

产品组分

组分名称	组分编号	规格		规格	储存条件
		100	RXN	1000	RXN
ABQubit concentrate solution 3	RM30234	100	μL	1	mL
ABQubit 1X Buffer 3	RM30235	20	mL	200	mL
ABQubit RNA standard 1	RM30236	100	μL	1	mL
ABQubit RNA standard 2	RM30237	100	μL	4*250	μL

产品说明

ABQubit RNA HS Assay Kit 是一种简便快速、灵敏、准确度高的 RNA 荧光定量检测试剂盒。本试剂盒包含荧光检测试剂、RNA 标准品和缓冲液, 对 RNA 有高度选择性, 在 5-100 ng 之间有良好的线性关系, 相比于传统的紫外检测 (A260) 方法, 可更精确地对 RNA 进行定量, 免除其它物质的干扰, 如蛋白质、盐类物质、洗涤剂等均具有良好的耐受性, 提高实验的准确性。本试剂盒操作简单, 可使用荧光酶标仪或 Qubit® 荧光定量仪进行检测。

保存温度

请按照推荐的储存温度保存, 避免反复冻融。

注意事项

1. 检测试剂和 DNA 标准品, 每次使用前需摇匀。
2. 荧光染料均存在淬灭问题, 请尽量注意避光, 以减缓荧光淬灭。请务必在规定时间内完成所有样品的检测, 避免荧光淬灭导致的结果偏差。
3. 每次使用 Qubit® 荧光仪进行检测时, 必须用配套试剂的标准品重新标定, 请使用校准后的移液器, 以保证结果的准确性。
4. 如待测样品浓度高于 100 ng/μL, 请适当稀释后再进行检测。
5. 使用 Qubit® 荧光仪进行检测时, 需使用 0.5 mL 薄壁透明的分析管。

操作说明

使用 Qubit® 荧光仪进行 RNA 定量检测分析

1. 在使用前, 将试剂盒中的各组分放至室温。检查 ABQubit 1X Buffer 3 组份是否有沉淀, 若有沉淀物, 可将该试剂置于 37 °C 水浴锅中温育, 并轻柔混匀直到沉淀物完全溶解。使用前将每个试剂都混匀。
2. 制备检测工作液。取试剂盒中的荧光试剂 ABQubit concentrate solution 3, 按照 1:199 的比例用 ABQubit 1X Buffer 3 进行稀释, 配制检测工作液, 现配现用。(例如检测 5 个 RNA 样品, 且每个样品设置一个复孔), 同时需要 2 标准品, 需配制 12 个样品工作液 (12 μL ABQubit concentrate solution 3+2388 μL ABQubit 1X Buffer 3, 涡旋混匀, 制备成检测工作液)。
3. 向分析管中加入新鲜配制的检测工作液, 标准品每管 190 μL, 待测样品每管加入 180~199 μL (根据加入待测样本量而定, 总体积 200 μL)。
注意: 仅可使用 0.5 mL PCR 的薄壁分析管。
4. 向分析管中分别加入 10 μL ABQubit RNA standard 1 和 10 μL ABQubit RNA standard 2, 以及加入一定体积 (1-20 μL) 的待测 RNA 样本, 使管中总体积达到 200 μL, 涡旋振荡 2-3 秒使溶液充分混匀。标记 RNA 标准品和待测样品的分析管。
5. 将分析管置于室温环境下避光静置孵育 2 分钟。
6. 按照 Qubit® 荧光仪的操作说明, 选择 RNA High Sensitivity 检测程序测定荧光信号值。

使用荧光酶标仪进行 RNA 定量检测分析

1. 在使用前, 将试剂盒中各组分平衡至室温。
2. 制备检测工作液。取试剂盒中荧光试剂 ABQubit concentrate solution 3, 按照 1:199 的比例用 ABQubit 1X Buffer 3 进行稀释, 配制检测工作液, 现配先用。(如检测 5 个 RNA 样品, 且每个样品设置一个复孔, 同时需要 5 个标准品, 可由标准品 ABQubit RNA standard 2 系列稀释, 稀释液建议用 ABQubit 1X Buffer 3, 浓度范围 0 ng/μL~10 ng/μL), 需配制 15 个样品工作液 (15 μL ABQubit concentrate

solution 3+2985 μ L ABQubit 1X Buffer 3, 涡旋混匀, 制备成检测工作液)。

3. 向 96 孔酶标板中加入新鲜配制的检测工作液, 标准品每孔 190 μ L, 待测样品每孔可添加 180~199 μ L 工作液。

注: 推荐使用黑色酶标板, 可有效降低反应孔之间的荧光干扰。

4. 取试剂盒中的 ABQubit RNA standard 2 标准品, 按浓度梯度进行稀释, 制成一系列稀释的 RNA 标准品。
5. 向 96 孔酶标板中加入梯度浓度的 RNA 标准品以及待测 RNA 样品, 用移液枪轻轻吹打混匀。
6. 将酶标板置于室温环境下避光孵育 2 分钟, 使用荧光酶标仪检测荧光信号值, 选择合适的检测波段: 激发波长 (Ex) 设置在 620 nm 左右, 发射波长 (Em) 设置为 660 nm 左右。
7. 测得的梯度浓度 RNA 标准品的荧光信号值分别对应其浓度, 绘制标准曲线; 将测得的未知浓度 RNA 样品的荧光信号值代入标准曲线中, 可计算 RNA 样品浓度。