ABQubit RNA HS Assay Kit

产品目录号：RK30143

产品组分

组分名称	组分编号	规格 100 RXN	规格 1000 RXN	储存条件
ABQubit concentrate solution 3	RM30234	100 μL	1 mL	-25~-15℃
ABQubit 1X Buffer 3	RM30235	20 mL	200 mL	-25~-15℃
ABQubit RNA standard 1	RM30236	100 μL	1 mL	-25~-15℃
ABQubit RNA standard 2	RM30237	100 μL	4*250 μL	-25~-15℃

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

-25~-15℃，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，将试剂盒中的各组份放至室温。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，配制成检测工作液，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，配制成检测工作液,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 μL 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 μL，待测样品每孔可添加 180~199 μL 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。