

Note technique 169

Données de performance de l'essai ARN Qubit®

Introduction

Les fluoromètres DeNovix DS-11 et QFX permettent la quantification précise et spécifique des acides nucléiques, des protéines et d'autres biomolécules par la mesure de la fluorescence. Cette note présente des données de performance typiques mesurées sur le DeNovix QFX à l'aide des essais de haute sensibilité (HS) et de large portée (BR) de Thermo Fisher Scientific Qubit® RNA.

Le DeNovix Fluorometer utilise un noyau optique propriétaire et un ensemble polyvalent de quatre canaux de fluorescence pour la détection d'excitation et d'émission des fluorophores. Ces canaux permettent la quantification fluorescente de l'ARN, ainsi que des dsDNA, ssDNA et protéines. Le fluoromètre DeNovix est préconfiguré pour ces essais et utilise automatiquement les filtres d'excitation et d'émission appropriés.

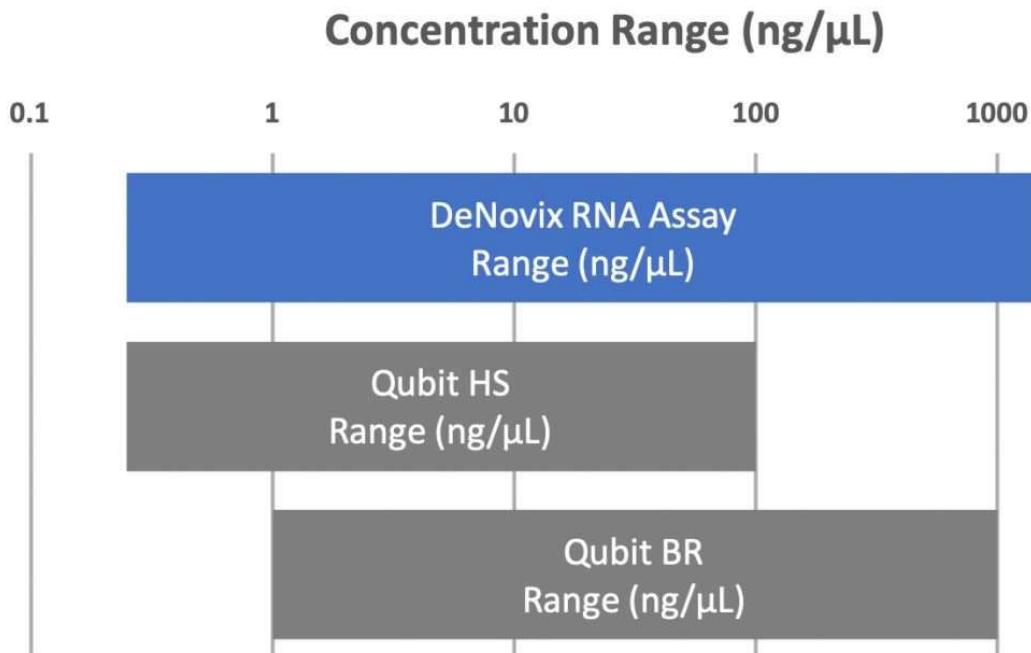


Figure 1. Gamme dynamique Comparaison des analyses de l'ARN Qubit® et de l'ARN DeNovix.

Tests de quantification de l'ARN

L'essai Qubit® RNA HS permet une quantification sélective dans la plage de détection standard de 5 à 100 ng de masse totale d'ARN lors de l'utilisation de 1 à 20 L dans un volume d'essai de 200 L. Cela équivaut à mesurer les concentrations initiales de l'ARN dans l'échantillon de 250 pg/L - 100 ng/L lorsque l'on utilise de 1 à 20 L de l'échantillon dans un volume d'essai de 200 L. La plage de détection standard de l'essai Qubit® RNA BR est de 20 à 1 000 ng de masse totale lorsqu'on utilise 1 à 20 µg/L dans un volume d'essai de 200 µg/L. Cela équivaut à mesurer les concentrations initiales d'ARN dans l'échantillon de 1 à 1 000 ng/µL en utilisant 1 à 20 µg/L d'échantillon dans un volume d'essai de 200 µg/L.

Tableau 1 Données de performance d'essai ARN HS

Test ARN HS

Test ARN HS

Prévu	Test mesuré sur QFX		Test mesuré sur Qubit®		
	ng/µL	ng/µL	St Dev	ng/µL	St Dev
10	10,174	0,047	9,660	0,080	
7,52	7,852	0,065	7,633	0,070	
5,01	5,405	0,148	5,260	0,060	
2,50	2,502	0,040	2,527	0,012	
1,00	1,044	0,011	1,046	0,040	
0,50	0,481	0,005	0,467	0,012	
0,25	0,247	0,002	0,243	0,006	

Tableau 2 Données de performance d'essai
ARN BR

Test ARN BR

Prévu	Test mesuré sur QFX		Test mesuré sur Qubit®		
	ng/µL	ng/µL	St Dev	ng/µL	St Dev
100	102,636	0,865	98,200	1,400	
75,03	81,598	0,675	76,200	0,600	
50,06	53,915	0,186	51,733	0,416	
24,96	26,451	0,133	25,667	0,115	
10,66	10,098	0,096	10,167	0,058	
5,14	4,943	0,145	4,820	0,040	
2,50	2,650	0,075	2,513	0,012	
1,00	1,120	0,005	0,873	0,006	

Matériaux et méthodes

Le kit d'essai Qubit® RNA HS (Thermo Fisher Scientific cat #Q32852) et le kit d'essai Qubit® RNA BR (Thermo Fisher Scientific cat #Q10210) ont été utilisés pour effectuer les deux essais. Chaque kit a un protocole de mélange et de mesure et comprend un tampon, un réactif et deux étalons. Les échantillons ont été mesurés dans des tubes PCR à paroi mince et transparents aux UV de 0,5 mL (DeNovix cat #TUBE-PCR-0,5-500).

Des données de performance pour les tests de quantification de l'ARN Qubit® ont été obtenues sur un fluoromètre Qubit® 3.0 et DeNovix QFX. Chaque essai a été préparé conformément au protocole du fabricant. Les échantillons ont été mélangés et incubés à température ambiante pendant 5 minutes. Trois mesures répétées ont été prises pour chaque échantillon.

Une série de dilutions a été préparée gravimétriquement dans de l'eau de qualité CLHP selon les normes Qubit® HS et BR Assay. Les échantillons pour l'essai HS ont été préparés à partir de la norme de 10 ng/µL et les échantillons pour l'essai BR ont été dilués à partir de la norme de 100 ng/µL. Chaque échantillon a été préparé de manière à respecter les limites de masse totale de l'essai respectif. Pour chaque essai, 1 à 20 µg/L de chaque échantillon préparé a été ajouté à la solution de travail 180 à 190 µg/L. Les concentrations initiales de l'échantillon se situaient entre 0,25 et 10 ng/µL pour l'essai HS et entre 1 et 100 ng/µL pour l'essai BR.

Résumé

Les données présentées dans ce document technique montrent que le fluoromètre DeNovix QFX permet une quantification sensible de l'ARN lors de l'utilisation d'un test d'ARN Qubit®. La performance de quantification de l'ARN DeNovix QFX est équivalente à la performance de Qubit® lors de la mesure de l'ARN à l'aide des tests Qubit® RNA HS et BR.

Qubit® est une marque déposée de Thermo Fisher Scientific et de ses filiales.

Révisé le 19 octobre 2020

DeNovix Inc.
3411 Silverside Road
Wilmington, DE 19810, USA

Phone: +1.302-442-6911
Email: info@denovix.com
www.denovix.com

 DeNovix®