

Qubit-DNA、RNA 总浓度测定

dsDNA BR Assay Kits 各试剂加样量:

	Buffer	标准 1	标准 2	样品	试剂 (荧光染色)
总量 (溶液体积)	50 或 250ml	1 或 5ml	1 或 5ml	待测	250 μ l 或 1.25ml
原始浓度	未知	0 ng/ μ L	100 ng/ μ L	待测	200 \times
测定时要求浓度	未知	0 ng/ μ L	5000ng/ml	0~5000 ng/ml	1 \times
200 μ l 测定体系各 试剂加样量 (μ l)	189 μ L	10 μ L	***	***	1 μ L
	189 μ L	***	10 μ L	***	1 μ L
	(199-X) μ L	***	***	X μ L	1 μ L

备注一 Buffer: Qubit™ dsDNA BR buffer (Component B); 标准1: Qubit™ dsDNA BR standard #1 (Component C), 溶于TE Buffer; 标准2: Qubit™ dsDNA BR standard #2 (Component D), 溶于TE Buffer; 样品: 待测的DNA样品; 试剂: Qubit™ dsDNA BR reagent (Component A) (为荧光染色试剂, 使用及存放时注意避光)。试剂存放: 4 $^{\circ}$ C, 干燥; 保质期: 6个月; 样品加量范围: 1~20 μ L。

dsDNA HS Assay Kits 各试剂加样量:

	Buffer	标准 1	标准 2	样品	试剂 (荧光染色)
总量 (溶液体积)	50 或 250ml	1 或 5ml	1 或 5ml	待测	250 μ l 或 1.25ml
原始浓度	未知	0 ng/ μ L	10 ng/ μ L	待测	200 \times
测定时要求浓度	未知	0 ng/ μ L	500 ng/ml	0~500 ng/ml	1 \times
200 μ l 测定体系各 试剂加样量 (μ l)	189 μ L	10 μ L	***	***	1 μ L
	189 μ L	***	10 μ L	***	1 μ L
	(199-X) μ L	***	***	X μ L	1 μ L

备注一 Buffer: Qubit™ dsDNA HS buffer (Component B); 标准1: Qubit™ dsDNA HS standard #1 (Component C), 溶于TE Buffer; 标准2: Qubit™ dsDNA HS standard #2 (Component D), 溶于TE Buffer; 样品: 待测的DNA样品; 试剂: Qubit™ dsDNA HS reagent (Component A) (为荧光染色试剂, 使用及存放时注意避光)。试剂存放: 4 $^{\circ}$ C, 干燥; 保质期: 6个月; 样品加量范围: 1~20 μ L。

Qubit™ ssDNA Assay Kits各试剂加样量:

	Buffer	标准 1	标准 2	样品	试剂 (荧光染色)
总量 (溶液体积)	50 ml	1 ml	1 ml	待测	250μl
原始浓度	未知	0 ng/μL	20 ng/μL	待测	200×
测定时要求浓度	未知	0 ng/μL	1000 ng/ml	0~1000 ng/ml	1×
200μl 测定体系各 试剂加样量 (μl)	189μL	10μL	***	***	1μL
	189μL	***	10μL	***	1μL
	(199-X) μL	***	***	X μL	1μL

备注一 Buffer: Qubit™ ssDNA HS buffer (Component B); 标准1: Qubit™ ssDNA HS standard #1 (Component C), 溶于TE Buffer; 标准2: Qubit™ ssDNA HS standard #2 (Component D), 溶于TE Buffer; 样品: 待测的DNA样品; 试剂: Qubit™ ssDNA HS reagent (Component A) (为荧光染色试剂, 使用及存放时注意避光)。试剂存放: 4℃, 干燥; 保质期: 6个月; 样品加量范围: 1~20μL。

Qubit RNA Assay Kits 各试剂加样量

	Buffer	标准 1	标准 2	样品	试剂 (荧光染色)
总量 (溶液体积)	50 /250ml	1/5 ml	1/5 ml	待测	250μl/1.25ml
原始浓度	未知	0 ng/μL	10 ng/μL	待测	200×
测定时要求浓度	未知	0 ng/μL	500 ng/ml	0~500 ng/ml	1×
200μl 测定体系各 试剂加样量 (μl)	189μL	10μL	***	***	1μL
	189μL	***	10μL	***	1μL
	(199-X) μL	***	***	X μL	1μL

备注一 Buffer: Qubit™ RNA buffer (Component B); 标准1: Qubit™ RNA standard #1 (Component C), 溶于TE Buffer; 标准2: Qubit™ RNA standard #2 (Component D), 溶于TE Buffer; 样品: 待测的DNA样品; 试剂: Qubit™ RNA reagent (Component A) (为荧光染色试剂, 使用及存放时注意避光)。试剂存放: 4℃, 干燥; 保质期: 6个月; 样品加量范围: 1~20μL。

Qubit RNA BR Assay Kits 各试剂加样量

	Buffer	标准 1	标准 2	样品	试剂（荧光染色）
总量（溶液体积）	50/250 ml	1/5 ml	1/5 ml	待测	250 μ l/1.25ml
原始浓度	未知	0 ng/ μ L	100 ng/ μ L	待测	200 \times
测定时要求浓度	未知	0 ng/ μ L	5000 ng/ml	0~5000 ng/ml	1 \times
200 μ l 测定体系各 试剂加样量（ μ l）	189 μ L	10 μ L	***	***	1 μ L
	189 μ L	***	10 μ L	***	1 μ L
	(199-X) μ L	***	***	X μ L	1 μ L

备注一 Buffer: Qubit™ RNA buffer (Component B); 标准1: Qubit™ RNA standard #1 (Component C), 溶于TE Buffer; 标准2: Qubit™ RNA standard #2 (Component D), 溶于TE Buffer; 样品: 待测的DNA样品; 试剂: Qubit™ RNA reagent (Component A) (为荧光染色试剂, 使用及存放时注意避光)。试剂存放: 4℃, 干燥; 保质期: 6个月; 样品加量范围: 1~20 μ L。

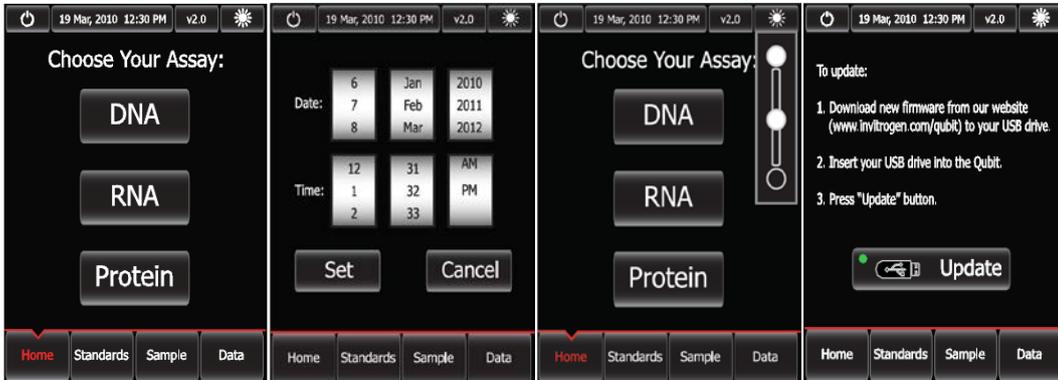
Qubit™ Protein Assay Kits 各试剂加样量

	Buffer	标准 1	标准 2	标准 3	样品	染色试剂
总量（溶液体积）	60/300 ml	1/5 ml	1/5 ml	1/5 ml	待测	300 μ l/1.2ml
原始浓度	未知	0 ng/ μ L	200 ng/ μ L	400 ng/ μ L	待测	200 \times
测定时要求浓度	未知	0 ng/ μ L	10 ng/ μ L	20 ng/ μ L	0~20 ng/ μ L	1 \times
200 μ l 测定体系各 试剂加样量（ μ l）	189 μ L	10 μ L	***		***	1 μ L
	189 μ L	***	10 μ L		***	1 μ L
	189 μ L	***	***	10 μ L	***	1 μ L
	(199-X) μ L	***	***		X μ L	1 μ L

备注一 Buffer: Qubit™ protein buffer (Component B); 标准1: Qubit™ protein standard #1 (Component C), 溶于TE Buffer; 标准2: Qubit™ protein standard #2 (Component D), 溶于TE Buffer; 标准3: Qubit™ protein standard #2 (Component D), 溶于TE Buffer(Component E); 样品: 待测的DNA样品; 试剂: Qubit™ protein reagent (Component A) (为荧光染色试剂, 使用及存放时注意避光)。试剂存放: 4℃, 干燥; 保质期: 6个月; 样品加量范围: 1~20 μ L。

仪器操作步骤:

1. 接通 Qubit® 2.0 Fluorometer 仪器电源，打开仪器电源开关，仪器屏幕显示以下界面：



点击 Date/Time 菜单，设置日期和时间；点击 Brightness 菜单，调整屏幕亮度；点击 Version 菜单，对仪器内置软件升级（网上下载升级程序至 U 盘 www.invitrogen.com/qubit，点击 Update 即可开始升级）。

2. 返回仪器屏幕首页，选择需要测定的项目 (DNA、RNA、Protein)，点击 Standard 按钮。
3. 若利用以前校正值，则不需要进行校正，点击 No 按钮，直接进行下一步样品浓度测定；仪器首次使用或较长时间没有使用，点击 Yes 按钮，利用标准品进行校正，DNA、RNA 设置两个标准浓度梯度，Protein 设置 3 个浓度梯度（见上表）。

4. 标准品加入 0.5ml 离心管中（Qubit 仪器专用的），各试剂所加的量见上表。涡旋 2~3 秒，短暂低速离心，室温静止放置 2（DNA、RNA）或 15 分钟（蛋白质）。顺序测定标准样品，



先 Insert Standard1（低浓度），点击 Read 按钮；然后测定 Insert Standard 2 或 3（高浓度），点击 Read 按钮。

5. 校正完成，出现以下新的标准图，点击 No 图标，开始测定样品浓度。

6. 点击 **Sample** 图标，将加好样的离心管放置在测定孔中，盖好盖子，点击 **Read** 图标，测定样品 DNA、RNA 或蛋白质浓度。若测定样品的浓度较大，大于标准样品的最大浓度，需将样品稀释一定倍数之后重新测定。



7. 样品原始浓度计算：

Concentration of your sample = QF value × (200/X) × 样品稀释倍数

QF value = the value given by the Qubit 2.0 Fluorometer (仪器读数值)

X = the number of microliters of sample you added to the assay tube (加样体积)