



Ribo488 RNA BR Fluorimetric Assay-Kit  
zur Quantifizierung von RNA Handbuch



## Contents

Deutsch: Ribo488 RNA BR Fluorimetric Assay-Kit zur Quantifizierung von RNA Handbuch .....	3-8
--	-----

# Ribo488 RNA BR Fluorimetric Assay-Kit zur Quantifizierung von RNA Handbuch

Der Ribo488 RNA BR Fluorimetric Assay-Kit dient der fluorimetrischen Quantifizierung von RNA-Konzentrationen über einen weiten Bereich in jedem geeigneten Fluorimeter (z. B. dem **QuReader 1** oder dem **QuReader 8**). Der Kit ermöglicht die präzise Quantifizierung der RNA-Konzentration in einer Ausgangsprobe im Bereich von 1 ng/μl bis 1200 ng/μl (was einem Messbereich von 20–1200 ng RNA in 200 μl Messvolumen entspricht).

Der Hauptbestandteil des Kits ist der fluoreszierende Farbstoff **Ribo488**. Dieser bindet an RNA und zeigt im gebundenen Zustand eine intensive Fluoreszenzemission. Verunreinigungen in geringen Konzentrationen, wie Salze, Detergenzien und Lösungsmittel, haben nur einen vernachlässigbaren Einfluss auf die Messergebnisse.

Die Verwendung des Ribo488 RNA BR Fluorimetric Assay-Kits bietet eine einfache Methode zur RNA-Quantifizierung über einen weiten Konzentrationsbereich:

- Nur ein geringes Probenvolumen ist erforderlich (1–20 μl der Ausgangsprobe).
- Alle Messungen werden bei Raumtemperatur durchgeführt.
- Die Messung dauert je nach Probenzahl etwa 15–20 Minuten.
- Die Fluoreszenzsignale der Proben sind für mindestens 3 Stunden stabil.

Zum Kit-Inhalt gehören eine 200× Konzentrat-Lösung des Ribo488-Farbstoffs, Puffer zur Herstellung der Farbstoff-Arbeitslösung, RNA-Konzentrationsstandards (0 ng/μl und 100 ng/μl). Zur Vereinfachung sind Kit-Formate erhältlich, die fluorimeterkompatible, dünnwandige Reaktionsgefäße enthalten.

Zum Nachweis von Proteinverunreinigungen in Ihrer RNA-Probe kann der **QuDye® Protein Quantification Assay-Kit** verwendet werden.

## Bestandteile

Komponente	Anzahl				
	S2502	12502	14502	52502	54502
	40 assays	100 assays	100 assays	500 assays	500 assays
11510, Ribo488 für die RNA-Quantifizierung, 100 µL	1	—	—	—	—
N2150, TE-Puffer, 20x, 25 mL	—	—	—	1	—
G2150, TE-Puffer, 20x, 5 mL	1	1	—	—	—
B0650, RNA-Standard / RNA quantification standard, 100 ng/µl in TE-Puffer, 1 mL	1	1	1	3	3
B9650, Standard / Quantitative standard, 0 ng/µl in TE-Puffer, 1 mL	1	1	1	—	—
21510, Ribo488 für die RNA-Quantifizierung, 250 µL	—	1	1	—	—
S3250, TE-Puffer, 1x, 50 mL	—	—	1	—	5
51510, Ribo488 für die RNA-Quantifizierung, 1.25 mL	—	—	—	1	1
G9650, Standard / Quantitative standard, 0 ng/µl in TE-Puffer, 5 mL	—	—	—	1	1

Lagern bei 4 °C. Vor Gebrauch auf Raumtemperatur temperieren. Transport: bei Raumtemperatur bis zu einer Woche.

Haltbarkeit: 12 Monate.

## Allgemeine Hinweise und Vorbereitung

- Für die Messung wird empfohlen, eine RNA-Probe zu verwenden, die von doppelsträngigen und einzelsträngigen DNA-Verunreinigungen mit gereinigt wurde.
- Alle Messungen mit dem Ribo488 RNA BR Fluorimetric Assay-Kit sind bei Raumtemperatur (22–28 °C) durchzuführen.

- Alle Reagenzien und Proben sind vor Arbeitsbeginn gründlich auf Raumtemperatur zu temperieren.
- Bei regelmäßiger Nutzung des Kits wird empfohlen, das Ribo488 RNA-Quantifizierungsreagenz und den 1× TE-Puffer bei Raumtemperatur lichtgeschützt zu lagern. Die Standards sind bei +4 °C zu lagern.
- Hinweis: Temperaturschwankungen der Probe haben einen erheblichen Einfluss auf die Messergebnisse. Vermeiden Sie daher eine Erwärmung der Proben. Halten Sie die Probengefäße unmittelbar vor der Messung nicht in der Hand.
- Da sich die Probe bereits kurzfristig im Probenfach des Fluorimeters erwärmen kann, sollte die Fluoreszenzmessung unverzüglich nach dem Einlegen des Probenröhrchens in das Gerät erfolgen.
- Soll dieselbe Probe erneut vermessen werden, entnehmen Sie das Röhrchen sofort nach der Messung aus dem Fluorimeter. Das Gefäß darf nur während der Messung der Fluoreszenzintensität im Gerät verbleiben.
- Die Fluoreszenzmessung erfolgt nach der Geräteanleitung des verwendeten Fluorimeters. Abhängig vom Gerätemodell können die Menüpunkte von den nachfolgenden Beschreibungen abweichen.
- Dieses Kit kann am Fluorimeter im Modus "Grün" (Green Channel) verwendet werden. Hierzu zählen Geräte der QuReader-Serie sowie andere Modelle mit einer Anregungswellenlänge von 430–495 nm und einer Emissionswellenlänge im grünen Kanal von 510–580 nm.

## Messung der RNA-Konzentration mit dem Fluorimeter

1. Bereiten Sie 8× 1,5-ml Reaktionsgefäße vor und beschriften Sie diese. Erstellen Sie eine Verdünnungsreihe des 100 ng/μl RNA-Standards gemäß folgendem Schema:
  - **100 ng/μl** (100 μl des 100 ng/μl-Standards)
  - **50 ng/μl** (50 μl Standard 0 ng/μl + 50 μl Standard 100 ng/μl)
  - **25 ng/μl** (50 μl Standard 0 ng/μl + 50 μl Standard 50 ng/μl)
  - **12,5 ng/μl** (50 μl Standard 0 ng/μl + 50 μl Standard 25 ng/μl)
  - **6,25 ng/μl** (50 μl Standard 0 ng/μl + 50 μl Standard 12,5 ng/μl)

- **3,12 ng/μl** (50 μl Standard 0 ng/μl + 50 μl Standard 6,25 ng/μl)
- **1,56 ng/μl** (50 μl Standard 0 ng/μl + 50 μl Standard 3,12 ng/μl)
- **0 ng/μl** (100 μl des 0 ng/μl-Standards)

Die zubereiteten Standards dürfen nicht länger als 24 Stunden bei 4 °C gelagert werden.

2. Bereiten Sie die Farbstoff-Arbeitslösung vor. Geben Sie in ein 2-ml-Gefäß 10 μl des Farbstoffs und 1990 μl 1× TE-Puffer. Mischen Sie die Lösung gründlich.
3. Bereiten Sie 8× 0,5-ml Reaktionsgefäße vor. Pipettieren Sie zu jeweils 10 μl der einzelnen Standardverdünnungen jeweils 190 μl der Farbstoff-Arbeitslösung. Mischen Sie den Inhalt der Gefäße kräftig mit einem Vortexer. Zentrifugieren Sie die Gefäße kurz, um Flüssigkeitstropfen von den Gefäßwänden zu entfernen. Inkubieren Sie die Proben 5 Minuten bei Raumtemperatur, lichtgeschützt.
4. Führen Sie die Fluoreszenzmessung durch.

## Auswertung und Berechnung der RNA-Konzentration

1. Erstellen Sie eine Kalibrierkurve unter Verwendung der Fluoreszenzdaten Ihrer Standardlösungen. Tragen Sie dazu auf der x-Achse (Abszisse) die jeweilige Endkonzentration der RNA in der Standardlösung und auf der y-Achse (Ordinate) den gemessenen Fluoreszenzwert.
2. Führen Sie eine lineare Regression durch und bestimmen Sie die Parameter A und B. Dies kann mit dem spezifischen RNA-Konzentrationsrechner erfolgen.
3. Die lineare Gleichung, welche die Fluoreszenz (FL) in Abhängigkeit von der Konzentration (C) beschreibt, lautet:  

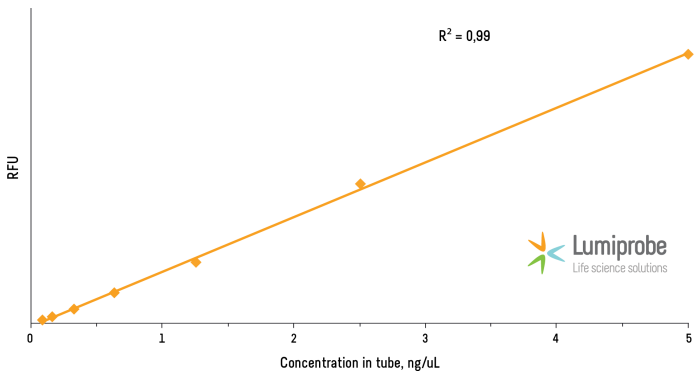
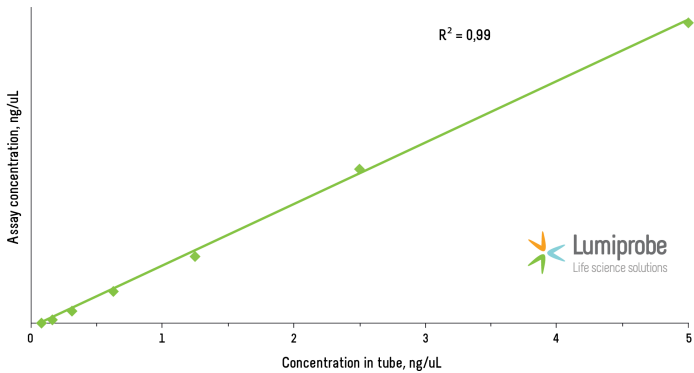
$$FL = A \times C + B;$$
 wobei: FL = Fluoreszenzintensität in relativen Fluoreszenzeinheiten (RFU), C = RNA-Konzentration, A und B — die Parameter der linearen Funktion.
4. Berechnen Sie die RNA-Konzentration in Ihrer experimentellen Probe:  

$$C_{\text{Probe}} = (FL_{\text{Probe}} - B) / A;$$
 wobei:  $FL_{\text{probe}}$  = Gemessene Fluoreszenzintensität der Probe
5. Berechnen Sie die ursprüngliche RNA-Konzentration in Ihrer Ausgangsprobe:  

$$C_{\text{orig}} = C_{\text{probe}} \times V_{\text{gesamt}} / V_{\text{orig}};$$

wobei:  $V_{\text{gesamt}}$  = das Probenvolumen,  $V_{\text{orig}}$  = Volumen der Ausgangsprobe, das für die Herstellung der experimentellen Probe verwendet wurde.

Im Folgenden sind beispielhafte Grafiken dargestellt: die Abhängigkeit der RFU (Relative Fluorescence Units) von der theoretischen RNA-Konzentration in der Verdünnungsreihe sowie die Abhängigkeit der vom Assay berechneten Konzentration von der theoretischen RNA-Konzentration, gemessen mit einem QuReader-Fluorimeter im Fluoreszenzmessmodus.









22.09.509-QM  
Issued by INSPECT



[www.lumiprobe.com](http://www.lumiprobe.com)

