



iQuant™ microRNA Assay Kit

产品货号	包装规格
N023	200 次
N024	1000 次

储存条件：2-8℃，避光保存。

激发/发射波长：500/530 nm，结合到 microRNA 中。

产品说明书

安迪福诺生物科技（武汉）有限公司

ABP Biosciences Inc

武汉市东湖新技术开发区高新大道666 号

光谷生物城生物创新园 C2-4 栋 5 楼

电话： 400-0667-718

邮箱：sales@abpbio.cn

网址：www.abpbio.com (英文)

www.abpbio.com.cn (中文)

iQuant™ microRNA Assay Kit (0.5 – 150 ng)

产品货号: N023, N024

试剂盒组份:

iQuant™ microRNA Assay Kit (货号 N023)

组份	试剂	体积	浓度	储存条件
组份 A	iQuant™ microRNA Reagent	200 µl	200× in DMSO	2-8℃， 避光保存。
组份 B	iQuant™ microRNA Buffer	50 ml	1×	
组份 C	microRNA Standard #1	200 µl	0 ng/µl in TE buffer	
组份 D	microRNA Standard #2	200 µl	10 ng/µl in TE buffer	

iQuant™ microRNA Assay Kit (货号 N024)

组份	试剂	体积	浓度	储存条件
组份 A	iQuant™ microRNA Reagent	1 ml	200× in DMSO	2-8℃， 避光保存。
组份 B	iQuant™ microRNA Buffer	200 ml	1×	
组份 C	microRNA Standard #1	1 ml	0 ng/µl in TE buffer	
组份 D	microRNA Standard #2	1 ml	10 ng/µl in TE buffer	

注: 按照推荐的储存条件保存有效期为 12 个月, 请注意避免反复冻融。

产品介绍

iQuant™ microRNA Assay Kit 是一种简便、灵敏、精确的小 RNA, 包括单链或双链 microRNA 和 siRNA, 荧光定量检测试剂盒。试剂盒对小 RNA 的选择性高于 rRNA 或 mRNA, 对蛋白质或核苷酸污染物具有较好的耐受性。本试剂盒包含荧光检测试剂、缓冲液及相关的 microRNA 标准品。本试剂盒对 microRNA 在 0.5~150 ng 区间具有很好的线性关系, 是一种快速、简单、灵敏的 microRNA 定量方法。

本试剂盒操作简单方便, 使用前先将荧光检测试剂用缓冲液稀释成工作液, 然后加入待测 microRNA 样品, 即可使用荧光酶标仪或 Qubit® 荧光仪进行读数。本试剂盒对一些常规的污染物如蛋白质、盐类物质、洗涤剂具有较好的耐受性。

注意事项

- 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。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 对于检测试剂和 microRNA 标准品, 每次使用前要先摇匀再离心数秒钟, 使液体充分沉降到管底。
- 为保证定量结果的精确, 请使用校准后的移液器操作。

实验流程

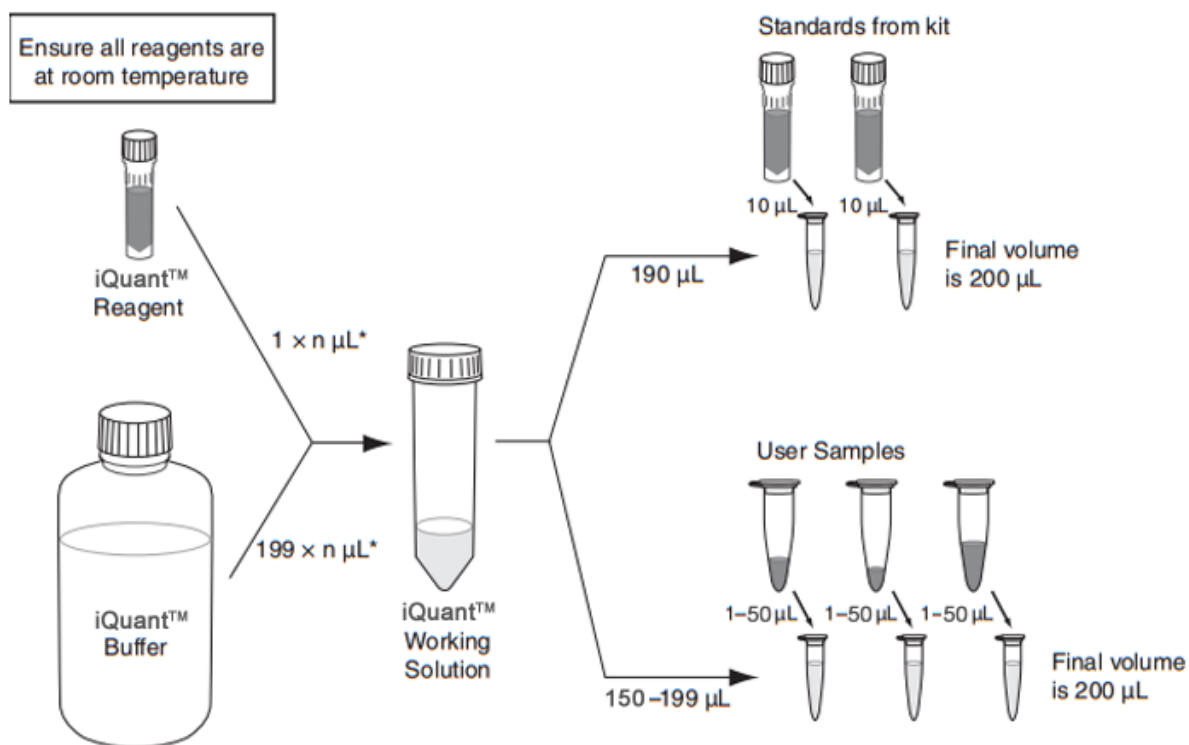


图 1: iQuant™ microRNA 定量检测操作流程

实验步骤

1. 使用荧光酶标仪进行 microRNA 定量检测分析

注意: ①为简便起见，以下操作说明中以 10 µl 的 microRNA 样品为例，但是实际应用中应根据 microRNA 样品的浓度选择合适的体积（一般情况下待测的 microRNA 样品体积范围为 1~50 µl），然后调整 iQuant™检测工作液的体积，使整个检测体系的总量为 200 µl。

②如待测样品浓度高于 150 ng/µl，请进一步稀释样品后再进行检测，否则会影响结果的准确性。

1.1 在使用前，将试剂盒中的各组份放至室温。检查 iQuant™ microRNA Reagent（组份 A）是否有沉淀。若有沉淀物，可将该试剂至于 37°C 水浴锅中温育，并轻柔混匀直到沉淀物完全溶解。

1.2 制备检测工作液。取试剂盒中的 iQuant™ microRNA Reagent（组份 A），按照 1:200 的比例用 1×缓冲液进行稀释，配制成检测工作液，现配现用。（如待测 microRNA 样品共 8 个，且每个样品设置一个复孔，需取 20 µl 的组份 A 加入到 4 ml 的 1×缓冲液中并混合均匀，制成检测工作液，备用。）

注意: 每次配制检测工作液时要使用洁净的离心管。

1.3 向 96 孔酶标板中加入新鲜配制的检测工作液，每孔 190 μl 。

注意：推荐使用黑色的酶标板，如 Greiner 或 Corning 公司的黑色 96 孔酶标板，可有效降低反应孔之间的荧光干扰。

1.4 取试剂盒中的 microRNA Standard #2 (组份 D)，按浓度梯度进行稀释，制成一系列稀释的 microRNA 标准品。(也可使用已知浓度的 microRNA 样品)

注意：因须绘制标准曲线，microRNA 标准品进行浓度梯度稀释时须至少设置 5 个梯度，且待测 microRNA 样品的浓度须介于稀释标准品的浓度区间范围内，以保证检测结果的准确性。

1.5 向 96 孔酶标板中加入梯度浓度的 microRNA 标准品或待测的 microRNA 样品，每孔 10 μl ，并分别设置 1-2 个复孔，加入后用移液枪轻轻地吹打混匀。

1.6 将酶标板至于室温环境下避光孵育 2 分钟。

1.7 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)设置为 485nm，发射波长(Em)设置为 530nm。

1.8 测得的梯度浓度 microRNA 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 microRNA 样品的荧光信号值代入标准曲线中，可计算出 microRNA 样品的浓度。

2. 使用 Qubit® 荧光仪进行 microRNA 定量检测分析

注意：①为简便起见，以下操作说明中以 10 μl 的 microRNA 样品为例，但是实际应用中应根据 microRNA 样品的浓度选择合适的体积(一般情况下待测的 microRNA 样品体积范围为 1~50 μl)，然后调整 iQuant™ 检测工作液的体积，使整个检测体系的总量为 200 μl 。

②如待测样品浓度高于 150 ng/ μl ，请进一步稀释样品后再进行检测，否则会影响结果的准确性。

2.1 在使用前，将试剂盒中的各组份放至室温。检查 iQuant™ microRNA Reagent (组份 A) 是否有沉淀。若有沉淀物，可将该试剂至于 37°C 水浴锅中温育，并轻柔混匀直到沉淀物完全溶解。

2.2 制备检测工作液。取试剂盒中的 iQuant™ microRNA Reagent (组份 A)，按照 1:200 的比例用 1× 缓冲液进行稀释，配制成检测工作液，现配现用。(如待测 microRNA 样品共 8 个，且每个样品设置一个复孔，需取 20 μl 的组份 A 加入到 4 ml 的 1× 缓冲液中并混合均匀，制成检测工作液，备用。)

2.3 向分析管中分别加入新鲜配制的检测工作液，每管 190 μl 。

注意：仅可使用 0.5 ml PCR 的薄壁分析管。

2.4 向分析管中加入 microRNA Standard #1 (组分 C)、microRNA Standard #1 (组分 D)、或待测的 microRNA 样本，每管 10 μl ，涡旋震荡 2-3 秒使充分混匀。请注意正确标记 microRNA 标准品和待测样品的分析管。

2.5 将分析管至于室温环境下避光孵育 2 分钟。

2.6 按照 Qubit® 荧光仪的操作说明，选择 microRNA 检测程序测定荧光信号值。

实验案例

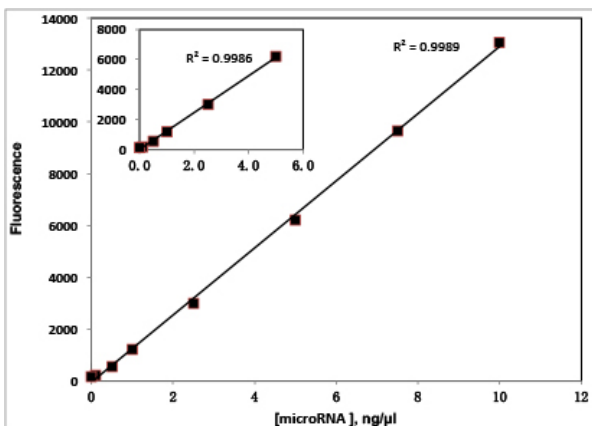


图 3.使用荧光酶标仪及 iQuant™ microRNA 定量检测试剂盒对 microRNA 进行定量的结果。

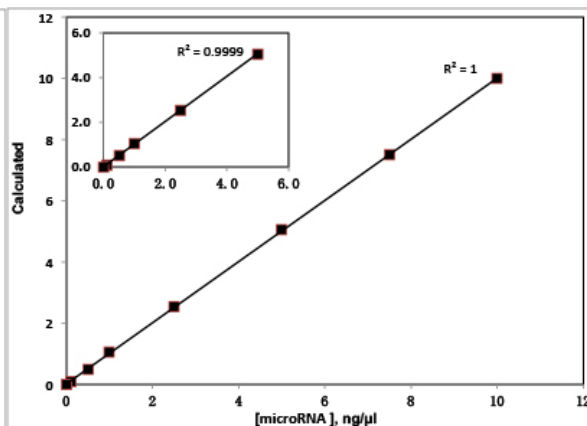


图 4.使用 Qubit® 荧光仪及 iQuant™ microRNA 定量检测试剂盒对 microRNA 进行定量的结果。

附录

污染物对 iQuant™ microRNA 定量检测试剂盒检测结果的影响

污染物	试剂盒终浓度	10 μl 样品中的浓度	检测结果
Sodium Chloride	5 mM	100 mM	OK
Magnesium Chloride	1 mM	20 mM	OK
Sodium Acetate	5 mM	100 mM	OK
Ammonium Acetate	1 mM	20 mM	OK
Ethanol	0.5%	10%	OK
Chloroform	0.2%	4%	OK
Phenol	0.1%	2%	OK
Sodium Dodecyl Sulfate	0.01%	0.2%	Not recommended
Triton X-100	0.001%	0.02%	OK
NTPs	1:1 NTP:miRNA	1:1 NTP:miRNA	OK
dsDNA	10:1 miRNA:dsDNA	10:1 miRNA:dsDNA	OK
ssDNA	10:1 miRNA:ssDNA	10:1 miRNA:ssDNA	OK
Oligo DNA	10:1 miRNA:oligo	10:1 miRNA:oligo	Not recommended