



Invitrogen™

Qubit® 3.0 荧光计

尤其适合样品珍贵、极具价值的应用领域

life
technologies

哪些用户需要使用Qubit®3.0荧光计

如果您的样品十分珍贵或用于精密应用领域，或者您为了获得研究结果进行了巨大的投入，那么Qubit®3.0荧光定量就是您的理想之选。想想下面这些问题：

- 我的样品十分珍贵而且难以处理吗？
- 提取后的DNA、RNA或蛋白质量很少吗？
- 该样品将被用于成本高昂的下游实验吗？
- 我要使用诸如实时定量PCR (qPCR) 或下一代测序方法等需要精密测定的实验方法吗？
- 我要进行诸如转染等需要几天甚至几周才能获得结果的实验吗？
- 我的样品制备过程复杂而且需要诸如激光捕获显微切割等特殊技术吗？

为什么要使用Qubit®3.0荧光计？

Qubit®3.0荧光计采用专门研制的荧光检测技术和Molecular Probes®染料。这些染料荧光只有与特异性的靶分子结合时，才能发射荧光信号，即使有游离核苷酸或降解核酸存在，这些染料仍能发挥作用。Qubit®3.0荧光定量即便在低浓度下亦具有目前最高的DNA和RNA定量特异性和灵敏度。

- **选择性** — Qubit®荧光定量(图1)采用Qubit®分析(表1)，其包括先进的染料，只有与DNA、RNA或蛋白质结合时方可发出荧光。由于Qubit®技术只报告靶分子(而不是杂质)的浓度，因此这种特异性可以使您获得十分精确的结果。
- **灵敏性** — 每个Qubit®分析试剂盒都具有高灵敏度，可供单次分析使用。能精确可靠地定量浓度仅为10pg/μL的DNA和12.5μg/mL的蛋白质样本。
- **简单直观** — 新一代Qubit®3.0荧光同样具有您所期待的高准确性，而且速度更快，使用更为方便。

这些新特性包括：

- **简单** — 反应灵敏的5.7英寸彩色触摸屏，直观的导航按钮
- **迅速** — 全新的双核处理器，5秒内快速计算样品浓度，最多存储1000个结果
- **个性化** — 个性化设置常规应用，可通过MyQubit软件和网络工具创建个性化assay



图1. Qubit®荧光定量系统。

表1. Qubit®分析试剂盒的分析范围。

试剂盒	分析范围	样本起始浓度
Qubit® dsDNA HS分析试剂盒	0.2-100 ng	10 pg/μL-100 ng/μL
Qubit® dsDNA BR分析试剂盒	2-1000 ng	100 pg/μL-1 μg/μL
Qubit® ssDNA分析试剂盒	1-200 ng	50 pg/μL-200 ng/μL
Qubit® RNA HS分析试剂盒	5-100 ng	250 pg/μL-100 ng/μL
Qubit® RNA BR分析试剂盒	20-1000 ng	1 ng/μL-1 μg/μL
Qubit® microRNA分析试剂盒	1-100ng	0.05 ng/μL-100 ng/μL
Qubit®蛋白质分析试剂盒*	0.25-5 μg	12.5 μg/mL-5 mg/mL

*Qubit®蛋白质分析试剂盒能与各种还原剂同时使用。它可耐受0.01%SDS，但不可使用其它去污剂。

Qubit® 荧光定量的工作原理

Qubit® 荧光定量采用荧光染料对目标生物分子进行定量

采用Qubit®3.0荧光计完成的Qubit®分析均采用同一种通用实验方案。进行DNA和RNA分析只需混合然后读数，孵育时间仅为2分钟(图2)。请登录www.lifetechnologies.com/qubit，查看Qubit®分析的实验方案。

将染料和缓冲液置于室温下储存，以获得最佳结果。DNA、RNA和蛋白质标准品置于4℃储存。使用前，确保所有分析试剂均在室温下。

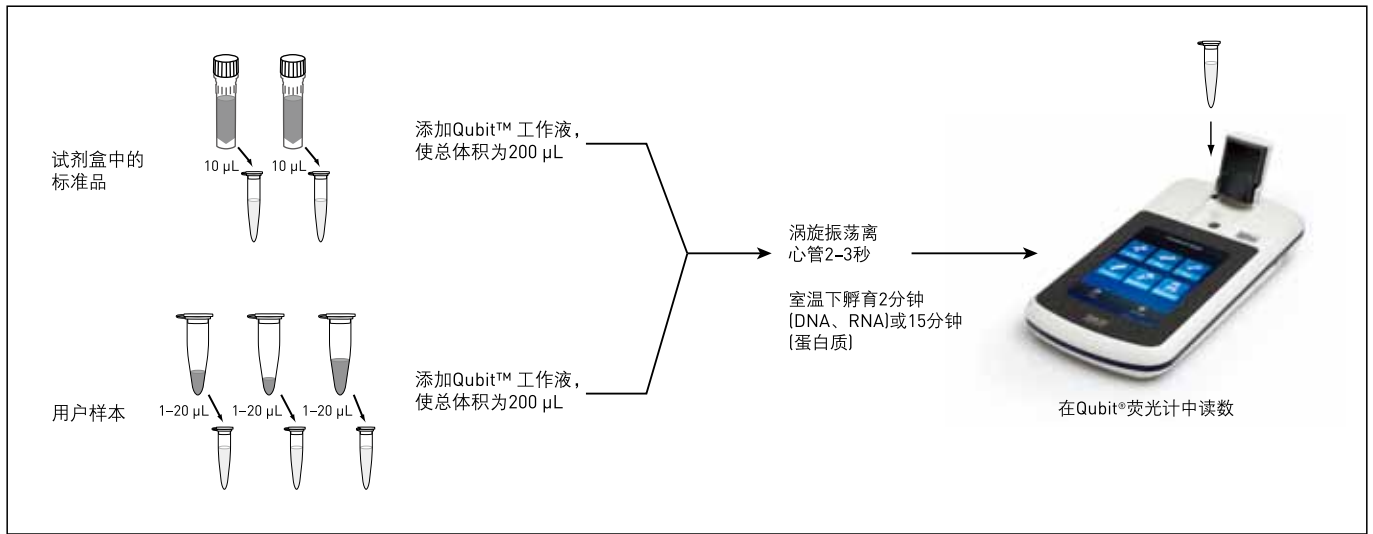


图2. 采用Qubit®3.0荧光进行Qubit®分析的工作流程。

“它使我能够检测浓度极低的样本。非常好、快速而且简单。”

Qubit® 荧光定量与NanoDrop®

及其它紫外分光光度计定量方法有何不同？

NanoDrop®及其它紫外分光光度计均采用紫外吸光度进行检测，它无法区分出DNA、RNA、降解核酸、游离核苷酸及其它杂质。而Qubit®定量平台采用荧光染料检测特异目标分子的浓度。

尽管紫外吸收定量法是最常用的一种DNA或RNA定量方法，但其读数并不可靠且不精确[1-4]。紫外吸光度读数不加区别检测吸光度为260nm的所有物质，包括DNA、RNA、蛋白质、降解核酸和游离核苷酸。由于Qubit® 3.0荧光计只检测目标分子，因此其读数一般低于A260读数，定量更精确。

此外，分光光度计的灵敏度不足，无法完成低浓度DNA和RNA的定量。相反，Qubit®3.0荧光计能在较低的浓度范围内得出比采用NanoDrop®分光光度计进行紫外吸收检测更准确、精密的结果(图3)。鉴于上述缺点，使用荧光染料定量核酸已成为一种常见的替代方法[5-8]。

低浓度下的准确度和精度比较

Qubit®荧光定量能在较低的浓度范围内得出比采用NanoDrop®分光光度计进行紫外吸光度检测更准确、更精密的结果。采用Qubit® dsDNA HS分析试剂盒及Qubit®荧光计，定量浓度仅为10 pg/μL的样本中的DNA，测得值在实际值的±12%范围内(图3A)。而采用NanoDrop®分光光度计测量上述同样样本，测得的浓度比实际值高46倍。使用Qubit®荧光计检测低至10 ng/μL DNA的样本(NanoDrop®分光光度计的报道下限值为2 ng/μL)，测得值在实际值的±1%范围内，使用NanoDrop®分光光度计测定的浓度在实际值的±5%范围内。此外，采用Qubit®荧光计检测DNA浓度低至0.5 ng/μL的样本，所有样本的重复差异(%CV)均≤1% (图3B)。而采用NanoDrop®分光光度计检测，只有DNA浓度为4ng/μL及以上的样本的% CV低于9%。

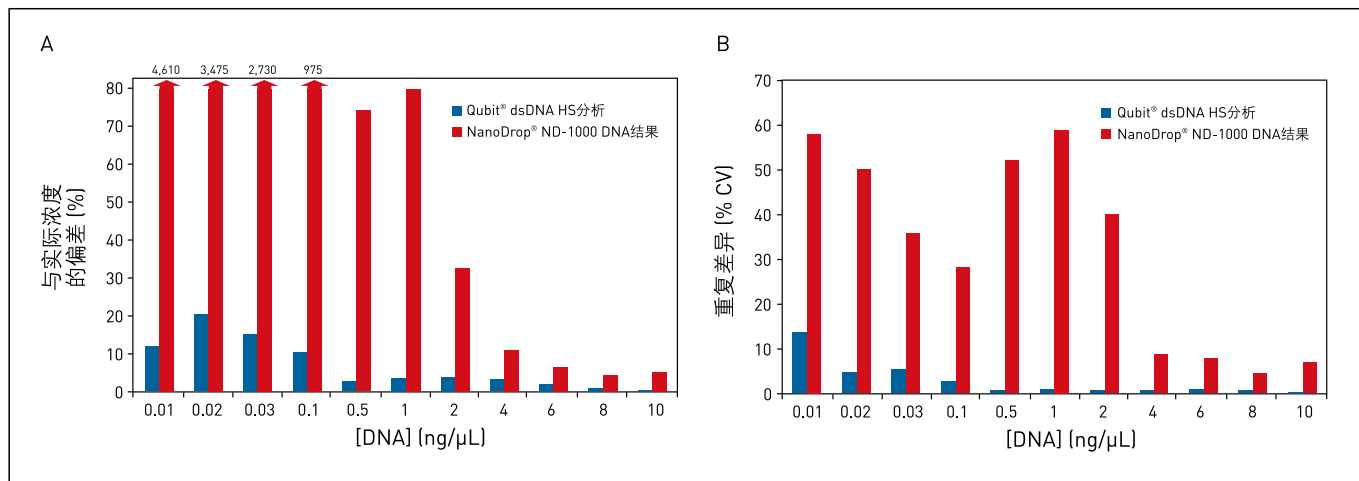


图3. Qubit®荧光定量的准确度和精度。根据标准试剂盒实验方案，在Qubit®荧光计中采用Qubit® dsDNA HS分析试剂盒重复10次测量浓度在0.01至10 ng/μL之间的lambda DNA。同时采用NanoDrop® ND-1000分光光度计重复10次测量相同浓度的DNA，比较结果的准确度(A)和精度(B)。准确度定义为与已知浓度的平均偏差。标示的浓度是在Qubit®分析管中稀释前起始样本的DNA浓度。

参考文献

1. Glasel JA (1995) Biotechniques 18:62-63.
2. Huberman JA (1995) Biotechniques 18:636.
3. Manchester KL (1995) Biotechniques 19:208-210.
4. Manchester KL (1996) Biotechniques 20:968-970.
5. Singer VL, Jones LJ, Yue ST et al. (1997) Anal Biochem 249:228-238.
6. Jones LJ, Yue ST, Cheung CY et al. (1998) Anal Biochem 265:368-374.
7. LePecq JB (1966) Anal Biochem 17:100-107.
8. Kapuscinski J (1995) Biotech Histochem 70:220-233.

针对DNA或RNA的选择性比较

采用Qubit®荧光定量和紫外吸光度测量核酸浓度最明显的差异在于Qubit®分析的选择性，Qubit®分析针对目的分子具有极高的特异性，可提供较紫外吸光度更准确的信息。采用紫外分析时，同时含有DNA和RNA的样本结果无差别——您无法将它们DNA和RNA区分开来。而Qubit®荧光定量能够准确测定同一样本中的DNA和RNA(图4)。在本实验中，样本含有相同含量的DNA和RNA，采用Qubit® dsDNA BR分析试剂盒测得的DNA浓度在实际含量的±2%范围内。此外，在RNA含量较DNA高10倍的样本中，采用DNA分析测得的浓度仅比实际值高7%。而采用NanoDrop®分光光度计进行紫外吸光度检测，无法准确测量上述样本中的DNA和RNA含量，这增加了后续实验中出错的可能性。

灵敏度和范围比较

采用Qubit®荧光计及Qubit®分析试剂盒的灵敏度高于紫外吸光度检测，由于该分析能够检测1-20 µL的样本，因此分析的有效范围进一步扩大。Qubit® dsDNA HS和BR分析试剂盒覆盖的样本浓度范围为10 pg/µL至1 µg/µL DNA。据制造商报道，NanoDrop®分光光度计覆盖的样本浓度范围为2 ng/µL至15 µg/µL，由此可见，Qubit®适合的浓度范围更宽，不过，高浓度样本在分光光度计上测定就不必稀释。

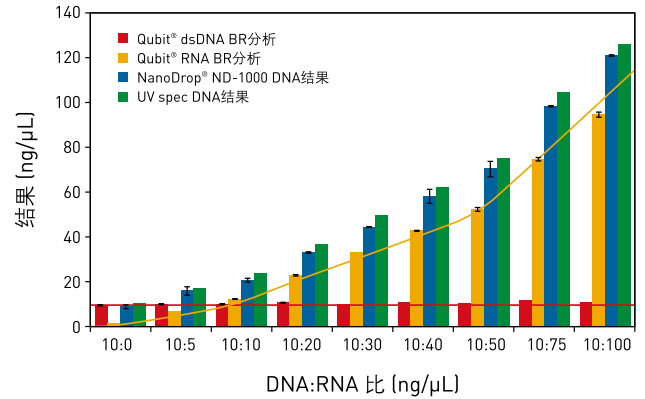


图4. Qubit®分析与紫外分光光度法相比具有选择性。采用Qubit® dsDNA BR和Qubit® RNA BR分析试剂盒及Qubit®荧光计，按照试剂盒实验方案检测含有lambda DNA (10 ng/µL)和不同量的大肠杆菌核糖体RNA (0-100 ng/µL)的样本，每个样品重复3次。然后采用NanoDrop® ND-1000分光光度计检测同一样本三次，采用PerkinElmer® Lambda 35分光光度计检测一次。标示的浓度是在Qubit®分析管中稀释前起始样本的DNA和RNA浓度。红色和橙色趋势线分别表示起始样本中DNA和RNA的实际含量。[分别]稀释纯的浓缩DNA和RNA溶液，采用PerkinElmer® Lambda 35分光光度计测定260 nm处的光密度，使稀释后溶液的光密度值为1.0，设定核酸的实际浓度。然后计算储液浓度，用于后续稀释。采用紫外分析时，同时含有DNA和RNA的样本结果无差别-您无法将它们区分开来。

如何创建个性化的分析应用?

荧光计模式

选择荧光计模式，Qubit® 3.0荧光计就可以被用做小型的荧光计。在荧光计模式里，不同于使用分析试剂盒时的校准和基于算法的计算结果，仪器直接产生并显示每个样本的原始荧光数据(RFU)。荧光计模式允许您可以手动选择发射光源：蓝色LED (最大~470 nm)或红色LED (最大~635 nm)。如果选择蓝光发射，仪器读取绿色或远红外通道的荧光；如果选择红光发射，则仅读取远红外通道的荧光。

通过荧光计模式收集的数据可以用于设计您的个性化assay配合MyQubit创建新的分析类型。

MyQubit — 为Qubit® 3.0荧光计设计和创建新的分析类型

Qubit® 3.0 荧光计与MyQubit assay 设计工具兼容。您只需在此在线工具上输入您的assay参数，保存并上传.qbt文件至您的Qubit® 3.0 荧光计，即可运行您的个性化分析，拓展Qubit®的应用范围。了解更多，请登录www.lifetechnologies.com/myqubit

*目前，我们已开发两个新的分析(胆固醇或葡萄糖分析)，如有需要可直接下载上传至您的Qubit。

Qubit®蛋白质分析与其它蛋白质分析法 相比如何?

由于实验方案较为简便, 因此采用Qubit® 3.0荧光计对低浓度的蛋白质进行定量简单易行。与其它蛋白质分析法相比, Qubit®蛋白质分析的蛋白质差异极小(图5), 该分析保持精确的初始样品浓度范围介于12.5 µg/mL至5 mg/mL之间。

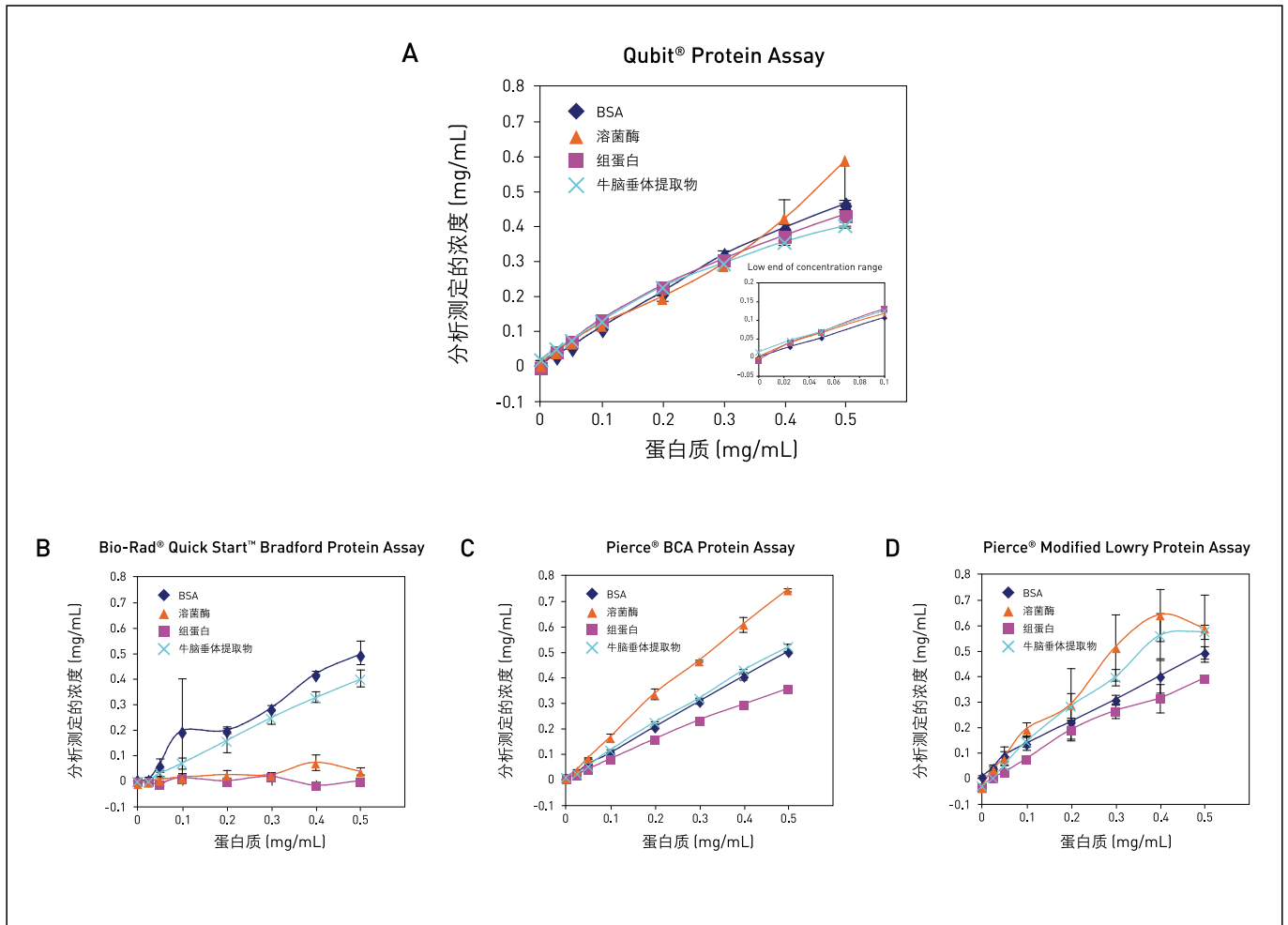


图5. 相比其他三种常用的蛋白质分析法, 使用Qubit®荧光计的Qubit®蛋白质分析试剂盒可以提供更低的蛋白质间差异性和更高的准确度、精度和灵敏度。(A-D) 在所有分析中使用相同批次的蛋白质, 遵循制造商的实验方案重复分析三次。BSA是Qubit®蛋白质分析试剂盒中附带的蛋白质标准品。数据图显示了在蛋白质检测浓度范围内的蛋白质间差异。(A) 中的插图是低浓度蛋白质范围的放大图, 显示了用于Qubit®荧光计的Qubit®蛋白质分析的灵敏度。

蛋白质样本制备需要3种标准品, 孵育时间为15分钟。Qubit®蛋白质分析试剂盒提供浓缩分析试剂、1X缓冲液和预先稀释的标准品。只需用提供的缓冲液稀释试剂, 加入样本(体积在1 µL至20 µL之间均可), 孵育, 并采用Qubit® 3.0荧光计读数即可。

采用Qubit®蛋白质分析进行蛋白质定量时, 应使用不含去污剂的样本, 以获得最精确的结果。查看Qubit®蛋白质分析试剂盒手册, 了解Qubit®蛋白质分析可耐受的杂质。您可登录www.lifetechnologies.com/qubitproteinassay 下载手册。

有文献引用过Qubit®荧光计吗？

有。已有4000多篇有关Qubit®荧光计定量的文献。这里挑选了一些近期的文献。您可登录www.lifetechnologies.com/qubit，查看更多引文。

1. Adams RI, Miletto M, Lindow SE, Taylor JW, Bruns TD (2014) Airborne Bacterial Communities in Residences: Similarities and Differences with Fungi. PLoS ONE 9(3):e91283 doi:10.1371.
2. Callaway JL, Huang S, Karampetsou E, Crolla JA (2014) Perspective on the technical challenges involved in the implementation of array-CGH in prenatal diagnostic testing. Mol Biotechnol 56(4):312-8.
3. Kulkarni AD, Kiron V, Rombout JH et al. (2014) Protein profiling in the gut of *Penaeus monodon* gavaged with oral WSSV-vaccines and live white spot syndrome virus. Proteomics 14: 1660-1673.
4. Deben C, Zwaenepoel K, Boeckx C et al. (2013) Expression Analysis on Archival Material Revisited: Isolation and Quantification of RNA Extracted From FFPE Samples. Diagn Mol Pathol 22(1):59-64.
5. Fitzsimons MS, Novotny M, Lo CC et al. (2013) Nearly finished genomes produced using gel microdroplet culturing reveal substantial intraspecies genomic diversity within the human microbiome. Genome Res 23(5):878-88.
6. Deben C, Zwaenepoel K, Boeckx C et al. (2013) Expression Analysis on Archival Material Revisited: Isolation and Quantification of RNA Extracted From FFPE Samples. Diagn Mol Pathol 22(1):59-64.
7. Fajardo-Cavazos P et al. (2010) Exposure of DNA and *Bacillus subtilis* Spores to Simulated Martian Environments: Use of Quantitative PCR (qPCR) to Measure Inactivation Rates of DNA to Function as a Template Model. Astrobiology 10(4):403-411.
8. Filigheddu N, et al. (2010) Differential Expression of MicroRNAs between Eutopic and Ectopic Endometrium in Ovarian Endometriosis. J Biomed Biotech 2010:369549.

保修条款和退货政策包括哪些内容？

在1年保修期(自购买之日起)内，我们可以更换有问题或出现故障的Qubit® 3.0荧光计。如果仪器已拆卸或客户曾修理过仪器，则上述保证无效。

联系Life Technologies技术支持部(在中国请致电800-820-8982/400-820-8982或发送电子邮件至cntechsupport@lifetech.com，获取退货授权号。在未事先电话联系或电子邮件联系前，请勿将仪器直接运至我公司。

是否提供技术支持？

是的。您可以拨打800-820-8982或发送电子邮件至cntechsupport@lifetech.com获取技术支持

如何获取更多信息？

请登录www.lifetechnologies.com/qubit，了解有关产品、订购、价格和技术数据、技术说明以及常见问题的信息。

“DNA定量和测序更快速。快去买吧！”

订购信息

产品	规格	货号	
Qubit® 3.0 荧光计	1台	Q33216	
Qubit® 3.0 定量起始套装	<ul style="list-style-type: none">1 Qubit Fluorometer1 dsDNA BR (100 assays)1 protein assay (100 assays)	<ul style="list-style-type: none">1 dsDNA HS (100 assays)1 RNA HS assay (100 assays)Qubit assay tubes (500)	Q33217
Qubit® 3.0 NGS 起始套装	<ul style="list-style-type: none">1 Qubit FluorometerQubit assay tubes (500)	<ul style="list-style-type: none">1 dsDNA HS (500 assays)	Q33218
Qubit® dsDNA BR 分析试剂盒	100次分析, 2-1,000 ng 500次分析, 2-1,000 ng	Q32850 Q32853	
Qubit® dsDNA HS 分析试剂盒	100次分析, 0.2-100 ng 500次分析, 0.2-100 ng	Q32851 Q32854	
Qubit® ssDNA 分析试剂盒	100次分析, 1-200 ng	Q10212	
Qubit® RNA HS 分析试剂盒	100次分析, 5-100 ng 500次分析, 5-100 ng	Q32852 Q32855	
Qubit® RNA BR 分析试剂盒	100次分析, 20-1000 ng 500次分析, 20-1000 ng	Q10210 Q10211	
Qubit® microRNA 分析试剂盒	100次分析, 1-100 ng 500次分析, 1-100 ng	Q32880 Q32881	
Qubit® 蛋白分析试剂盒	100次分析, 0.25-5 µg 500次分析, 0.25-5 µg	Q33211 Q33212	
Qubit® 分析管	500管	Q32856	
Amplex® Red 胆固醇分析试剂盒	250次分析	A12216	
Amplex® Red 葡萄糖/葡萄糖氧化酶分析试剂盒	250次分析	A22189	
Amplex® Red/UltraRed 终止剂	250次分析	A33855	

我们的客户如何评价Qubit® 荧光定量?

“快速、简单且可重复性极佳；可靠性较分光光度计更好，结果的可信度更高。”

西安大略大学, Kevin Barr

“它使我能够检测浓度极低的样本，非常好、快速且简单。”

Silvia Rodriguez, Institut de Recerca Biomedica de Barcelona (IRB)

“与Qubit测量值相比，NanoDrop高估了血斑样本中的RNA含量约10倍，且此数目与样本中的cDNA和qPCR数一致。”

密西根州立大学, Julia Busik副教授

“Qubit真的很棒！而且花费也不高。我从不知道进行DNA分析可以这么有趣！我希望Invitrogen能继续推出这种产品，仪器虽小却让我的生活变得更简单轻松。”

Microbiological Laboratories, Inc. 总裁, George Aspery

“它很简单，连大学生都能很快学会。我觉得我在使用最新技术。”

新罕布什尔大学, Estelle Hrabak

“DNA定量和测序更快速。快去买吧！”

南佛罗里达大学, Maja Okuka

“在生产过程中，我们需要制备大量DNA，而且需要在分装前准确测量其浓度。但我们的生产方法在制备DNA的同时也产生了大量的RNA。因此我们用RNA酶A处理样本，可是即便处理后，在260 nm处仍有RNA单体，我们无法使用分光光度计进行DNA定量。这种情况下Qubit便能充分发挥优势。由于染料只与DNA结合，因此我们可用它在有酶解RNA存在的情况下精确定量DNA。我们观察凝胶中相对于已知标准液的测量值，发现Qubit非常精确”

Bacterial Barcodes, Inc. (BioMerieux, Inc.的全资子公司) 研究员,
Mark G. Wise博士

“如果比较Qubit、NanoDrop和Bioanalyzer的浓度，我们会始终选用Qubit定量”

密西根州立大学动物功能性基因研究中心实验是主管, Sue Sipkovsky

“Qubit蛋白质分析全面‘拯救’了我的实验。而紫外分光法无法准确定量蛋白质。”

俄勒冈大学博士生, Bryan Warf

“每天可节约1小时定量样本的时间。”

MOFFITT癌症中心芯片核心实验室主任, Steve Enkemann

免费服务电话: 800 820 8982 / 400 820 8982
销售服务信箱: sales-cn@lifetech.com
技术咨询信箱: cntechsupport@lifetech.com

上海办事处 电话: 021-61452000
北京办事处 电话: 010-84461800

广州办事处 电话: 020-38975100
成都办事处 电话: 028-86672836

life
technologies

A Thermo Fisher Scientific Brand

www.lifetechnologies.com