

TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液

货号: **A55162, A55163, A55164**

文档编号 100114403 发布号 MAN0028044 版本 C.0

注: 有关安全和生物危害指南, 请参阅 TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 一步法多重预混液用户指南《TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液用户指南》(发布号: MAN0028043)。查看《安全数据表》(SDS), 并且按照处置说明进行操作。穿戴符合要求的防护目镜、防护服与手套。

产品描述

Applied Biosystems™ TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液可与TaqMan™ 探针和引物一起使用, 用于 DNA 病毒研究。TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液经过优化, 可用于病原体检测与基因表达分析。

试剂组分和储存条件

TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液

组分	体积	储存 ^[1]
足够进行100次20 μL反应的试剂 (货号 A55162)		
TaqMan™ 预混液 (2X)	1 mL	-10 - -30°C ^[2]
ROX™ 参比染料(50X)	40 μL	-10 - -30°C
足够进行500次20 μL反应的试剂 (货号 A55163)		
TaqMan™ 预混液 (2X)	5 mL	-10 - -30°C ^[2]
ROX™ 参比染料(50X)	200 μL	-10 - -30°C
足够进行5000次20 μL反应的试剂 (货号 A55164)		
TaqMan™ 预混液 (2X)	50 mL	-10 - -30°C ^[2]
ROX™ 参比染料(50X)	2 mL	-10 - -30°C

[1] 我们不推荐使用无霜冰箱储存此预混液。
 [2] TaqMan™ 预混液推荐储存条件为 -10°C 至 -30°C, 首次使用后仍可存储于2°C至8°C。

注意: 当存储在-10°C至 -30°C或2°C至8°C, 请在瓶身标注的有效期限内使用。

通用指南

有关产品的其他详细介绍和订购信息, 请查看《TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液用户指南》(刊发号 MAN0028043)。

- TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液的实时 PCR 可以用 DNA 进行。
- 将分离的核酸在 -86°C 至 -10°C 的温度下储存。

准备 PCR 反应

如果储存在 -20°C, 在冰上解冻试剂和核酸样本。

倒置试管重悬核酸样本, 然后轻轻涡旋。

- 按下表所示, 准备 TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液和检测组分所需的反应次数, 每种组分的添加量应在下表所列体积的基础上再加 10%, 以防移液损失。

96 孔 (0.2-mL) 板的组分体积

组分	每次反应的体积 ^[1]
TaqMan™ 预混液	10 μL
ROX™ 参比染料 (可选)	0.4 μL
目标特异性引物和探针 ^[2]	1 μL
样本	可变 ^[3]
不含核酸酶的水 (未经 DEPC 处理)	补充至 20 μL
每次反应的总体积	20 μL

[1] TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液热循环方案推荐的反应体积最高为 30 μL。

[2] 若您不使用预设计 TaqMan™ 基因表达检测(20X), 我们推荐您使用终浓度为 400 - 900 nM 的引物和终浓度为 100 - 250 nM 的探针。

[3] 向反应板孔中加入 1 μg 至 100 ng 的样品核酸。

- 用光学贴膜密封反应板, 然后将反应板颠倒至少 5 次。

确保反应板孔中的内容物在贴膜与孔底之间来回移动, 以确保充分混合。

仅供研究使用。不用于诊断治疗。

- 将反应板以 1,400 - 1,900 × g 的速度离心 1 - 2 分钟，收集孔底的内容物。

设置并运行实时 PCR 仪

查看相应的仪器指南，了解热循环条件设置和反应板运行的详细说明。

- 选择合适的循环模式。

TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液可与快速或标准循环模式兼容。

注：对于 QuantStudio™ 5 实时 PCR 系统，96 孔，0.2 mL，建议使用“快速”模式。7500 实时 PCR 系统使用标准循环模式。

- 设置热循环方案。

热循环方案（反应体积 ≤ 30 μL）

实时 PCR 系统	酶活化	PCR (40 个循环)	
	保持 95°C	变性 95°C	退火/延伸 60°C
7500 实时 PCR 系统	2分钟	3秒	30秒
QuantStudio™ 5 实时 PCR 系统，快速循环模式	2分钟	1秒	20秒

- 设置合适的反应体积。
- 将反应板放置到实时 PCR 系统中。
- 开始运行。

分析结果

由于分析方法因应用而异，所以针对在用户定义的检测试剂盒中使用 TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液的实验产生的数据，本方案提供了一般分析指南。有关数据分析或本方案所述程序的详细信息，见仪器的相应文档。

分析指南

- 查看扩增曲线，并根据需要进行修改。
- 在反应孔表或结果列表中，查看每个孔、每个重复组的 C_t 值。
- （针对标准曲线实验）查看标准曲线的相关参数：
 - 斜率
 - 扩增效率
 - R² 值
 - Y 轴截距
 - C_t 值
 - 异常值

基线和阈值概述

可使用实时 PCR 系统软件自动或手动设置扩增图的基线和阈值。

- 基线指荧光信号有轻微变化的初始 PCR 循环阶段。
- 阈值与扩增图的交点决定了实时 PCR 检测试剂盒的 C_t 值。阈值设置在背景信号之上，扩增曲线的指数增长期内。



中国广州市黄埔区康乐二路77号自编号B3栋1至5层、B4栋1至4层
有关产品标签或产品文件上的符号说明，请访问 thermofisher.com/symbols-definition

本指南中的信息可能随时更改，恕不另行通知。

免责声明：在法律允许的范围內，Thermo Fisher Scientific Inc. 和其附属公司不对与本文有关或由本文（包括对本文的使用）引起的特殊、附带、间接、惩罚性、多重或后果性损害负责。

翻译自 MAN0026688 Rev. C.0

修订记录：发布号 MAN0028044

版本	日期	说明
C.0	2023 年 12 月 11 日	更新了生产地址。
B.0	2022 年 8 月 17 日	建议存储条件更新为 -10°C - -30°C。
A.0	2022 年 6 月 1 日	TaqMan™ 乾坤™ 白金™ 多重预混液的新文档。

重要许可信息：本产品可能包含一个或多个有限用标签许可证。使用本产品即表示接受所有适用的有限用标签许可证的条款和条件。

© 2022-2023 Thermo Fisher Scientific Inc. 保留所有权利。除非另有规定，否则所有商标均为 Thermo Fisher Scientific 及其子公司所有。TaqMan 是 Roche Molecular Systems, Inc. 的商标，经许可和授权后使用。