Kit wird auf Trockeneis ausgeliefert und muss unmittelbar nach dem Empfang lichtgeschützt bei -30 °C bis -15 °C in einem Gefrierschrank mit konstanter Temperatur gelagert werden.

Bei Lagerung unter den angegebenen Lagerungsbedingungen ist das *ipsogen* RT Kit bis zum Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatums stabil.

Nach dem Öffnen können die Reagenzien bis zu dem angegebenen Verfallsdatum bei -30 bis -15 °C in der Originalverpackung gelagert werden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren ist zu vermeiden. 7 Einfrier-/Auftauzyklen dürfen nicht überschritten werden.

Komponenten, die unter anderen als den auf den Etiketten angegebenen Bedingungen gelagert werden, sind möglicherweise nicht voll funktionsfähig und können die Assayergebnisse beeinträchtigen.

Lagerung und Handhabung der Proben

Aufgereinigte RNA kann nach der Isolierung bei -30 bis -15 °C oder bei niedrigeren Temperaturen (-90 bis -65 °C) aufbewahrt werden, wenn eine Langzeitlagerung erforderlich ist.

Protokoll: Reverse Transkription

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Vergewissern Sie sich, dass die zu verwendenden Reagenzien nicht abgelaufen sind und gemäß den Empfehlungen des Herstellers transportiert und gelagert wurden.
- Die RT-Negativkontrolle (RT-Neg) wird während des Schritts der reversen Transkription mit nukleasefreiem Wasser in PCR-Qualität angesetzt.

Hinweis: Bitte sehen Sie im Handbuch der QIAGEN Produkte nach, für die das *ipsogen* RT Kit als Zubehörkit aufgeführt ist, um zu überprüfen, ob für RT-Neg eine bestimmte Wasserreferenz verwendet werden muss.

- Die benötigte Ausgabemenge beträgt 1 µg RNA pro Probe.

Vorbereitende Schritte

- Reinigen Sie den Arbeitsbereich, der für die Herstellung des Gemisches für die reverse Transkription (RT) vorgesehen ist, um sicherzustellen, dass es nicht zur Kontamination durch Template oder Nuklease kommt.
- Tauen Sie alle benötigten Komponenten auf und stellen Sie sie auf Eis oder in einen Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten. Ausgenommen hiervon sind die reverse Transkriptase und der RNase-Inhibitor, die bei Nichtgebrauch im Gefrierschrank aufbewahrt werden müssen.

Hinweis: Begrenzen Sie die Auftauzeit auf 30 Minuten, um eine Zersetzung des Materials zu verhindern.

- Mischen Sie vorsichtig, indem Sie die Röhrchen mehrmals umschwenken (nicht vortexieren) und zentrifugieren Sie kurz, damit sich die Flüssigkeit am Boden des Röhrchens sammelt.
- Stellen Sie die RNA-Proben mit nukleasefreiem Wasser auf 0,1 µg/µl ein.

Hinweis: Bitte sehen Sie im Handbuch der QIAGEN Produkte nach, für die das *ipsogen* RT Kit als Zubehörkit aufgeführt ist, um zu überprüfen, ob für die Normalisierung der RNA-Proben und ggf. für die Protokolle zur Quantifizierung, Qualifizierung und Normalisierung der RNA eine bestimmte Wasserreferenz verwendet werden muss.

Verfahren

1. Inkubieren Sie 1 µg jeder zu testenden RNA-Probe (10 µl) 5 Minuten lang bei 65 °C in einem Heizblock.
2. Kühlen Sie die Probe bei 4 °C in einem Heizblock und bewahren Sie sie bei 2 bis 8 °C oder auf Eis (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf.
3. Zentrifugieren Sie kurz, damit sich die Flüssigkeit am Boden des Röhrchens sammelt. Bewahren Sie die Röhrchen auf Eis oder (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf.
4. Bereiten Sie den Prämix für die reverse Transkription auf Eis oder in einem Kühler für Mikroröhrchen vor und bewahren Sie ihn auf Eis (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf. Siehe Tabelle 1.

Tabelle 1. Vorbereitung des Prämixes für die reverse Transkription*

Prämix-Komponente	Volumen pro Probe (µl)	Endkonzentration
5x Puffer für die reverse Transkriptase	5,0	1x
dNTP (jeweils 10 mM)	2,0	0,8 mM
Random-Nonamer (100 µM)	5,25	21 µM
RNase-Inhibitor (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Reverse Transkriptase (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	–
RT-Prämix-Volumen pro Probe	15	

* Bereiten Sie das Prämix-Volumen für $n+1$ Reaktionen vor, wobei n die Anzahl der zu testenden RNA-Proben ist.

5. Mischen Sie vorsichtig durch Auf- und Abpipettieren (nicht vortexieren), zentrifugieren Sie kurz und geben Sie 15 µl Prämix zu jeder RNA-Probe und zur Wasserkontrolle (RT-Neg) zu. Bewahren Sie die Röhrchen auf Eis oder (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf.
6. Mischen Sie jedes Röhrchen vorsichtig durch mehrmaliges Auf- und Abpipettieren (nicht vortexieren) und zentrifugieren Sie kurz.
7. Führen Sie in einem Thermocycler das Programm für die reverse Transkription (siehe Tabelle 2) aus.

Tabelle 2. Programm für die reverse Transkription

Schritt	Zeit
Reverse Transkription 1	25 °C für
Reverse Transkription 2	50 °C für 60 min
Inaktivierung	85 °C für 5 min
Kühlung	4 °C für 5 min

8. Zentrifugieren Sie kurz, damit sich die cDNA am Boden des Röhrchens sammelt.
9. Bewahren Sie die Röhrchen bei 2 bis 8 °C oder auf Eis (oder in einem Kühler für Mikroröhrchen und PCR-Platten) auf und führen Sie die qPCR durch.

Symbole

Die folgenden Symbole werden in der Gebrauchsanweisung oder auf der Verpackung und Kennzeichnung verwendet:

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Enthält ausreichend Reagenzien für <N> Reaktionen
	Verwendbar bis
	Dieses Produkt erfüllt die Anforderungen der europäischen Verordnung 2017/746 über In-vitro-Diagnostika.
IVD	In-vitro-Diagnostikum
REF	Katalognummer
LOT	Chargenbezeichnung
MAT	Materialnummer (Kennzeichnung von Komponenten)
GTIN	Internationale Artikelnummer (Global Trade Item Number)
UDI	Eindeutige Produktkennung (Unique Device Identifier)
CONT	Enthält

Symbol	Bedeutung des Symbols
	Komponente
	Nummer
Rn	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer
	Temperaturgrenzwerte
	Hersteller
	Beachten Sie die Gebrauchsanweisung, die Sie unter resources.qiagen.com/679823 herunterladen können
	Vorsicht, Begleitdokumente beachten

Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>ipsogen®</i> RT Kit	Für 24 Proben: Reverse Transkriptase, 5x RT-Puffer, dNTP-Gemisch, Random-Primer, RNase-Inhibitor, DTT	679823

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Haftungsausschlüsse finden Sie in der Gebrauchsanweisung für das jeweilige QIAGEN Kit. Gebrauchsanweisungen für QIAGEN Kits sind unter www.qiagen.com verfügbar oder können beim Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem örtlichen Händler angefordert werden.

Revisionsverlauf des Dokuments

Revision	Beschreibung
R1, August 2022	Erstveröffentlichung
R2, Juli 2024	Klarstellung im Abschnitt „Verwendungszweck“ hinzugefügt, dass es sich beim <i>ipsogen</i> RT Kit nicht um ein automatisiertes Produkt handelt
	Abschnitt „Sicherheitshinweise“ aktualisiert, um die DTT-Warnung zu aktualisieren und CHEMTREC-Notfallinformationen hinzuzufügen

Eingeschränkte Lizenzvereinbarung für das ipsogen® RT Kit

Mit der Verwendung dieses Produkts erkennt der Käufer oder Anwender des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt und dieser Gebrauchsanweisung bereitgestellten Protokollen und nur mit den im Panel enthaltenen Komponenten verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen ihrer geistigen Eigentumsrechte keine Lizenz zur Verwendung oder Kombination der Komponenten dieses Panels mit anderen Komponenten, die nicht in diesem Panel enthalten sind, mit Ausnahme der Anwendungen, die in den mit dem Produkt bereitgestellten Protokollen, dieser Gebrauchsanweisung sowie zusätzlich, unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschrieben werden. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von QIAGEN Anwendern für andere QIAGEN Anwender zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von QIAGEN nicht eingehend geprüft oder optimiert. QIAGEN übernimmt für diese Protokolle keine Garantie und garantiert auch nicht, dass sie keine Rechte Dritter verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieses Panel und/oder die mit diesem Panel durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieses Panel und die zugehörigen Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt mit Ausnahme der ausdrücklich angegebenen Lizzenzen spezifisch alle anderen ausdrücklichen oder konkludenten Lizzenzen ab.
5. Käufer und Anwender des Panels stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen oder solche erleichtern könnten. QIAGEN ist berechtigt, die Untersagungen in dieser begrenzten Lizenzvereinbarung vor einem beliebigen Gericht einzuklagen und wird alle seine Untersuchungs- und Gerichtskosten, einschließlich der Anwaltsgebühren, in jedwedem Verfahren zur Durchsetzung dieser begrenzten Lizenzvereinbarung oder seiner geistigen Eigentumsrechte an dem Panel und/oder seinen Komponenten zurückfordern.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen siehe www.qiagen.com.

Marken: QIAGEN®, Sample to Insight®, ipsogen®. Eingetragene Namen, Marken usw., die in diesem Dokument verwendet werden, gelten auch ohne ausdrückliche Kennzeichnung als gesetzlich geschützt.

07/2024 HB-2939-002 1133762 ©2024 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Bestellungen www.qiagen.com/shop | Technischer Support support.qiagen.com | Website www.qiagen.com