

TaqMan® Fast Virus 1-Step Master Mix 简要操作说明

货号	包装规格	保存条件
4444432	1 × 1 mL	-15 度~ -25 度 ^[1]
4444434	5 × 1 mL	
4444436	1 × 10 mL	

^[1] TaqMan® Fast Virus 1-Step Master Mix 在-20 度时不会冻结，但可能会呈凝胶状。

本操作说明提供了 TaqMan® Fast Virus 1-Step Master Mix 的简要操作指南。更详细信息，请至赛默飞世尔官方网站下载英文版说明书：

https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/4453800_Taq-Fast-Virus-MMix_UG.pdf

一. 配制反应体系

1. 将各组分置于冰上解冻，颠倒混匀，离心，置于冰上备用。注意：TaqMan® Fast Virus 1-Step Master Mix 是 4×的，比其他大多数 master mix 都要粘稠，操作前请确保所有组分都充分混匀。
2. 按照下表将各个组分加入反应板中。配制多个反应孔时，请为各组分预留 10%的余量，以免移液损失。

快速反应体系：

组分	20 μL 体系	注意事项
4×TaqMan® Fast Virus 1-Step Master Mix	5 μL	—
TaqMan® Gene Expression Assay (20×) 或 Custom TaqMan® Gene Expression Assay (20×)	1 μL	如果使用的不是 TaqMan® Gene Expression Assay, Applied Biosystems 建议使用引物终浓度 400-900 nM, 探针终浓度 100-250 nM。
样品*	根据需要调整	根据需要可以使用尽可能多的样品，只要加入量不超过反应总体积。
RT-PCR Grade Water	根据需要调整	补足到 20 uL
总体积	20 μL	—

标准反应体系：

组分	50 μ L 体系	注意事项
4×TaqMan [®] Fast Virus 1-Step Master Mix	12.5 μ L	—
TaqMan [®] Gene Expression Assay (20×) 或 Custom TaqMan [®] Gene Expression Assay (20×)	2.5 μ L	如果使用的不是 TaqMan [®] Gene Expression Assay, Applied Biosystems 建议使用引物终浓度 400-900 nM, 探针终浓度 100-250 nM。
样品*	根据需要调整	根据需要可以使用尽可能多的样品, 只要加入量不超过反应总体积。
RT-PCR Grade Water	根据需要调整	补足到 50 μ L
总体积	50 μ L	—

* DNA 或 RNA 样本均可, 逆转录反应并不会对 DNA 样本造成影响。

3. 反应板用光学贴膜封好, 涡旋混匀, 离心, 避免产生气泡。

二. 运行反应程序

快速反应程序

样品体积 \leq 30 μ L					
反应模式	快速				
热循环程序	步骤	阶段	循环数	温度	时间
	逆转录	1	1	50°C*	5 分钟
	逆转录终止/预变性	2	1	95°C	20 秒
	扩增	3	40	95°C	3 秒
60°C				30 秒	

标准反应程序

样品体积 $>$ 30 μ L					
反应模式	标准				
热循环程序	步骤	阶段	循环数	温度	时间
	逆转录	1	1	50°C*	5 分钟
	逆转录终止/预变性	2	1	95°C	20 秒
	扩增	3	40	95°C	15 秒
60°C				60 秒	

*逆转录反应的温度可以在 48 度至 55 度之间进行调整

三. 实验数据分析

针对不同的仪器类型，数据分析也略有不同。一般情况下，数据分析主要包括：

1. 观察扩增曲线，根据需要进行设置，比如：
 - a. 设置合适的基线和阈值线
 - b. 将一些典型的异常值从分析中剔除掉
2. 在孔位表或者结果表中，观察复孔之间的 Ct 值是否有差异。
3. 对于绝对定量，观察标准曲线的斜率、扩增效率、 R^2 值、截距、Ct 值和异常值。

出版编号 MAN0019131 修订版 A



Applied Biosystems
技术支持服务中心
800-820-8982
400-820-8982

Thermo Fisher Scientific Inc.

ThermoFisher
SCIENTIFIC