



\*仅用于实验室，不用于诊断。请随时跟我们索取并使用最新版本的说明书。

## m<sup>6</sup>A RNA甲基化定量检测试剂盒（荧光法）

此品非常适合从细胞与组织等样本中提取的总RNA，进行m<sup>6</sup>A RNA甲基化定量分析，整个实验时间仅需3.5小时。检测仪器：荧光分光光度计。

目录号： A-P-9008（48次、96次）

### 操作手册

在您收到订购的产品时，请确认操作手册是配套的！  
同时，有翻译不妥的地方还请各位老师批评指正！  
反馈信箱：[tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com)

2017年5月，第1版，对应英文第0.5.0.3版



扫我收藏分享推荐，还有机会拿红包哦！



艾德科技(北京)有限公司  
A&D Technology Corporation



## 目录表

产品手册 .....	3
试剂盒组成 .....	3
运输和保存 .....	3
配套器材(自备) .....	3
说明 .....	3
重点提示 .....	4
一般特性 .....	5
产品简介 .....	6
原理/步骤 .....	7
用法 .....	8
操作手册 .....	11
附录 .....	11
表 1 和 2 .....	11
表 3 .....	14
疑难解答 .....	14
订购信息 .....	14
推荐产品 .....	14
如何下单 .....	15
推荐阅读 .....	15

## 试剂盒组成

内容	A-P-9008-48 (48次)	A-P-9008-96 (96次)	保存条件
<b>WB</b> (10XWash Buffer)	<b>14 ml</b>	<b>28 ml</b>	4° C
<b>BS</b> (Binding Solution)	<b>5 ml</b>	<b>10 ml</b>	常温
<b>NC</b> (Negative Control, 100 ug/ml) *	<b>10 ul</b>	<b>20 ul</b>	-20° C
<b>PC</b> (Positive Control, m <sup>6</sup> A 2 ug/ml) *	<b>10 ul</b>	<b>20 ul</b>	-20° C
<b>CA</b> (Capture Antibody, 1000X) *	<b>5 ul</b>	<b>10 ul</b>	4° C
<b>DA</b> (Detection Antibody, 1000X) *	<b>6 ul</b>	<b>12 ul</b>	-20° C
<b>ES</b> (Enhancer Solution) *	<b>5 ul</b>	<b>10 ul</b>	-20° C
<b>FD</b> (Fluoro Developer) *	<b>8 ul</b>	<b>16 ul</b>	-20° C
<b>FE</b> (Fluoro Enhancer)	<b>8 ml</b>	<b>16 ml</b>	4° C
<b>DB</b> (Dilution Buffer)	<b>4 ml</b>	<b>8 ml</b>	常温
<b>8联管</b> (带封口膜)	<b>6</b>	<b>12</b>	4° C
使用手册	<b>1</b>	<b>1</b>	常温

\*在使用之前将溶液离心至管底。

**注：** NC(阴性对照)是一种不含m6A的RNA。PC(阳性对照)是一种含有m6A oligos和含有100% m6A的。

## 运输和保存

该试剂盒分二部分运输，第一部分是在室温环境下；第二部分需在4° C加冰袋运输。

当您收到产品后：1) 需将**NC、PC、DA、ES** 和 **FD**在-20° C下避光保存；2) **WB、CA、FE、**和**8联管**在4° C避光保存；3) 剩余的组件（**BS**和**DB**）室温避光保存。

**注意：** 在使用前检查Wash buffer,**WB**,是否包含盐的沉淀物。若是，室温或37° C加热并晃动溶液直至溶液再次溶解。

在合适的保存情况下，所有的产品组件有效期是12个月，自购买之日算起。

## 配套器材(自备)

- ③ 在激发光530nm处和发射光590nm处读取荧光
- ③ 带有37° C的孵化器
- ③ 可调移液器
- ③ 1.5 ml 离心管
- ③ 带滤芯吸头
- ③ 封口膜或封板条
- ③ 1X TE buffer, pH7.5-8.0
- ③ 感兴趣已经提取好的RNA
- ③ 蒸馏水

## 重点提示

### 使用必读：

**使用：**m<sup>6</sup>A RNA甲基化定量检测试剂盒（荧光法）专门为定量检测总RNA中m<sup>6</sup>A RNA甲基化水平而设计的。其中总RNA可以是来自哺乳动物，植物，真菌，细菌和病毒等任何样本中纯化得到。

**RNA输入量：**对于每次实验RNA的输入量是100-300 ng.最为理想的RNA的输入量应该是200 ng，正如我们所知m<sup>6</sup>A通常不到总RNA的0.1%。

**起始材料：**非常适合使用细胞和组织样本作为研究的起始材料，比如：来自培养瓶和微孔板培养的细胞，新鲜和冷冻的组织，石蜡包埋组织，血液，体液样本等等。

**内控：**这个试剂盒中包括了阳性对照和阴性对照。使用0.02到1 ng 的m<sup>6</sup>A 绘制标准曲线或可以把m<sup>6</sup>A作为单点阳性对照。因为不同的组织之间m<sup>6</sup>A的含量不一样；正常的和病变的部分；或处理和不处理的条件。我们建议使用二份样本来做，这样可以保证生成信号的可靠性。这个试剂盒容许实验人员对于m<sup>6</sup>A进行定量并且最好是取二份不同提取的RNA样本对于m<sup>6</sup>A进行相对定量分析。

### 预防措施：

为了降低后续 RT-PCR 扩增过程中的风险，在构建 RT-PCR 反应时，我们建议实验人员全程应带一次性干净的手套和使用带滤芯的吸头。在液体转换时要不停的更换带滤芯的吸头。如果实验人员将手套接触到样本，需要立即更换手套。



## 说明

### 一般特性

#### 质控:

每批m<sup>6</sup>A RNA甲基化定量检测试剂盒（荧光法）的生产,对既定的各个组件的生产把控,确保了稳定的产品质量。保证所有产品的性能描述都符合行业的产品标准。A&D Technology Corporation保证所有的产品组件达到如说明书中所描述的功能。

#### 质量保证:

此品如果没有达到您的实验期望,可以给我们的技术发送邮件到:[tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com)。我们也鼓励您随时与我们联系,如果您有任何意见或新的应用领域及产品性能和技术。

#### 安全:

对于实验人员工作时,实验室应配备安全的外套,一次性手套,和适当的防护眼罩

#### 产品更新:

A&D Technology Corporation有权更改或修改任何产品,以提高其性能和设计。这个操作指南的信息是可能随时变更,恕不另行通知。因此,此使用指南仅为提供此品用户时配套使用。

#### 使用限制:

m<sup>6</sup>A RNA甲基化定量检测试剂盒（荧光法）是为研究用途,不适合诊断或治疗的应用。

#### 知识产权:

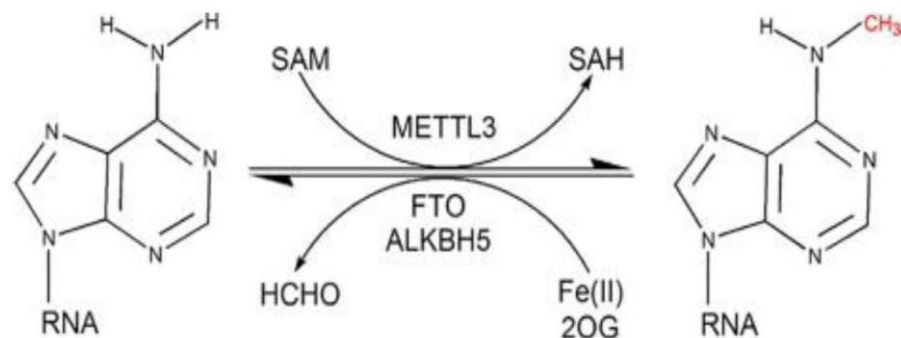
m<sup>6</sup>A RNA甲基化定量检测试剂盒（荧光法）中使用的原理和方法,我司有产品使用的追索权。

## 产品简介

众所周知，在真核生物中，m6A (N6-methyladenosine)是在 RNA 分子中最常见的和丰富存在的。这种修饰是由 m6A 催化甲基转移酶复杂 METTL3 和最近发现的 m6A RNA 去甲基转移酶如 FTO 和 ALKBH5，这种 m6A RNA 去甲基是以  $\alpha$ -ketoglutarate m6A( $\alpha$ -KG)-和  $Fe^{2+}$ 方式进行的。结果表明，在许多生物过程中，如从生命发展和代谢生育，METTL3, FTO 和 ALKBH5 扮演着重要角色。超过 80%的 m6A 是以 RNA 甲基化的形式存在于不同的物种。m6A 主要分布在 mRNA 和也发生在非编码 RNA (ncRNA) 如 tRNA, rRNA 和 snRNA。相对丰富的 m6A 在 mRNA 转录时已经表明影响核糖核酸代谢过程，如拼接，核出口，翻译能力和稳定性，RNA 转录。异常甲基化水平的 m6A 诱导缺陷甲基化酶和 m6A RNA 去甲基酶可能导致 RNA 功能障碍的和疾病发生。例如，异常低水平在正常 m6A 目标由于增加患者 FTO 活动、FTO 基因突变，通过迄今还未通路，导致了肥胖和相关疾病的发作。动态和可逆化学 m6A 修饰，在 RNA 中也可以作为一种新颖的表观遗传标记的生物学，意义深远可以预见。因此，更多的有用的信息，更好地理解 m6A RNA 甲基化水平和分布对 RNA 转录、诊断和治疗疾病非常有益。

该产品中，总RNA必将结合在微孔板上，使用一种高特异性的RNA溶液方案。使用特异性较强的捕获抗体和检测抗体来分析m6A。检测产生的增强信号，然后通过读取在微型板分光光度计激发波波长为530 nm处和发射波在590nm 处荧光来进行定量分析。m6A的数量与测量的荧光信号是成正比的。在这个试剂盒中包括阳性和阴性对照。绘制标准曲线（范围:0.02到1 ng的m6A）或单点对应的m6A可以用作阳性对照。因为m6A的含量，在不同的组织，正常和病变的部位，或在处理过以及未处理的条件下，我们建议运行2份样品，以确保信号生成的可信性。这套解决方案将允许研究人员选择定量一个绝对数量的m6A或确定相对m6A RNA甲基化状态的两个不同的RNA样品。

该款产品拥有一套完整的优化缓冲液和试剂体系，可以采用荧光法来定量总RNA中的 m6A (N6-methyladenosine)。对于总RNA (从哺乳动物，各种组织或细胞样本如像培养瓶和培养皿培养的细胞，新鲜和冷冻的组织，石蜡包埋组织，血液，体液，植物，真菌，细菌和病毒等任何样本中提取的) 中m6A 直接定量检测甲基化状态是非常理想的。



在mRNA中m6A甲基化是可逆的（文献1）

对于细胞与组织等样本，**m<sup>6</sup>A RNA甲基化定量检测试剂盒（荧光法）**具有以下优势和特点：

- ③ 极速：类似于 **Elisa** 步骤的荧光法检测方便快捷。整个操作步骤仅需 3 小时 45 分钟。
- ③ 高敏：检测的最低下限为 5 pg 的 m<sup>6</sup>A 。

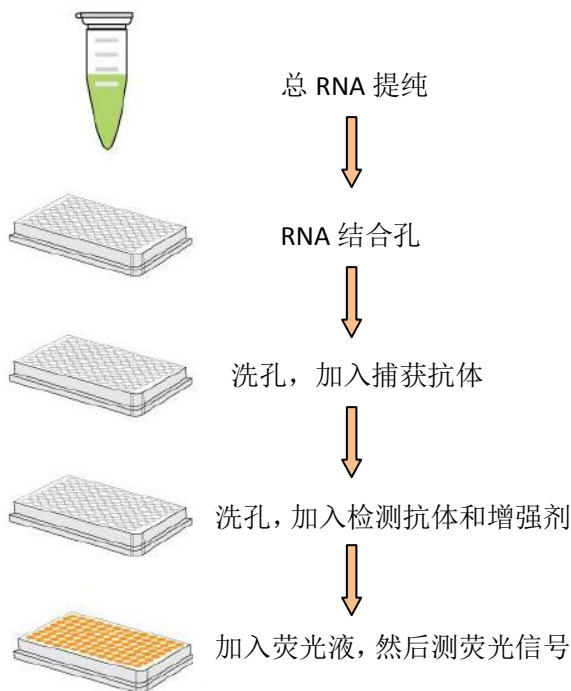
- ③ 特异性好: 独特的结合液容许>70 nts 的 RNA 紧紧的 结合在孔上, 可以定量检测来自 mRNA 和 ncRNA 如 tRNA, rRNA 和 snRNA。
- ③ 专一性强: 优化的抗体和增强剂溶液可以特异的定量检测 m<sup>6</sup>A, 对于特定片段腺苷浓度范围的未甲基化样本 RNA 不会产生交叉反应。
- ③ 普遍性广: 包括的阴性和阳性对照, 对于来自任何种属的 m<sup>6</sup>A 都可以实现定量检测。
- ③ 灵活性好: 96 孔可拆卸板模式使研究人员能根据自己需要选择手工或是高通量模式分析。
- ③ 可信: 操作简便、可信、分析条件始终如一。

### 参考文献:

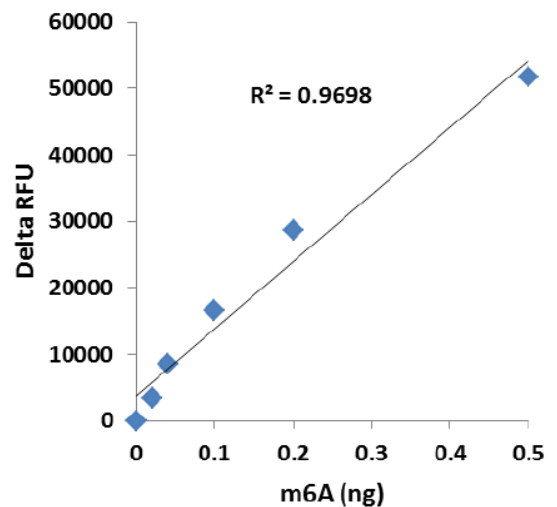
1. Niu Y et al: Genomics, Proteomics & Bioinformatics, 11:2013.
2. Cantara WA, et al. NucleicAcids Res. 2011; 39: D195-201.
3. Motorin Y, Helm M.Nucleic Acids Res. 2010;38(5): 1415-1430.
4. Squires JE, Preiss T.Epigenomics. 2010; 2(5):709-715.
5. Chow CS, et al. ACSChem Biol. 2007; 2(9): 610-619.
6. Baudin-Baillieu A, et al.Nucleic Acids Res. 2009;37(22): 7665-7677
7. Alexandrov A, et al. MolCell. 2006; 21(1): 87-96.
8. Schaefer M, et al. GenesDev. 2010; 24(15): 1590-1595.
9. Helm M. Nucleic AcidsRes. 2006; 34(2): 721-733
10. Motorin Y, Helm M.Biochemistry. 2010; 49(24):4934-4944.

### 原理/步骤

**m<sup>6</sup>A RNA 甲基化定量检测试剂盒 (荧光法)** 提供了所有定量检测总RNA中m<sup>6</sup>A的必要试剂。在这个分析试剂盒中, 使用高效RNA结合液将总RNA绑定在孔板上。使用捕获和检测抗体对于m<sup>6</sup>A进行检测。随着信号的增强然后使用荧光分光光度计读取RFU (relative fluorescence units) 吸光值。m6A的量与测量的荧光单位成比例。



图示: m<sup>6</sup>A RNA 甲基化定量检测试剂盒(荧光法)



m6A RNA 甲基化定量检测试剂盒 (荧光法) 标准曲线

(其中 m6A 标准对照的浓度是不同测量的)



## 用法

### 操作手册

为了得到最好的实验结果，在实验开始前，请通读这个操作手册。

#### 1. 起始材料:

**RNA输入量:** RNA每次反应量范围在100 ng-300 ng。最佳输入量是每次200 ng。起始的RNA应该是在水中或是溶液中比如: TE。你可以使用自己的办法来提取RNA。当然，本手册后附有RNA提取的相关产品。也可加技术微信号: hugasis咨询。

**RNA储存:** 提取好的RNA可以储存在-20° C (短期) 或是在-80° C (长期) 直到使用为止。

#### 2. 溶液和试剂制备:

a. 制备1X Wash Buffer:

**48次试剂盒:** 添加13 ml 的 **WB** (10X Wash Buffer) 到117 ml 的蒸馏水 (最终pH7.2-7.5) 中。

**96次试剂盒:** 添加26 ml 的 **WB** (10X Wash Buffer) 到234 ml 的蒸馏水 (最终pH7.2-7.5) 中。

这个**稀释的WB** 1X Wash Buffer现在可以储存在4° C可达6个月。

b. 制备**稀释的CA** (捕获抗体) 溶液:

使用**稀释的WB** 以1:1000比例**稀释CA** (如: 添加1 ul的**CA**到1000 ul的**稀释的WB**中)。

每个孔中要求添加约50 ul的**稀释的CA**。

c. 制备**稀释的DA** (检测抗体) 溶液:

使用**稀释的WB** 以1:2000比例**稀释DA** (如: 添加1 ul的**DA**到2000 ul的**稀释的WB**中)。

每个孔中要求添加约50 ul的**稀释的DA**。

d. 制备**稀释的ES** (增强液) 溶液:

使用**稀释的WB** 以1:5000比例**稀释ES** (如: 添加1 ul的**ES**到5000 ul的**稀释的WB**中)。

每个孔中要求添加约50 ul的**稀释的ES**。

e. 制备**稀释的阳性对照:**

**单点对照:** 使用1X TE到0.5ng/ul (1 ul **PC** +3 ul TE) **稀释PC** (阳性对照)。

**建议的标准曲线:** 第一, 使用1X TE到0.5ng/ul (如: 3 ul **PC** + 9 ul 1X TE) **稀释PC** (阳性对照)。使用**稀释的WB** 以1:2000比例**稀释DA** (如: 添加1 ul的**DA**到2000 ul的**稀释的WB**中)。然后, 根据如下稀释表使用0.5ng/ul **PC**和1X TE加入到0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2和0.5ng/ul 来制备6个不同浓度, 。

管子	PC(0.5 ng/ul)	1X TE	PC终浓度
1	1.0 ul	49.0 ul	0.01ng/ul
2	1.0 ul	24.0 ul	0.02ng/ul
3	1.0 ul	9.0 ul	0.05ng/ul
4	1.0 ul	4.0 ul	0.1ng/ul
5	2.0 ul	3.0 ul	0.2ng/ul
6	4.5 ul	0.0 ul	0.5ng/ul

**注:** 保证每种稀释液(除**稀释液 WB**)在冰上操作, 直至使用。任何稀释的溶液, 除**稀释的WB**外, 所有不在同一天稀释的溶液都应当丢弃。



### 3. RNA结合:

- a. 预先计算实验所需的8联管数量。小心的从板架上取下暂不需要的联管并将它放回袋子中（紧紧将袋口封上并储存在4° C）。
- b. 添加 80 ul 的 **BS**（结合液）到每孔中。
- c. 添加 2 ul 的 **NC**, 2 ul 的 **稀释的PC**（看下面的注释），和200 ng的你的样本RNA（1-8 ul）到**表1**和**表2**描述的**指定的孔**中。轻柔的从一边到另一边混合溶液或轻轻摇晃板子几次。确保溶液均匀地覆盖住每个孔底。  
**注:** 1) 对于**单点阳性对照**，以步骤2e准备好的浓度0.5 ng/ul 添加 2 ul 的 **PC**；对于**标准曲线**，以步骤2e表中准备好的浓度0.01-0.5 ng/ul 添加 2 ul 的 **PC**。每孔最终的量应该是0.02, 0.04, 0.1, 0.2, 0.4和1 ng。  
2) 为了最佳的结合，RNA的样本量体积不应该超过 8 ul。  
3) 确保 **NC**, **稀释的PC**, 和样本RNA完全添加到孔中，将吸头放在 **BS** 孔溶液中并啐打1-2次。
- d. 使用封板膜或封口条封好联管并在37° C孵育90分钟。
- e. 从每孔上移走 **BS**（结合液）。通过**稀释的 WB** 使用 150 ul **稀释的 WB** 清洗每孔并使用吸头移走溶液。重复清洗2次。总共清洗3次。

### 4. 捕获m6A RNA:

- a. 添加 50 ul 的**稀释液 CA** 到每孔中，然后覆盖并在室温下孵育 60 分钟。
- b. 使用移液器从每孔中移走 **稀释的 CA**。
- c. 每次使用 150 ul 的**稀释的 WB** 清洗每孔3次。
- d. 添加 50 ul 的**稀释的 DA** 到每孔，然后覆盖并在室温下孵育 30 分钟。
- e. 使用移液器从每孔中移走 **稀释的 DA**。
- f. 每次使用 150 ul 的**稀释的 WB** 清洗每孔4次。
- g. 添加 50 ul 的**稀释的 ES** 到每孔，然后覆盖并在室温下孵育 30 分钟。
- h. 使用移液器从每孔中移走 **稀释的 ES**。
- i. 每次使用 150 ul 的**稀释的 WB** 清洗每孔5次。

### 5. 信号检测:

- a. 添加 1ul 的 **FD** 和 1ul 的 **FE** 到 500ul 的 **DB** 中来制备**Fluoro-Development Solution**。
- b.添加 50 ul 的 **Fluoro-Development Solution** 到每孔中并室温避光孵育 1-4 分钟。在这段时间标准品包含更高浓度的孔中颜色可能转变成粉红色。使用荧光分光光度计在

530<sub>EX</sub>/590<sub>EM</sub> nm 处开始测量和读取 RFU（relative fluorescence units）。

**注：**如果联管板架不适合荧光分光光度计，可转移溶液到一个新的96微孔板中，在530<sub>EX</sub>/590<sub>EM</sub> nm 处开始测量和读取 RFU。

## 6. 计算m<sup>6</sup>A

**相对定量：**确定二份不同样本RNA中相对定量的 m<sup>6</sup>A RNA 甲基化状态，采用如下的公式简单计算总RNA中 m<sup>6</sup>A 的百分比。

$$m^6A \% = \frac{(Sample\ RFU - NC\ RFU) \div S}{(PC\ RFU - NC\ RFU) \div P} \times 100\%$$

**S** 是以 ng 计算RNA样本输入量。

**P** 是以 ng 计算阳性对照（**PC**）输入量。

计算举例：

NC RFU 均值是900

PC RFU 均值是10900

样本 RFU 均值是1900

S 是 200 ng

P 是 1 ng

$$m^6A \% = \frac{(1900 - 900) \div 200}{(10900 - 900) \div 1} \times 100\% = 0.05\%$$

**绝对定量：**使用精确的公式绝对定量计算 m<sup>6</sup>A 的量。首先，绘制标准曲线和RFU值（**NC**作为背景-减掉）对应**PC**在每个浓度点的数量。其次，使用线性回归绘制标准曲线（Microsoft Excel的线性回归函数适用于这样的计算）来确定斜率（RFU/ng）。使用最标准的线性回归（至少包含4个浓度点）绘制最为理想的斜率。现在，使用如下的公式计算总RNA中 m<sup>6</sup>A 的量和百分比。

$$m^6A (ng) = \frac{Sample\ RFU - NC\ RFU}{Slope}$$

$$m^6A \% = \frac{m^6A\ Amount (ng)}{S} \times 100\%$$

S 是以 ng 计算RNA样本输入量。

计算举例：

NC RFU 均值是900

样本 RFU 均值是1900

斜率 是 10000 RFU/ng

S 是 200 ng

$$m^6A \text{ (ng)} = \frac{1900 - 900}{10000} = 0.1 \text{ ng}$$

$$m^6A \% = \frac{0.1}{200} \times 100\% = 0.05\%$$

建议微孔板的设置：

表1：我们建议在48次实验（在96次实验中，列7-12作为样本配置）中使用单点的阳性对照。阳性对照和样本一式二份。

Well #	Strip 1	Strip 2	Strip 3	Strip 4	Strip 5	Strip 6
A	NC	NC	Sample	Sample	Sample	Sample
B	PC	PC	Sample	Sample	Sample	Sample
C	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
D	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
E	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
F	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
G	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
H	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample

表2：我们建议在48次实验（在96次实验中，列7-12作为样本配置）中使用标准曲线。阳性对照和样本一式二份。

Well #	Strip 1	Strip 2	Strip 3	Strip 4	Strip 5	Strip 6
A	NC	NC	Sample	Sample	Sample	Sample
B	PC 0.02 ng/well	PC 0.02 ng/well	Sample	Sample	Sample	Sample
C	PC 0.04 ng/well	PC 0.04 ng/well	Sample	Sample	Sample	Sample
D	PC 0.1 ng/well	PC 0.1 ng/well	Sample	Sample	Sample	Sample
E	PC 0.2 ng/well	PC 0.2 ng/well	Sample	Sample	Sample	Sample
F	PC 0.4 ng/well	PC 0.4 ng/well	Sample	Sample	Sample	Sample
G	PC 1 ng/well	PC 1 ng/well	Sample	Sample	Sample	Sample
H	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample

**建议工作液和溶液的设置：**
**表3：** 对于以次操作手册定义的实验孔要求的工作液和溶液数量。

Reagents	1 well	8 wells (1 strip)	16 wells (2 strips)	48 wells (6 strips)	96 wells (12 strips)
Diluted WB	2.5 ml	20 ml	40 ml	120 ml	240 ml
BS	80 $\mu$ l	640 $\mu$ l	1300 $\mu$ l	3900 $\mu$ l	8000 $\mu$ l
Diluted CA	50 $\mu$ l	400 $\mu$ l	800 $\mu$ l	2400 $\mu$ l	4800 $\mu$ l
Diluted DA	50 $\mu$ l	400 $\mu$ l	800 $\mu$ l	2400 $\mu$ l	4800 $\mu$ l
Diluted ES	50 $\mu$ l	400 $\mu$ l	800 $\mu$ l	2400 $\mu$ l	4800 $\mu$ l
Fluoro-Developer Solution	50 $\mu$ l	400 $\mu$ l	800 $\mu$ l	2400 $\mu$ l	4800 $\mu$ l
NC	N/A	0.5 $\mu$ l – 1 $\mu$ l	0.5 $\mu$ l – 2 $\mu$ l	1 $\mu$ l – 4 $\mu$ l	2 $\mu$ l – 8 $\mu$ l
PC	N/A	0.5 $\mu$ l – 1 $\mu$ l	0.5 $\mu$ l – 2 $\mu$ l	1 $\mu$ l – 4 $\mu$ l	2 $\mu$ l – 8 $\mu$ l

## 附录

### 疑难解答

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
在阳性对照和样本孔中无信号	试剂被不正确的加入	确保试剂加入的恰当顺序，可能在操作中省略的任何步骤。
	在 RNA 结合前孔被不当的清洗	确保在添加阳性对照和样本前，孔 <b>不</b> 被清洗。
	孔的底部没有被 BS（结合液）完全覆盖	通过从一边到另一边轻柔的或轻轻的摇晃板子几次来让溶液覆盖孔的底部。
	孵育时间和温度不正确	确保孵育时间和温度像操作手册中描述的被正确的设置。
	不正确的材料输入	确保足够的阳性对照（>0.02 ng）和样本（200 ng）被加入到孔中。
	不正确的读取荧光值	检查荧光分光光度计是否采用恰当的波长（530EX/590EM nm）读取。
仅 PC（阳性对照）孔中无信号或微弱信号	试剂盒被不恰当储存或不当的处理	确保试剂盒所有的组件是采用恰当的温度储存并在每次使用完后将盖子盖紧。
	在第 3c 步没有添加足够的 PC（阳性对照）到孔中	确保添加足够的 PC（阳性对照）。
	由于不恰当的储存条件导致 PC（阳性对照）降解	遵守操作手册中对于 PC（阳性对照）运输和储存条件的说明。



在阴性对照孔中存在高背景	没有足够的清洗孔	根据操作手册检查是否每一步都进行了清洗。
	样本或阳性对照受到污染	确保孔没有被样本或阳性对照或来自任何吸头的污染。
	孵育时间太长	确保在第 3d 步中孵育时间没有超过 2 小时。
	荧光过度显影	减少第 5b 步中的显影时间。
仅在样本孔无信号或微弱信号	不正确的提取或纯化 RNA	确保 RNA 样本是高质量的。260/280 比值应该>1.9 且无或很少 DNA 的污染。
	加入到孔中的样本量不够	确保在第 3c 步骤中使用了足够的 RNA 数量。
	样本中包含很少或无 m <sup>6</sup> A	N/A
复孔变化巨大	由于移液器吸取溶液的倍数不一致，导致荧光反应没有均匀的发生。	在每次溶液添加时，无论是在同时添加复孔或反向也要保证 <b>Fluoro-Development Solution</b> 的添加时始终如一的。
	由于添加溶液的顺序不一致，导致荧光反应没有均匀的发生。	确保所有的溶液，尤其是 <b>Fluoro-Development Solution</b> ，每次按照其他溶液操作时同样的添加顺序来操作。
	由于吸液体积不一致，导致加入溶液的量不一致。	确保溶液每次在移液器吸头端是一样的。跟多通道移液器的操作是一致的。在添加任何溶液之前，都要平衡移液器的吸头。确保溶液，尤其是添加这些少量体积时（eg:1ul）是完全的添加到了孔中。
	溶液或抗体没有实际的添加到孔中。	不容许移液器的吸头触碰到孔的外边缘和内边缘防止溶液沾在其表面。
	在 3c 步骤添加样本或阳性对照后，没有足够的摇晃溶液。	在水平面上轻柔且均匀的摇晃板子为了让溶液更好地分布在孔底部。不要搅拌。
	整个实验过程中，不要使用同一把移液器。	使用同一把多道移液器在整个实验中，可能由于性能导致操作过程中吸液不准。
捕获抗体出现空管或体积不够	由于少量体积溶液的蒸发，导致抗体的浓度更高。	添加 1X PBS 溶液到捕获抗体直至恢复到正确量。根据试剂盒精确计算各溶液的体积和内容。在正式操作之前，最大程度的混合和离心。



## 订购信息

货号	品名	规格
A-P-9008	m <sup>6</sup> A RNA 甲基化定量检测试剂盒(荧光法)	48 次、96 次
A-P-9005	m <sup>6</sup> A RNA 甲基化定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-9010	m <sup>6</sup> A DNA 甲基化定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-9015	尿液样本 m <sup>6</sup> A RNA 定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-R5002	EZ RNA 甲基化修饰试剂盒	200 次
A-P-9003	RNA 甲基化修饰试剂盒	50 次、100 次

## 推荐产品

### RNA 和 microRNA 样本的制备:

货号	品名	规格
A-R1202	A&D TRIpure 高纯总 RNA 快速提取试剂盒（离心柱）	50 次、100 次
A-RH110	细胞/组织总 RNA 提取试剂盒（离心柱）	50 次、200 次
A-R5311	石蜡包埋组织 microRNA 快速提取试剂盒（离心柱）	50 次、100 次
A-R4002	A&D 血液总 RNA 快速提取试剂盒（液体样本,离心柱）	50 次、100 次
A-RH710	血液总 RNA 小量提取试剂盒（离心柱）	50 次、200 次
A-R5908	血液（液体样本）microRNA 快速提取试剂盒 III 型（柱型）	50 次、100 次
A-R3202	多糖多酚植物总 RNA 快速提取试剂盒（离心柱）	50 次、100 次
A-R3302	A&D 通用植物总 RNA 提取试剂盒（离心柱型）	50 次、100 次
A-RH130	植物总 RNA 提取试剂盒（离心柱）	50 次、200 次
A-R5331	通用植物 microRNA 快速提取试剂盒（柱型）	50 次、100 次

### 特定基因DNA甲基化定性定量试剂盒和全基因组DNA甲基化定量试剂盒:

货号	品名	规格
A-P-1016	DNA 甲基化直接修饰试剂盒	40 次、80 次
A-P-1026	DNA 甲基化极速修饰试剂盒	50 次、100 次
A-P-1028	快速 MS-qPCR 试剂盒	100 次、200 次
A-P-1029	Epiquick qPCR 快速试剂盒	100 次、200 次
A-P-1034	DNA 甲基化定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-1035	DNA 甲基化定量检测试剂盒(荧光法)	48 次、96 次
A-P-1036	DNA 羟甲基化定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-1037	DNA 羟甲基化定量检测试剂盒(荧光法)	48 次、96 次

### 相关产品

货号	品名	规格
A-RH113	总 RNA 提取试剂盒	50 次、200 次
A-RQ110	A&D Pur-zol™ Reagent	100ml、200ml
A-E2001	ZymoTaq DNA Polymerase	50 次、200 次



## 如何下单

1. 电话，传真或邮件订购:

技术电话：010—57225208； 传真：010—52406250；

邮件：[ordering@aderr.com](mailto:ordering@aderr.com)

2. 在线定单订购:

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1771&t=1474>

## 推荐阅读

1. RNA 甲基化修饰和定量？惊呆了我和小伙伴们!!!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=30829>

2. A&D Technology Corporation 解码神秘的 RNA 第 5 个碱基---m6A(N6-methyladenosine)

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=30227>

3. 艾德科技史上最全表观遗传学产品线与服务，让你的研究冰爽一“夏”!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=27858>

4.“新四大碱基”的确定，对于生物学研究者的几点启示!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=2566&t=3623&id=21290>

5. 科学家发现新型 DNA-microDNA!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=20763>

6. 艾德科技为您提供“一站式”的产品与服务!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=20739>

7. A&D Technology Corporation 长期供应下一代超高敏测序系列产品!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=30108>





公众号：AD-Bio



订阅号：Bio-888



**艾德科技（北京）有限公司**  
**A&D Technology Corporation**

地 址：北京昌平区中关村生命科学园东 60 米艾德园（102206）

电 话：010-52406250

传 真：010-52406250

网 址：[www.aderr.com](http://www.aderr.com)

Email:[tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com)