



Agosto de 2022

ipsogen[®] RT Kit

Instruções de utilização (Folheto do produto)

Versão 2

IVD



REF

679823



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden

R1 MAT

1128912PT

Utilização prevista

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

O *ipsogen* RT Kit contém todos os reagentes, exceto o modelo, necessários para realizar uma reação de transcrição reversa em ARN extraído de amostras de origem humana. O *ipsogen* RT Kit destina-se a ser utilizado em conjunto com produtos QIAGEN de diagnóstico *in vitro* para os quais o *ipsogen* RT Kit está indicado como um kit complementar.

O *ipsogen* RT Kit destina-se a ser utilizado apenas por profissionais com formação específica, especializados em técnicas de biologia molecular e familiarizados com a tecnologia do dispositivo. O procedimento do dispositivo destina-se a ser implementado num ambiente laboratorial de biologia molecular.

O *ipsogen* RT Kit destina-se a ser utilizado em diagnóstico *in vitro*.

Descrição

O *ipsogen* RT Kit permite a utilização de transcrição reversa de ARN total em testes de diagnóstico molecular: a atividade de polimerase de ADN dependente do ARN (transcrição reversa) transcreve ADNc de um modelo de ARN.

Conteúdo do kit

Reverse Transcriptase (Transcriptase reversa)	36 µl
5x RT Buffer for reverse transcription (5x tampão de TR para transcrição reversa)	180 µl
dNTP Mix (Mistura de dNTP) *	72 µl
Random Primer (Primer aleatório) †	190 µl
RNase Inhibitor (Inibidor de RNase)	18 µl
DTT ‡	45 µl

* Desoxirribonucleotídeos, 10 mM cada

† Oligonucleotídeo nonâmero aleatório

‡ Ditioneitol, 0,1 M

Materiais necessários, mas não fornecidos

Consumíveis

- Pontas de pipetas de PCR, estéreis, isentas de nuclease e resistentes a aerossóis, com filtros hidrofóbicos
- Tubos isentos de nuclease de 0,5 ml ou 0,2 ml

Reagentes

- Água isenta de nuclease própria para PCR.

Nota: Consulte o manual de produtos QIAGEN para os quais o *ipsogen* RT Kit está indicado como kit complementar, para verificar se deve ser utilizada uma referência de água específica.

Equipamento

- Pipetas ajustáveis* dedicadas para RT-PCR (1–10 µl; 10–100 µl; 20–200 µl; 100–1000 µl)

Nota: São recomendados, no mínimo, dois conjuntos de pipetas: um para a preparação e distribuição de misturas de reação de RT e outro para manusear ARN.

- Centrífuga de bancada* com rotor para tubos de reação de 0,2 ml/0,5 ml (capaz de atingir 8000 × g ou 10 000 rpm)
- Espectrofotômetro*
- Termociclador*
- Bloco de aquecimento
- Gelo ou refrigerador de microtubos e placas de PCR

* Antes de utilizar, certifique-se de que os instrumentos foram verificados e calibrados de acordo com as recomendações do fabricante.

Transporte e armazenamento

O *ipsogen* RT Kit é expedido em gelo seco e deve ser conservado entre $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ imediatamente após a receção num congelador de temperatura constante.

Quando armazenado nas condições de armazenamento especificadas, o *ipsogen* RT Kit permanece estável até à data de validade indicada no rótulo da caixa.

Uma vez abertos, os reagentes podem ser armazenados nas respetivas embalagens originais entre $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ até à data de validade indicada. Deve ser evitado o descongelamento/congelamento repetido. Não exceda um máximo de 7 ciclos de congelamento/descongelamento.

Os componentes conservados noutras condições que não as indicadas nos rótulos podem não apresentar um desempenho apropriado e afetar negativamente os resultados do ensaio.

Armazenamento e manuseamento de espécimes

Após o isolamento, o ARN purificado pode ser armazenado a uma temperatura entre $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ou inferior ($-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-65\text{ }^{\circ}\text{C}$), caso seja necessário um armazenamento a longo prazo.

Protocolo: Transcrição reversa

Aspetos importantes antes de começar

- Certifique-se de que os reagentes a serem utilizados não estão expirados e que foram transportados e armazenados de acordo com as recomendações do fabricante.
- O controlo negativo de TR (RT-Neg) é gerado durante o passo de transcrição reversa utilizando água isenta de nuclease própria para PCR.

Nota: Consulte o manual de produtos QIAGEN para os quais o *ipsogen* RT Kit está indicado como um kit complementar, para verificar se deve ser utilizada uma referência de água específica para o RT-Neg.

- A entrada necessária é de 1 µg de ARN por amostra.

Passos a seguir antes de começar

- Limpe a área da bancada dedicada à preparação da mistura de transcrição reversa (TR) para assegurar que não há contaminação de modelos ou de nuclease.
- Descongele todos os componentes necessários, exceto a transcriptase reversa e o inibidor de RNase, que devem ser mantidos no congelador quando não estão a ser utilizados, e coloque-os em gelo ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR.

Nota: Não exceda 30 minutos no passo de descongelamento para evitar qualquer degradação dos materiais.

- Misture cuidadosamente invertendo os tubos várias vezes (não agite em vórtex) e centrifugue brevemente para recolher o líquido no fundo do tubo.
- Ajuste a concentração das amostras de ARN para 0,1 µg/µl com água isenta de nuclease.

Nota: Consulte o manual de produtos QIAGEN para os quais o *ipsogen* RT Kit está indicado como kit complementar, para verificar se deve ser utilizada uma referência de água específica para a normalização de amostras de ARN, assim como os protocolos de quantificação, qualificação e normalização de ARN, quando aplicável.

Procedimento

1. Faça a incubação de 1 µg de cada amostra de ARN a testar (10 µl) durante 5 minutos a 65 °C utilizando um bloco de aquecimento.
2. Arrefeça a amostra a 4 °C num bloco de aquecimento e mantenha entre 2 °C e 8 °C ou em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR) até utilizar.
3. Centrifugue brevemente para recolher o líquido no fundo do tubo. Mantenha em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR).
4. Prepare a pré-mistura de transcrição reversa em gelo ou num refrigerador de microtubos e mantenha em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR) (consulte a Tabela 1).

Tabela 1. Preparação da pré-mistura da transcrição reversa*

Componente da pré-mistura	Volume por amostra (µl)	Concentração final
5x tampão para transcriptase reversa	5,0	1x
dNTP (10 mM cada)	2,0	0,8 mM
Nonâmero aleatório (100 µM)	5,25	21 µM
Inibidor de RNase (40 U/µl)	0,5	0,8 U/µl
Transcriptase reversa (200 U/µl)	1,0	8 U/µl
DTT	1,25	-
Volume de pré-mistura de TR por amostra	15	

* Prepare volume de pré-mistura para n + 1 reações, em que n é o número de amostras de ARN a serem testadas

5. Misture cuidadosamente, pipetando para cima e para baixo (não agite em vortéx), centrifugue brevemente e adicione 15 µl da pré-mistura a cada amostra de ARN e ao controlo de água (RT-Neg). Mantenha em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR).
6. Misture cuidadosamente cada tubo, pipetando para cima e para baixo várias vezes (não agite em vortéx) e centrifugue brevemente.
7. Execute o programa de transcrição reversa (consulte a Tabela 2) utilizando um termociclador.

Tabela 2. Programa de transcrição reversa

Transcrição reversa 1	25 °C durante 10 min
Transcrição reversa 2	50 °C durante 60 min
Inativação	85 °C durante 5 min
Arrefecimento	4 °C durante 5 min

- Centrifugue brevemente para recolher o ADNc no fundo do tubo.
- Mantenha entre 2 °C e 8 °C ou em gelo (ou num refrigerador de microtubos e placas de PCR) e prossiga para a qPCR.

Símbolos



Este produto cumpre os requisitos do Regulamento Europeu 2017/746 para dispositivos médicos de diagnóstico in vitro.



Dispositivo médico de diagnóstico in vitro



Número de catálogo



Número do material



Número de lote



Número global de item comercial



Identificação única do dispositivo



Contém



Componente



Número

Rn

R refere-se à revisão do Folheto do produto e n ao número da revisão



A ser utilizado até



Limites de temperatura



Fabricante legal



Consultar as instruções de utilização transferíveis de resources.qiagen.com/679823



<N>

Contém reagentes suficientes para <N> reações

Informações de segurança

Ao trabalhar com substâncias químicas, utilize sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de proteção. Para obter mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (Safety Data Sheet, SDS) adequadas. Estas estão disponíveis online em formato PDF prático e compacto no endereço www.qiagen.com/safety, onde é possível encontrar, visualizar e imprimir a ficha de dados de segurança (Safety Data Sheet, SDS) de cada kit QIAGEN® e componente de kit.

Para obter informações de segurança relativas a todos os outros "Materiais necessários, mas não fornecidos", consulte a respetiva ficha de dados de segurança (Safety Data Sheet, SDS) – para reagentes – e os manuais do utilizador dos instrumentos relevantes.

As seguintes advertências de perigo e precaução aplicam-se a componentes do *ipsogen* RT Kit:

DTT

Aviso! Provoca ligeira irritação nos olhos, na pele e nas membranas mucosas. Se ocorrer irritação, procure assistência/aconselhamento médico.

Elimine os resíduos de amostras e de ensaios de acordo com os regulamentos de segurança locais.

Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de gestão da qualidade certificado pela norma ISO da QIAGEN, todos os lotes de *ipsogen* RT Kit são testados quanto a especificações predeterminadas para garantir uma qualidade constante do produto.

Informações de encomenda

Produto	Conteúdo	N.º de cat.
<i>ipsogen</i> [®] RT Kit	Para 24 amostras: Transcriptase reversa, 5x tampão de TR, mistura de dNTP, Primer aleatório, Inibidor de RNase, DTT	679823

Para obter informações de licenciamento atualizadas e renúncias de responsabilidade específicas do produto, consulte o respetivo manual do utilizador ou manual do kit da QIAGEN. Os manuais do utilizador e os manuais dos kits QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados aos Serviços de Assistência da QIAGEN ou ao seu distribuidor local.

Histórico de revisões do documento

Data	Alterações
08/2022	Revisão inicial

Marcas comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, ipsogen® (QIAGEN Group). Os nomes registados, as marcas comerciais etc. utilizados neste documento, mesmo quando não assinalados especificamente como tal, devem ser considerados como protegidos por lei.

1128912PT 08/2022 HB-2939-001 © 2022 QIAGEN, todos os direitos reservados.

Encomendas www.qiagen.com/shop | Assistência técnica support.qiagen.com | Site www.qiagen.com