

检测的可信度：TaqPath 通用试剂

Applied Biosystems™ TaqPath™通用试剂针对分子诊断试剂开发和检测应用设计研发。该系列实时荧光定量PCR预混液具有严格的生产质量和卓越的性能，旨在为最为严苛的应用提供可信度和可靠性。现有配方支持使用单重或多重5'-核酸酶检测试剂盒的qPCR和一步法RT-qPCR。每种试剂均按照通用试剂的要求生产并标记，并经过功能性检测确保批次间的重现性，以获得一致的C_t和较宽动态范围。我们在实时荧光定量PCR领域拥有20年的技术经验，一直致力于为实验室提供值得信赖、通用且创新的未来分子诊断工具。



TaqPath™系列预混液的特点：

- 高灵敏度，可检测低拷贝靶标，获得可重复的C_t结果
- 具有较宽动态范围，适用于多重分析应用*
- 能够耐受临床样本中常见的抑制剂
- 制造过程中采用严格的生产流程和流程控制，有助于确保批次间的一致性
- 标示为“供实验室使用”

TaqPath通用试剂	应用	参比荧光染料
TaqPath qPCR预混液, CG	qPCR	ROX
TaqPath一步法qRT-PCR预混液	一步法RT-qPCR	ROX
TaqPath一步法多重预混液	一步法RT-qPCR	MUSTANG PURPLE
TaqPath一步法多重预混液(无ROX)	一步法RT-qPCR	无

TaqPath一步法RT-qPCR预混液

Applied Biosystems™ TaqPath™ 一步法RT-qPCR预混液设计用于稳健、可重现的一步法病原体检测和基因表达工作流程。单管4X配方含有耐高温M-MLV逆转录酶、dNTP、尿嘧啶N-糖基化酶(UNG)、耐高温快速DNA聚合酶，并可选择ROX™染料、MUSTANG PURPLE™染料或无参比荧光染料，有利于反应的设置一只需添加用户提供的检测和样本(图1)。



图1. 简单的TaqPath一步法RT-qPCR预混液工作流程。

高灵敏度

低滴度病原体或转录子检测结果的重复性在临床诊断检测中的重要性，正因如此，我们将TaqPath一步法RT-qPCR预混液优化为较高浓度的(4X)预混液，使每次反应可以加入更多样本，提高了低体积反应的灵敏度。图2显示了当检测10拷贝的RNA靶标时，从三个不同批次中获得的一致 C_t 的结果。图3显示不同属性和不同表达水平的多个检测的 C_t 值具有批次间一致性。

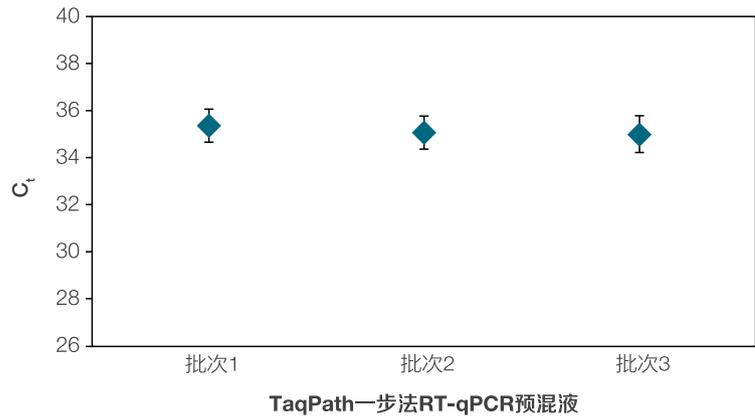
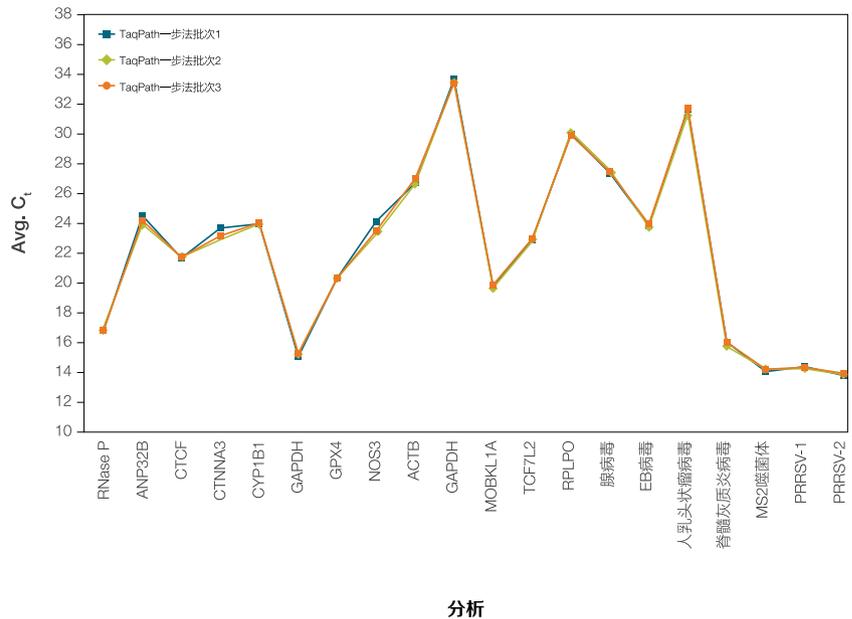


图2. 可靠的低拷贝检测。使用三个不同批次的TaqPath一步法RT-qPCR预混液和RNase P检测扩增含有10拷贝RNA靶标的样本。



分析

图3. 三个不同批次的TaqPath一步法RT-qPCR预混液用于多种分析，具有 C_t 值一致性。使用人类和病毒基因表达分析检测板和三个不同批次的TaqPath一步法RT-qPCR预混液扩增总RNA。三个批次的部分检测结果可以观察到极佳的 C_t 值一致性。

在RNA和DNA样本中均可获得较宽的动态范围

TaqPath一步法RT-qPCR预混液已经过优化，用于RNA和DNA靶标检测可提供高特异性和动态范围。病毒学实验室通常检测RNA和DNA两种病毒，TaqPath一步法RT-qPCR预混液采用了单一的实验方案，可以分析两种类型的核酸。这种加样的灵活性有助于简化不同工作流程的数量，尤其是在病毒学实验室中，可以帮助提高效率。图4显示了RNA和DNA靶标在6个数量级的输入范围内具有极佳的PCR线性度。

Applied Biosystems™ TaqPath™一步法多重预混液适用于多重分析反应，可以同时运行其他外源性或内源性对照或靶标，用于质量控制或提高效率。两种配方的预混液均可与Applied Biosystems™ TaqMan™探针及FAM™、VIC™、ABY™和JUN报告基团染料标记及QSY™淬灭剂结合使用，在一次反应中检测4个靶标。这些报告基团染料经过优化，均可与含有预混液和无ROX预混液的MUSTANG PURPLE参比荧光染料配合使用——光谱重叠极少，且性能最佳。图5显示了TaqPath一步法多重预混液在针对DNA和RNA靶标的4重反应中的性能。

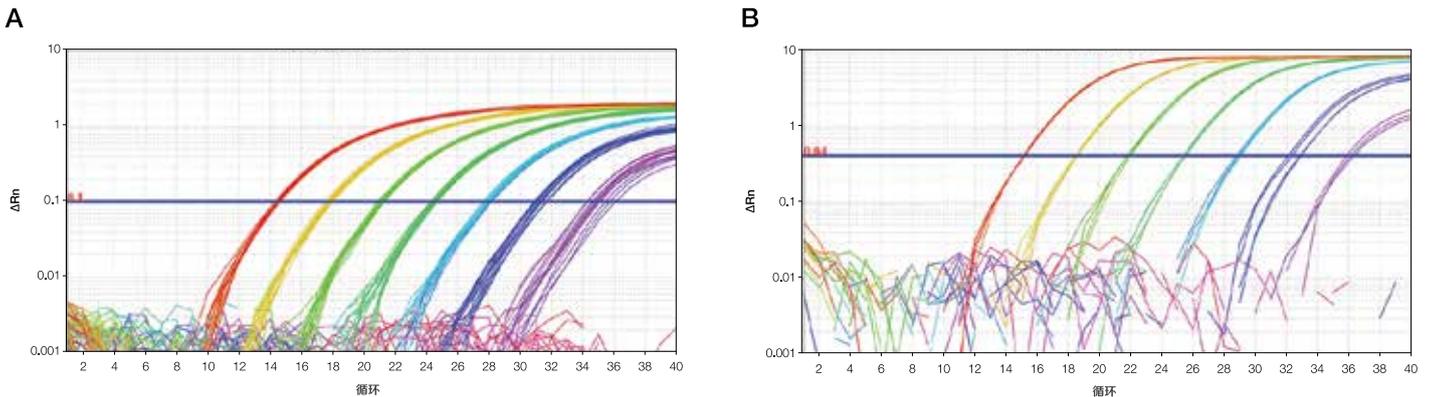


图4. TaqPath一步法RT-qPCR预混液的极佳的动态范围。(A) 使用Applied Biosystems™ ViiA™ 7实时荧光定量PCR系统[†]和脊髓灰质炎病毒检测连续稀释扩增的脊髓灰质炎病毒RNA扩增曲线($R^2=1.0$)。(B) 连续稀释人DNA的扩增曲线，带GAPDH靶标($R^2=1.0$)。

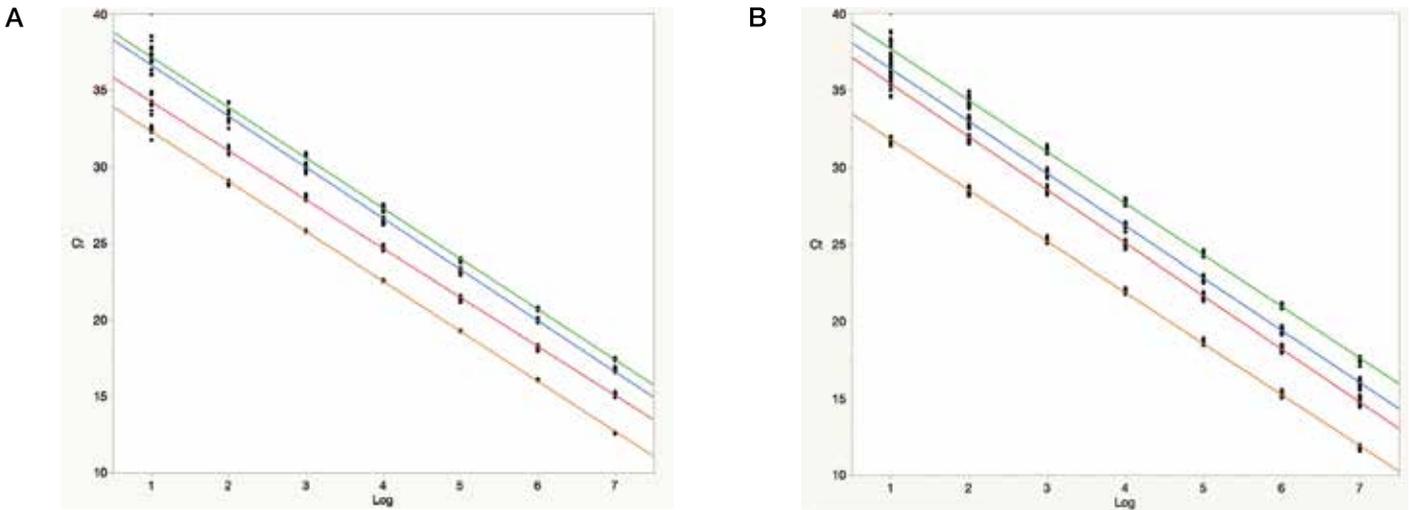


图5. TaqPath一步法多重预混液适用于RNA和DNA靶标的多重分析。(A) 使用6个数量级的人cDNA、TaqPath一步法多重预混液及CD44 (红色)、CYC1(绿色)、TMSB10 (橙色)和G6PD (蓝色)分析进行4重反应的扩增结果。所有靶标的 $R^2=1.0$ 。(B) 使用6个数量级的人RNA、TaqPath一步法多重预混液及CD44 (红色)、CYC1 (绿色)、TMSB10 (橙色)和G6PD (蓝色)分析进行4重反应的扩增结果。所有靶标的 $R^2=1.0$ 。分析探针分别采用FAM、VIC、ABY和JUN染料标记。

针对竞争对手的预混液，对TaqPath一步法RT-qPCR预混液在内部基准研究中进行检测，结果表明在各种靶标中具有相当或更佳检测灵敏度和动态范围(表1)。

抑制剂耐受性

与市场上的其他预混液不同，TaqPath一步法预混液采用的配方即便在有通常抑制PCR的物质(如肝素或血色素)存在的情况下亦可获得稳定的性能，提高了用于各种复杂临床样本的可信度。

图6显示在两种常见的抑制剂存在的情况下，TaqPath一步法多重预混液相比其他三种供应商的一步法试剂盒具有更佳的性能。

TaqPath qPCR预混

Applied Biosystems™ TaqPath™ qPCR预混液的所有批次均经过功能性检测，以帮助确保批次间的重现性，从而实现各种检测中的C_t一致性和动态范围。TaqPath qPCR预混液具有严格的质量和优越的性能，是满足诊断检测或诊断试剂开发需求的理想选择。

分析	TaqPath一步法预混液	供应商R	供应商Q
ANP32B	4	3	4
APOA1	3	4	3
GAPDH	7	7	6
GPX4	6	2	5
TXNDC1	5	5	4
RPLPO (三重)	6	5	5
TFRC (三重)	4	4	3

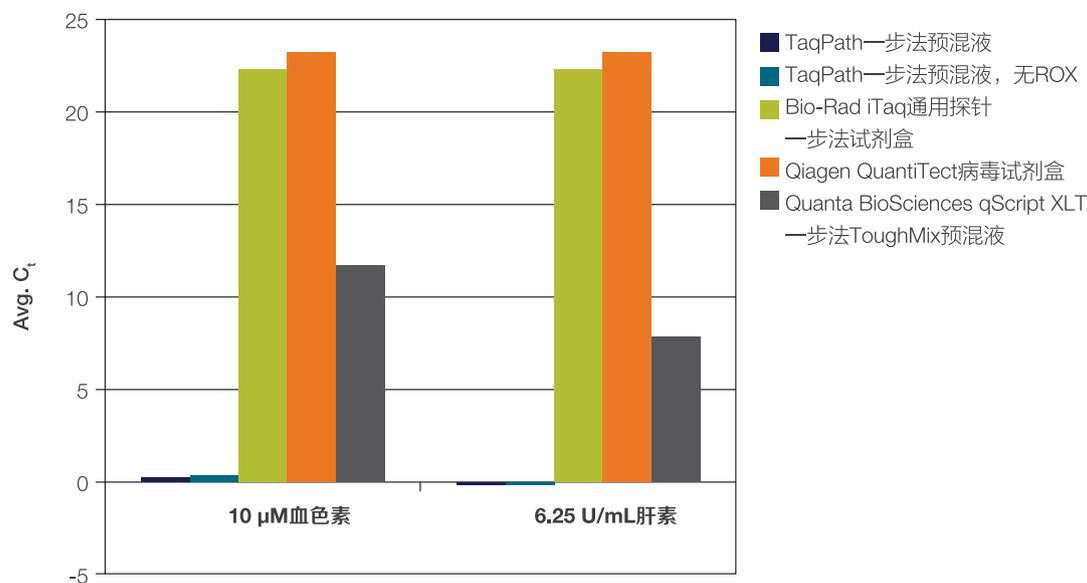


图6. TaqPath一步法多重预混液与其他供应商试剂盒的抑制剂耐受性对比。在RT-qPCR反应中加入两种抑制剂(血色素和肝素)，在Applied Biosystems™ QuantStudio™ 5实时荧光定量PCR系统上评估抑制剂引起的C_t位移的幅度。含和不含抑制剂的反应的C_t值如图所示。这款TaqPath一步法多重预混液中包含作为参比荧光染料的MUSTANG PURPLE染料。

TaqPath qPCR预混液的特点:

- 通过基因表达或miRNA分析*实现高达7个数量级的高效线性检测
- 实现对低拷贝模板的可靠检测, C_t 结果可重现
- 外源或内源性靶标的多重分析性能稳定
- 由ISO 13485认证的工厂生产, 采用了严格的生产和流程控制, 有助于确保批次间一致性
- 标示为“供实验室使用”

TaqPath qPCR预混液为2X配方, 设计用于进行基因表达和miRNA分析。其含有耐高温快速DNA聚合酶、UNG、含有dUTP的dNTP、ROX染料(参比荧光染料)和经优化的缓冲液组分, 因而具有最佳稳定性和重现性。

通过广泛的工作流程进行验证

TaqPath qPCR预混液经验证具有良好特异性和动态范围, 适用于多种实时荧光定量PCR应用。该配方可用于快速或标准循环条件下的各种qPCR平台。图7显示了该配方在基因表达和miRNA分析中, 使用时在7个数量级的模板浓度范围内具有极佳的PCR线性度。

此外, TaqPath qPCR预混液经过设计, 可在预配制反应中保持长达48小时的一致性能。该预混液性能稳定, 使高通量液体处理系统用户在最后一个反应板中获得的结果与第一个反应板的结果一致(图8)。

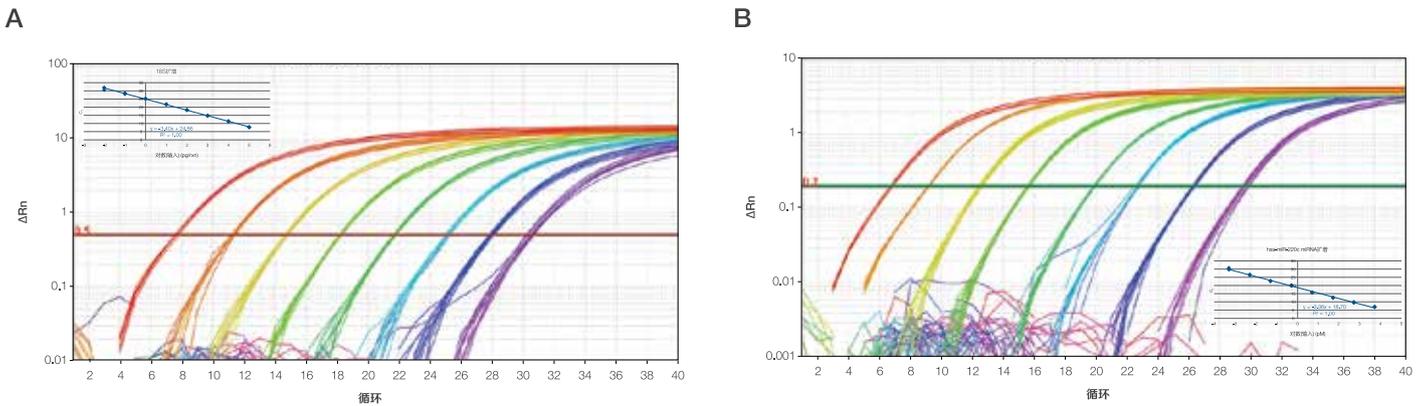


图7. TaqPath qPCR预混液极佳的动态范围。使用ViiA 7实时荧光定量PCR系统†和(A)利用人cDNA连续稀释的18S检测或(B)利用人工模板连续稀释的hsa-miR-220c miRNA检测的扩增曲线。

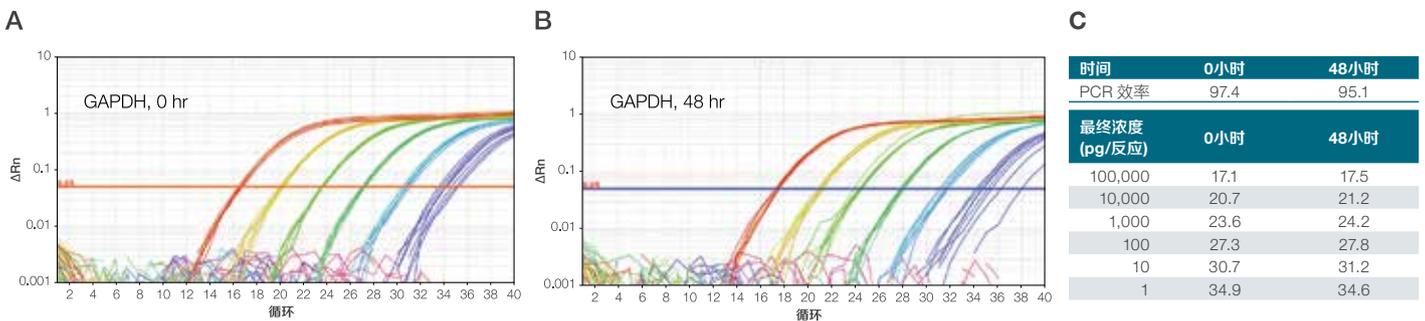


图8. TaqPath qPCR预混液的桌面稳定性。GAPDH基因表达分析在组装后运行或在以下情况下运行: (A) 时间0; (B) 在24°C下保温48小时后; (C) 48小时后的结果显示了与时间0相当的极佳PCR效率、 R^2 值和 C_t 。

针对相似竞争对手的预混液，对TaqPath qPCR预混液在内部基准研究中进行检测，结果表明在各种靶标中具有相当或更佳检测灵敏度和动态范围(表12)。

可重现、灵敏的检测

我们了解可靠地检测低拷贝靶标对检测质量和数据解释的重要性。TaqPath qPCR预混液有助于生成重要的、可重现的C_t值，用于检测≤10拷贝。图9显示了检测10拷贝靶标时，从三个不同批次中获得的一致C_t的结果。不同属性和不同表达水平检测的多个分析的C_t值具有批次间一致性，从而最大程度提升结果的可信度(图10)。

表 2. TaqPath qPCR预混液和其他主要供应商预混液的动态范围对比。各种检测的检测板检测范围的对比(以10倍稀释液数量表示)。检测标准为PCR效率为85%~115%，且R²值>0.98。每份预混液均使用cDNA进行检测，并根据制造商各自推荐的方案运行。在ViiA 7实时PCR系统[†]上进行反应(2~4次重复)。

分析	TaqPath qPCR 预混液快速模式 ~44 min	供应商R 快速模式 ~66 min	供应商Q 快速模式 ~95 min
ACTB	7	7	7
ANP32B	5	3	5
APOA1	7	6	6
FOXD1	4	5	4
HIST1H3F	6	5	5
TMX1	5	3	5
UBC	7	6	7

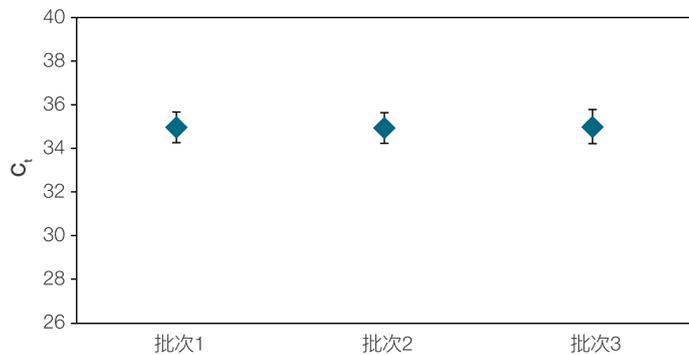


图9. 可靠的低拷贝检测。使用三个不同TaqPath qPCR预混液 批次和RNase P分析扩增含有10拷贝人DNA的样本。

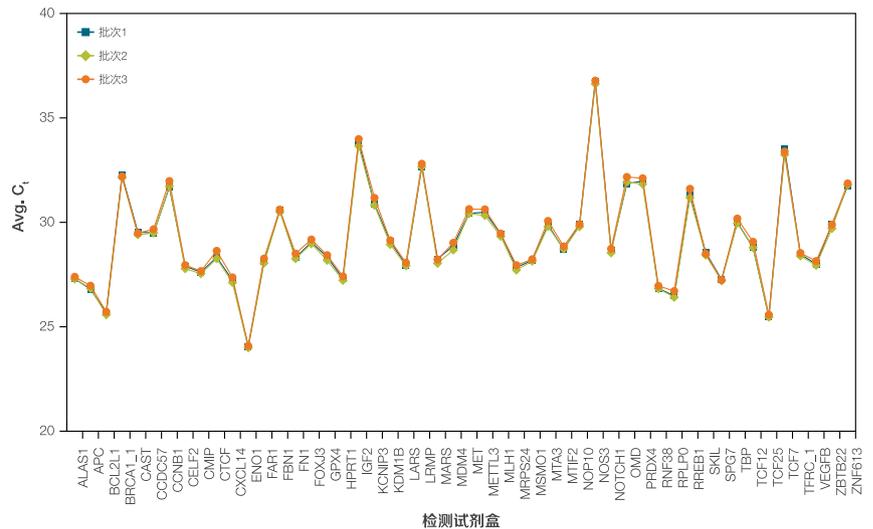


图10. 三个批次的TaqPath qPCR预混液用于多种分析，具有C_t值一致性。使用96个基因表达检测的检测板和三个不同批次的TaqPath qPCR预混液扩增人cDNA。三个批次的部分检测结果可以观察到极佳的C_t值一致性。

已经过优化，可用于多重分析

同时对多个分析进行扩增，不仅有利于作为对照品以规范和检测实验中的异常现象，还有利于提高实验室的效率并节约成本。TaqPath qPCR预混液已经过优化，从而使酶和其他组分的浓度在保持特异性的同时有利于多重分析，并在每个生产批次中验证了其双重反应性能(图11)。

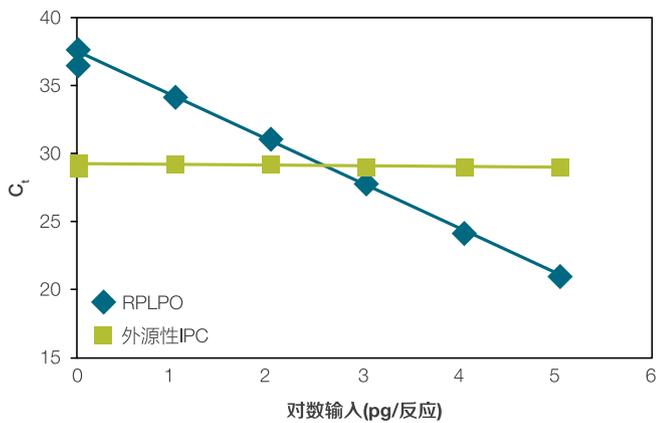


图11. TaqPath qPCR预混液已经过优化，可用于多重分析。显示了使用人cDNA和采用外源性内部阳性对照(IPC)的RPLPO (大型核糖体蛋白)分析进行双重反应的扩增结果。

抑制剂耐受性

与市场上的其他预混液不同，TaqPath qPCR预混液采用独特的专利配方，即使在有通常抑制PCR的物质(如肝素和血色素)存在的情况下亦可获得稳定的性能，提高了用于各种复杂临床样本的可信度。内部对比研究显示，TaqPath™预混液的抑制剂耐受性高于其他供应商的预混液(图2)。

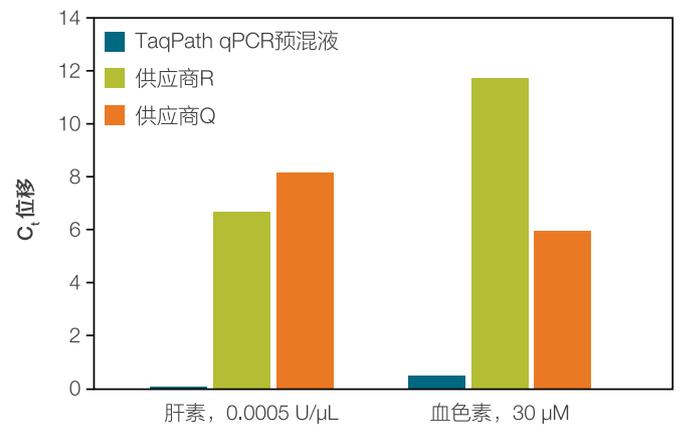


图12. TaqPath qPCR预混液与其他供应商试剂盒的抑制剂耐受性对比。在RT-qPCR反应中加入两种qPCR抑制剂(肝素和血色素)，评估抑制剂引起的Ct位移的幅度。不含抑制剂的反应的Ct从基线值的变化如图所示。

生产和流程控制

TaqPath预混液依据质量管理体系生产，该体系采用质量可追溯的原材料和经验证的操作程序。TaqPath™产品拥有成熟的生产控制措施(从采购到QC放行)，可提供极佳的批次间一致性。

通用试剂

TaqPath预混液标示为“For Laboratory Use”。我们致力于为客户提供最高质量的产品、服务和支持。

订购信息

产品	数量	反应次数(20 µL)	货号
TaqPath一步法RT-qPCR预混液, CG	5 x 1 mL	1,000	A15299
	1 x 10 mL	2,000	A15300
TaqPath一步法多重预混液	1 x 0.5 mL	100	A28525
	5 x 1 mL	1,000	A28526
	1 x 10 mL	2,000	A28527
TaqPath一步法多重预混液(无ROX)	1 x 0.5 mL	100	A28521
	5 x 1 mL	1,000	A28522
	1 x 10 mL	2,000	A28523
TaqPath qPCR预混液	1 x 5 mL	500	A15297
	2 x 5 mL	1,000	A16245
	5 x 5 mL	2,500	A16247
	10 x 5 mL	5,000	A16248
	1 x 50 mL	5,000	A15298

* 动态范围与实验分析、样本中模板浓度及预混液配方相关；因此单次实验结果可能会有不同。

† ViiA 7 实时荧光定量PCR系统仅供研究使用。不用于诊断程序。

有关更多信息，请登录 thermofisher.cn/taqpath



赛默飞
官方微信



赛默飞
Applied Biosystems
官方微信

免费 800 820 8982
服务电话 400 820 8982
www.thermofisher.cn

ThermoFisher
SCIENTIFIC