



Quantus™ Fluorometer を用いた QuantiFluor® RNA System の測定

【QuantiFluor® RNA System の測定には、ver. 2.22 以上のファームウェアが必要です。】

準備するもの

- P2 のマイクロピペッターの専用のチップ（微量の分注を行うため、これらの使用が望ましい）
- P20、P200、P1000 のマイクロピペッターおよびそれらのディスポチップ

製品内容

カタログ番号	E3311	E3310
QuantiFluor® RNA Dye	100µl	1ml
RNA Standard, 100µg/ml	10µg	100µg
20× TE Buffer (pH 7.5)	5ml	25ml

※E3311 はサンプルパッケージのため、非売品です。

保存温度： -20℃

測定チューブ： 製品に測定チューブは含まれておりません。下記製品をご購入ください。

製品名	個数	カタログ番号
0.5ml PCR Tubes	50 個入	E4941
	200 個入	E4942

試薬の調製

1x TE Buffer の調製

20× TE Buffer (pH 7.5) を Nuclease-Free Water で 20 倍に希釈する。

(例) 1ml の 20× TE Buffer (pH 7.5) に、19ml の Nuclease-Free Water を加えて、よく混合する。

Quantus™ Fluorometer



決定キー



QuantiFluor® RNA System の測定範囲

QuantiFluor RNA Dye では、低濃度域“Low”と高濃度域“High”の 2 種類の測定モードを使うことができます。
各モードでの、RNA 濃度の測定範囲は下記のとおりです。

Low モード : 0.1 ~ 10 ng/μl

High モード : 10 ~ 500 ng/μl

High モードでのプロトコール

- Working Solution (High モード用)の調製

QuantiFluor RNA Dye を、1xTE Buffer (pH 7.5)で 400 倍希釈する。

(例) 10μl の QuantiFluor RNA Dye に、3,990μl の 1xTE Buffer (pH 7.5)を加えて、攪拌する。

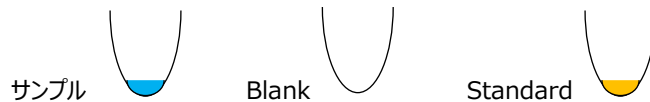
※ 調製した Working Solution は、遮光して保管してください。室温で、数時間程度は安定です。

1. “サンプル”、“Blank”、“Standard”、の測定チューブを準備する。

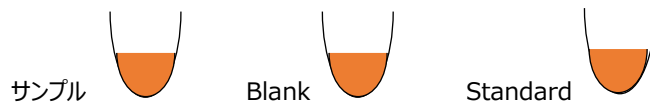
“サンプル”の測定チューブの数は、サンプル数に応じて、準備してください。

それぞれのチューブに下記のように、溶液を加える。

- サンプル : 2μL のサンプル (最大 20μL まで可)
- Blank : なにも加えない
- Standard : 5μL の RNA Standard (100μg/ml)



2. 全ての測定チューブに、200μL の Working Solution (High モード用)を加える。



3. 3 回以上のピペッティングまたはボルテックスにより、十分に攪拌する(攪拌が不十分な場合、蛍光値が低くなります)。

4. 遮光して、室温で 5 分間インキュベートする。

5. Qunatus Fluorometer を起動し、“RNA”を選択し、さらに“High Conc”を選択する。



Low モードでのプロトコール

- Working Solution (Low モード用)の調製

QuantiFluor RNA Dye を、1x TE Buffer (pH 7.5)で 2,000 倍希釈する。

(例) 2 μ l の QuantiFluor RNA Dye に、3,998 μ l の 1x TE Buffer (pH 7.5)を加えて、攪拌する。

※ 調製した Working Solution は、遮光して保管してください。室温で、数時間程度は安定です。

- RNA Standard (Low モード用)の調製

RNA Standard を、1x TE Buffer (pH 7.5)で 100 倍希釈する。

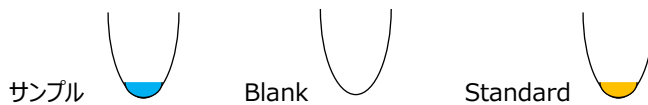
(例) 10 μ l の RNA Standard に、990 μ l の 1xTE Buffer (pH 7.5)を加えて、攪拌する。

1. “サンプル”、“Blank”、“Standard”、の測定チューブを準備する。

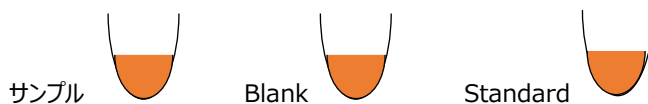
“サンプル”の測定チューブの数は、サンプル数に応じて、準備してください。

それぞれのチューブに下記のように、溶液を加える。

- サンプル : 2 μ L のサンプル (最大 20 μ L まで可)
- Blank : なにも加えない
- Standard : 10 μ L の RNA Standard (Low モード用)



6. 全ての測定チューブに、200 μ L の Working Solution (Low モード用)を加える。



7. 3 回以上のピペティングまたはボルテックスにより、十分に攪拌する(攪拌が不十分な場合、蛍光値が低くなります)。
8. 遮光して、室温で 5 分間インキュベートする。
9. Qunatus Fluorometer を起動し、“RNA”を選択し、さらに“Low Conc”を選択する。



Quantus™ Fluorometer を使った RNA 濃度の測定

1. 電源を差し込み、ホーム画面から“Protocol”を選択し、決定キーを押す。

※この機器には、電源ボタンはありません。

2. “RNA”を選択し、決定キーを押す。

“High Standard”または“Low Standard”を選択して、決定キーを押す。

“Calibrate”を選択し、決定キーを押す。



3. Quantus™ Fluorometer のフタを開け、チューブホルダーに“Blank”の測定チューブをセットし、フタを閉める。

“Read Blank”を選択し、決定キーを押して、“Blank”を測定する。



4. フタを開け、“Blank”の測定チューブを取り出し、“Standard”の測定チューブをセットし、フタを閉める。“Read Std”を選択し、決定キーを押して、“Standard”を測定する。



5. 次に、画面上に Status : VALID と表示されていれば、“Save”を選択する。

※ INVALID の場合、Standard : Blank ratio の値を確認してください。

※ このキャリブレーションデータが機器に保存され、以降の測定結果を濃度表示するときに利用されます。



6. ホーム画面の下段において、Sample Volume を“2μL”、Unit を“ng/μL”に設定する。

※ 詳細は、本紙 4 ページの“その他の機能”の“サンプル量および単位の設定”をご覧ください。



Low モードは“RNA Low”と表示



7. “サンプル”の測定チューブをチューブホルダーにセットし、フタを閉める。

自動的に測定が始まり、測定後に自動計算された濃度が画面に表示される。

8. 以降、サンプルを連続して測定できる。

※ 測定したデータは最大 50 個まで、Quantus™ Fluorometer 内のメモリに保存されます。



その他の機能

● サンプル量および単位の設定

画面の下段を、決定キーで選択することにより、Sample VolumeとUnitを設定できます。本プロトコルでは、サンプル量は2 μ L、単位はng/ μ Lで使用しています。

この設定に基づいて、Quantus™ Fluorometerは希釈倍率を自動計算し、希釈前のサンプルの濃度を表示します。

サンプル量は、1~10(1 μ L刻み)、15、20、25、50、100、150、200 μ Lから選択できます。

また、単位はng/ μ L、ng/mL、 μ g/mL、mg/mL、Autoから選択できます。



● PCへの出力

Quantus™ SoftwareをインストールしたPCとQuantus™ FluorometerがUSBケーブルで接続していると、測定結果をPCのQuantus™ Softwareに表示することができます。Quantus™ SoftwareでPCに取り込んだデータはcsvファイルとして、Exportすることができます。

Sample ID	Protocol	Concentration	Unit	Status	Raw Data	Blank	Standard
0	ONE DNA	-0.0071	ng/ μ L	LOW	-89	56	41289
0	ONE DNA	1.37	ng/ μ L	OK	197	56	41289
0	ONE DNA	-0.0054	ng/ μ L	LOW	-55	56	41289
0	ONE DNA	0.387	ng/ μ L	OK	96	56	41289

● Raw Measurementモード

BlankやStandardを設定せずに、Rawデータを測定するモードです。

1. “Tool”を選択し、続いて、“Raw Measurement”を選択する。
2. 使用するモード(QuantiFluor® RNA Systemは“Blue”が対応)を選択し、決定キーを押す。

