

环境学院分析测试中心明星仪器推介

【第五期】高通量实时荧光定量 PCR 仪

推介人：田克俭 18844103462

为充分利用仪器设备资源，提高服务科研和人才培养水平，促进资源共享和优化配置，学院分析测试中心特开展“明星仪器设备与技术推介”系列专题活动。

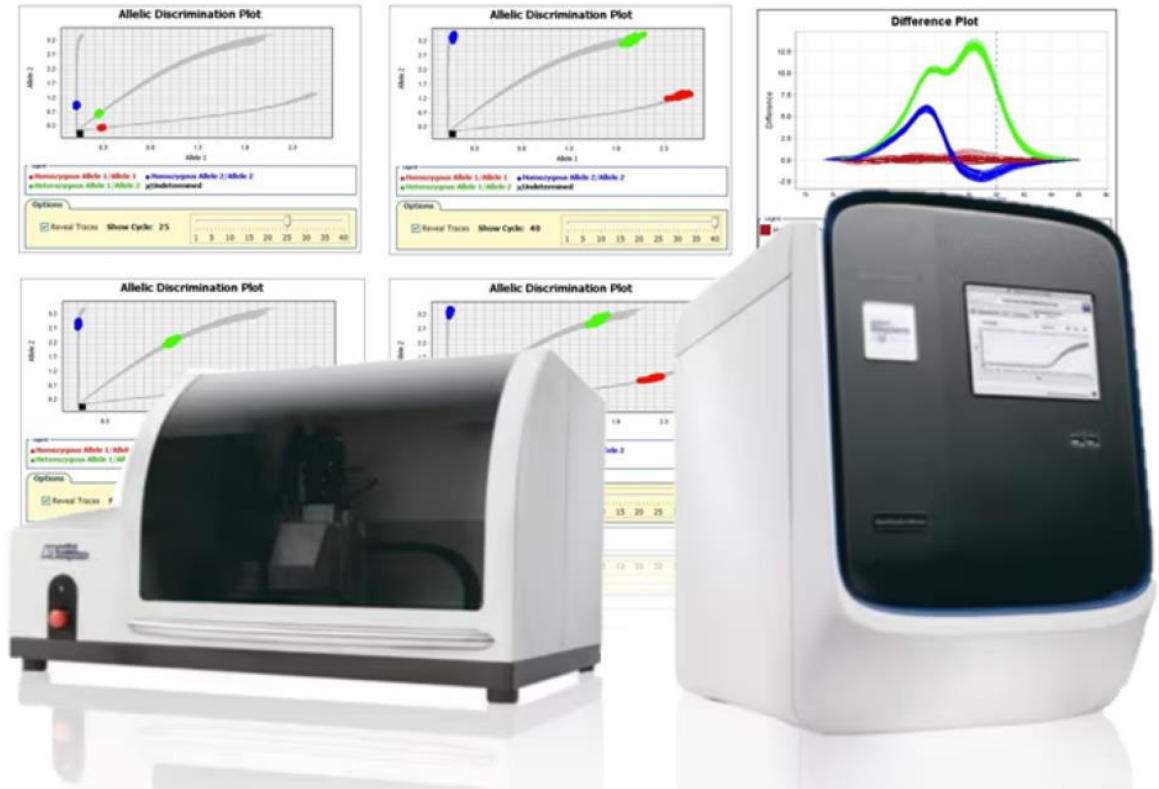
本期推出的明星仪器为高通量实时荧光定量 PCR 仪（QuantStudio 12K Flex, Thermo Fisher Scientific）



仪器简介

QuantStudio 12K Flex 系统是一个高度灵活、高通量的实时荧光定量 PCR 平台，功能丰富的触摸屏界面以及用于基因表达、基因分型和数字 PCR 的综合软件分析工具可以提高生产率。QuantStudio 12K Flex 系统以灵活使用为设计宗旨，具有五种可互换模块，包括 OpenArray 孔板、TaqMan 阵列卡、384 孔板以及 96 孔板，在 4 小时内可以同时运行多达 4 个 3,072 反应 QuantStudio 12K Flex OpenArray 孔板，当与 QuantStudio 12K Flex OpenArray AccuFill 系统结合使用时，QuantStudio 12K Flex 系统可以在 8 小时内生成至少 110,000 个数据点，并且每次运行只需 20 分钟的手动操作时间。

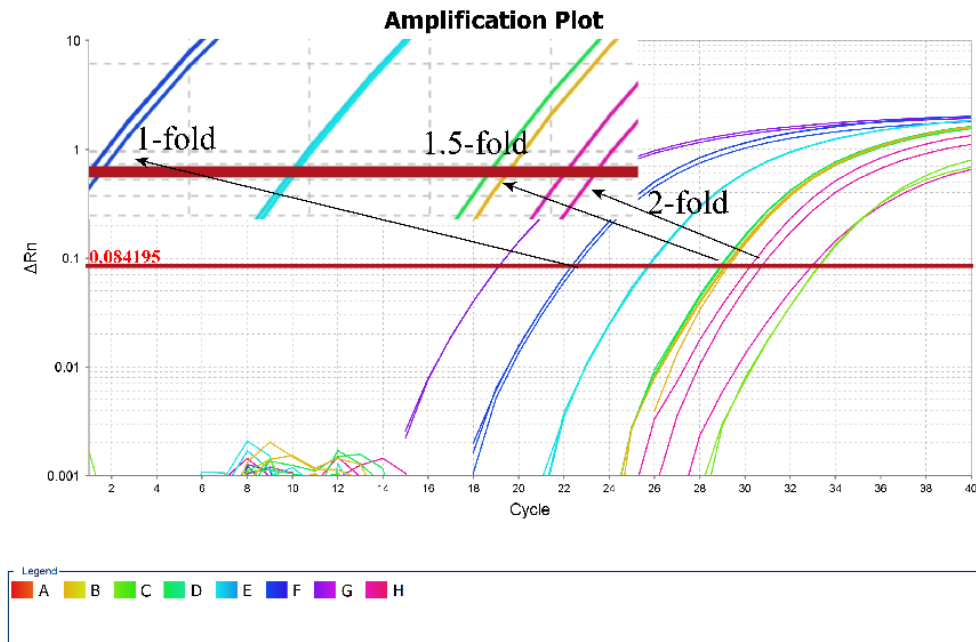




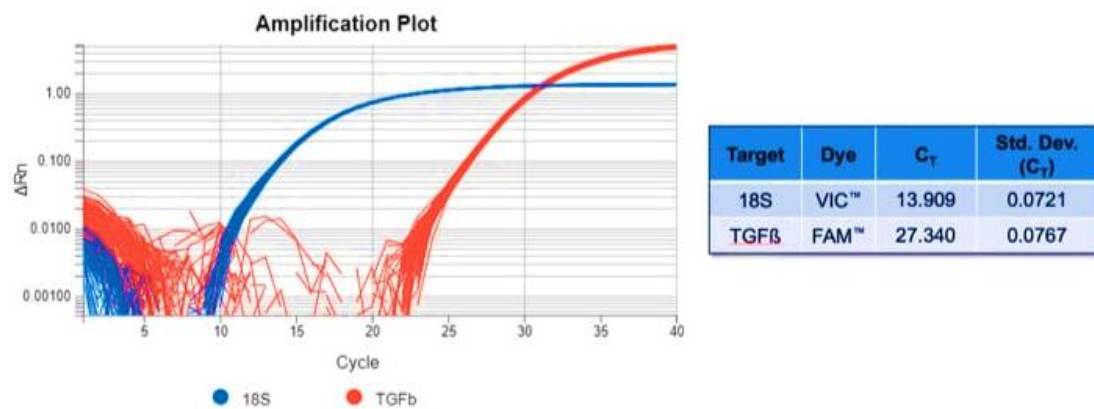
仪器特点

- 高通量：可满足实验室从 12,000 次到单次反应的即时通量需求
- 自动化：兼容微孔板移动器自动化，20 min 内启动 12,000 个数据点实验
- 模块灵活：OpenArray 孔板、TaqMan 阵列卡、384 孔板、96 孔板（0.1 和 0.2 mL）模块， 无需任何工具即可互换
- 多重分析：至多允许检测六个多重靶标
- 软件：QuantStudio 12K Flex software

典型应用 1 基因表达检测



高精度分析：不同的簇表明 QuantStudio 12K 系统具备低倍数差异鉴别能力，置信度可达 99.9%。并且，可以直接使用搭载自动阈值和基线的对应平台软件 QuantStudio 12K Flex software 进行数据分析和编辑。



多重分析：反应可检测 VIC 染料标记的 18S rRNA，并可通过 FAM 标记的 TaqMan 探针和引物检测 TGFβ 基因。该反应采用快速预混液，一式 96 份重复运行。C_T 值结果显示产物分离清晰、一致，各重复样品之间的标准偏差较低，至多可同时检测 6 个靶标。



Deciphering basic and key traits of antibiotic resistome in influent and effluent of hospital wastewater treatment systems

Lin Zhu^{a,c,1}, Ling Yuan^{a,d,e,1}, Xin-Yi Shuai^a, Ze-Jun Lin^a, Yu-Jie Sun^a, Zhen-Chao Zhou^a, Ling-Xuan Meng^a, Feng Ju^{d,e,*}, Hong Chen^{a,b,**}

^a Department of Environmental Engineering, College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

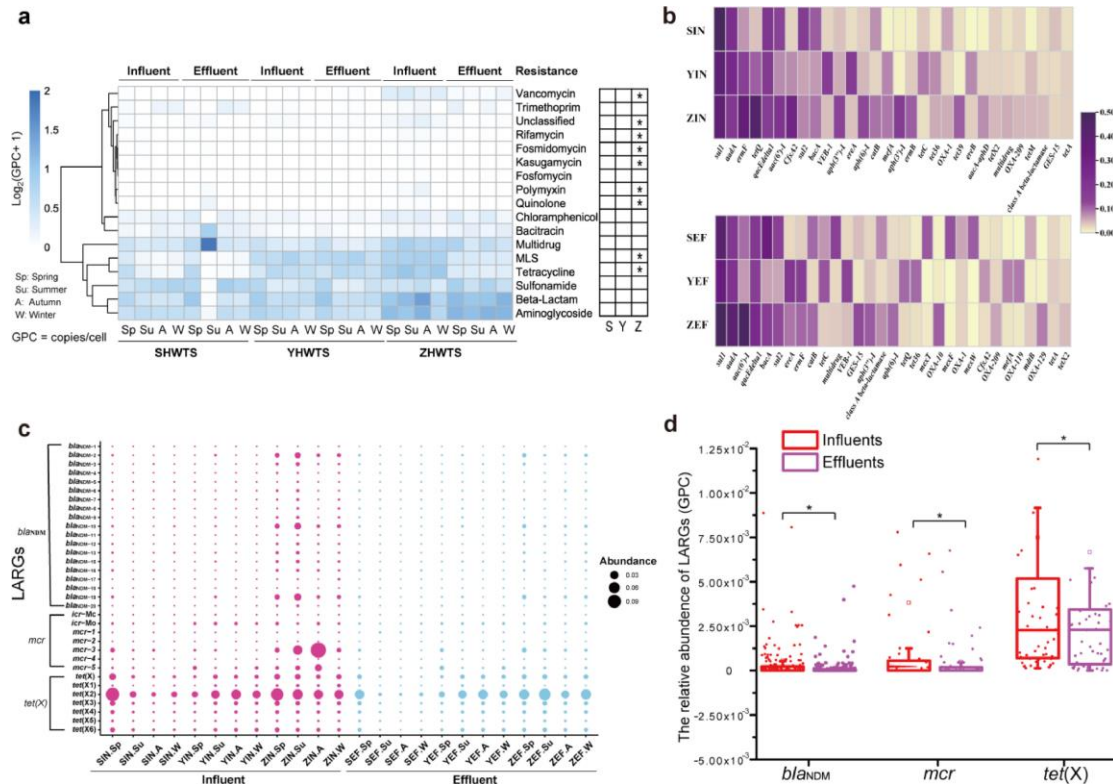
^b Key Laboratory of Environment Remediation and Ecological Health, Ministry of Education, Zhejiang University, Hangzhou, China

^c School of Environmental Science and Engineering, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, China

^d Research Center for Industries of the Future, Key Laboratory of Coastal Environment and Resources of Zhejiang Province, School of Engineering, Westlake University, Hangzhou 310030, China

^e Westlake Laboratory of Life Sciences and Biomedicine, Hangzhou 310024, China

24 个废水样本共包含 20 个 ARG types 和 709 个 ARG subtypes, 分别占 SARG v2.0 数据库中 ARG types 的 80% (25) 和 ARG subtypes 的 57% (1244), 并对几乎所有常见类别的抗生素具有耐药性, 这突显了医院废水是将 ARG 释放到环境中的潜在主要渠道。



典型应用 2 基因分型检测

Fedick et al. *BMC Research Notes*
<http://www.biomedcentral.com/1756-0500/5/573>

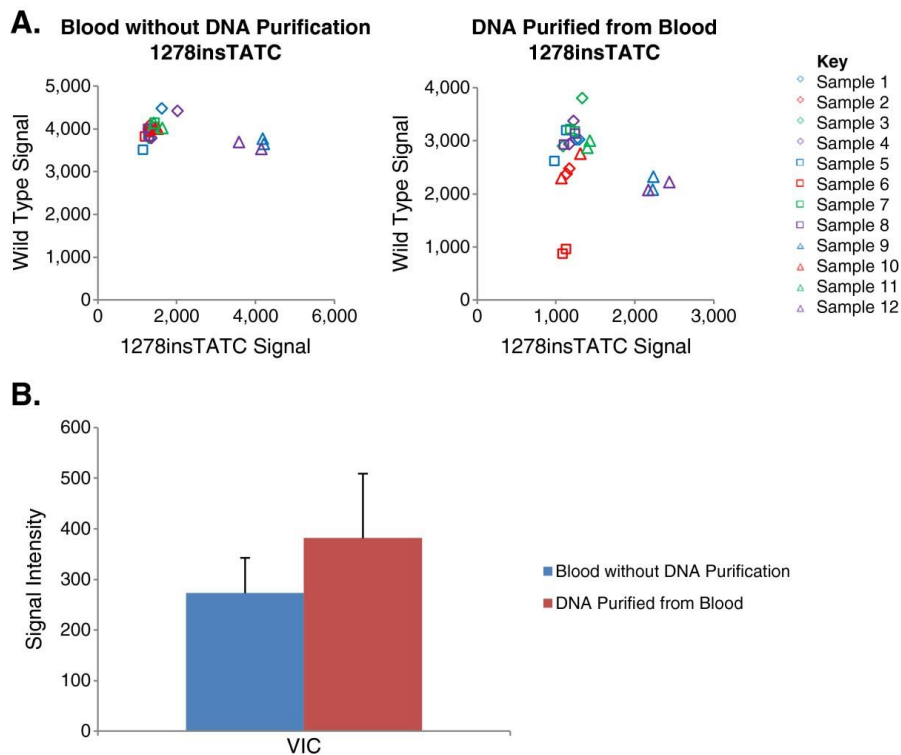
BMC
 Research Notes
 Open Access

TECHNICAL NOTE

High-throughput real-time PCR-based genotyping without DNA purification

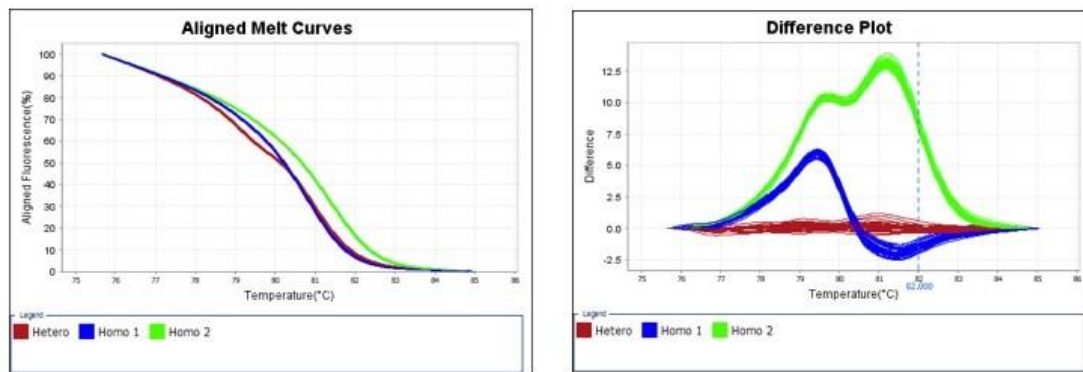
Anastasia Fedick^{1,4*}, Jinq Su², Chaim Jalas³ and Nathan R Treff^{1,2}

基因分型技术可以有效提高检测通量并降低时间和费用成本，应用 QuantStudio™12K Flex 实时荧光定量 PCR 系统对 12 名德系犹太人群体中普遍存在的 60 种不同突变进行了基因分型。直接从血液中进行基因分型的检出率为 99.21%，准确率为 100%。为了进一步确定直接从血液中进行基于 qPCR 的高通量基因分型的能力，对 96 名德系犹太人进行了相同的 60 个突变（5 小时内 5,760 个基因型）的基因分型，检出率为 98.38%，诊断准确率为 99.77%。



典型应用 3 高分辨率熔解曲线分析

High-Resolution Melt (HRM) Analysis 应用程序用于 PCR 后分析，可鉴定核酸序列中的变异。该方法可通过高亮度的 dsDNA 结合染料和 QuantStudio 系统，检测 PCR 溶解（解离）曲线的细微差异。这一系统搭载精确的温升控制功能、高级数据捕获功能和 HRM 分析软件，非常适合 HRM 分析。



Xu et al. *BMC Infectious Diseases*
<https://doi.org/10.1186/s12879-020-05633-z>

BMC Infectious Diseases

RESEARCH ARTICLE

Open Access

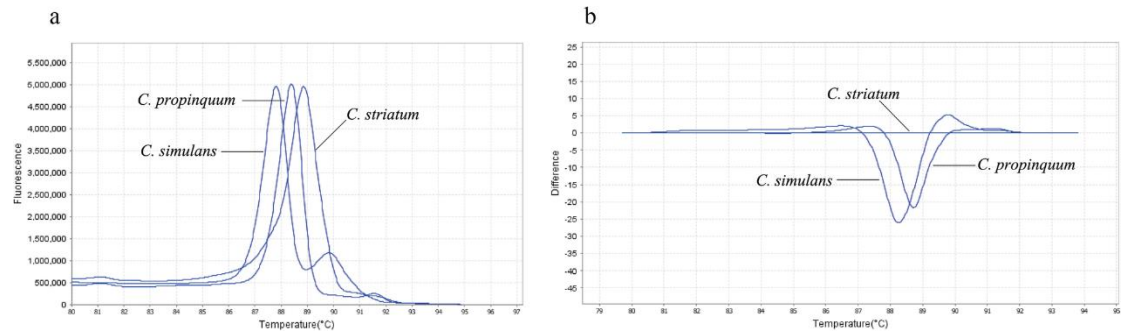
Direct detection of *Corynebacterium striatum*, *Corynebacterium propinquum*, and *Corynebacterium simulans* in sputum samples by high-resolution melt curve analysis

Shuai Xu¹, Xiaotong Qiu¹, Xuexin Hou¹, Haijian Zhou¹, Dongke Chen², Xuebing Wang¹, Lichao Han¹,
 Dan Li¹, Lina Sun¹, Xingzhao Ji¹, Minghui Li¹, Jinqshan Zhang¹, Mengtong Li¹ and Zhenjun Li^{1*}

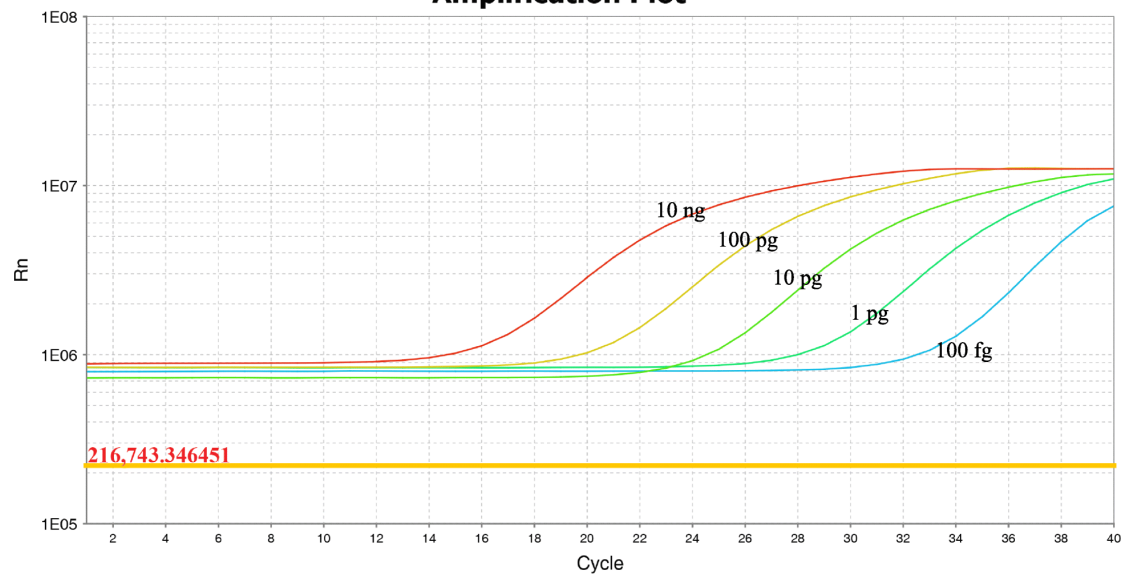


HRM 检测是一种简单、快速、灵敏和特异的诊断工具，用于检测链状念珠菌、丙状念珠菌和模拟念珠菌，具有有助于早期诊断、流行病学监测和快速应对疫情的潜力。一对通用引物的熔解曲线可以生成物种特异性的 HRM 曲线图，将三种目标物种与其他相关细菌区分开来。HRM 测定对 3 种纯化棒状杆菌属 DNA 的检测限为 100 fg。与培养法相比，HRM 增加了 22 个阳性标本，检出率相对

提高了 23.9%。HRM 检测的敏感性为 98.4%，特异性为 100%，与 MCDA 之间的一致性为 95.5%。



Amplification Plot



典型应用 4 微生物群落检测

广谱真菌 TaqMan-OpenArray™检测是否可以代替纯培养检测，以及在常规实验室环境中实施 TaqMan-OpenArray™检测是否具备可行性？通过利用实时 PCR 扩增生物体的基因组 DNA 检测指甲样本中微生物的实验，研发了一种检测高效且易于使用的 TaqMan-OpenArray™™ 指甲微生物群检测方法，可通过实时荧光定量 PCR 表征关键指甲微生物靶标。在所有测试的测定和对照中，指甲组合的分析准确性和特异性分别为 100% 和 99.90%。TaqMan-OpenArray™™ 检测方法速度快且抗污染能力极其强大。

Hindawi
Advanced Gut & Microbiome Research
Volume 2022, Article ID 5143833, 9 pages
<https://doi.org/10.1155/2022/5143833>

Research Article

Analytical Validation of TaqMan™ Assays on the OpenArray™ Platform Using Applied Biosystems QuantStudio™ 12K Flex for the Rapid Identification of Nail Microbiota

Target	Conc.	10	100	1000	10000	100000	1000000	R square	Slope
A. niger_AICSMN								0.9998	-3.32
A. israelii_AP9HMYA								0.9999	-3.35
N. dimidiatum_AP329KC								0.9985	-3.34
S. hyalinum_AP47W2P								0.9997	-3.33
Nocardia_AP7DTKZ								0.9835	-3.08
T. mentagrophytes_AP9HN97								0.9991	-3.41
A. fumigatus_APAACG3								0.9995	-3.18
A. strictum_APCFAW4								0.9999	-3.49
A. alternata_APFVRD9								0.9956	-3.25
A. tenuissima_APKA736								0.9909	-3.18
S. brevicaulis_APMF3XK								0.9985	-3.22
M. guilliermondii_APPRN34								0.9998	-3.42
C. albicans_Fn04646233_s1								0.984	-2.97
C. jeikeium_APYMN3								0.9831	-3.09
C. parapsilosis_Fn04646221_s1								0.991	-2.95
C. tropicalis_Fn04646220_s1								0.981	-3.01
C. neoformans_APAAT7								0.9996	-3.4
T. rubrum_Fn07921933_s1								0.9934	-3.24
E. floccosum_Fn07921937_s1								0.9773	-2.98
Alternaria spp_Fn07921946_s1								0.9884	-3.09
T. interdigitale_Fn07921951_s1								0.9997	-3.4
C. lunata_Fn07921952_s1								0.9851	-3.06
E. solani_Fn07921967_s1								0.9803	-3.11
T. tonsurans_Fn07921974_s1								0.9821	-3.04
G. candidum_Fn07921976_s1								0.9777	-3.08
M. gypseum_Fn07921982_s1								0.9766	-3.08
M. furfur_APCE439								0.9748	-3.01
Methicillin I_Ba04230908_s1								0.9732	-3.08
P. aeruginosa_Ba04932081_s1								0.9837	-3.06
S. aureus_Ba04646259_s1								0.9997	-3.35
T. mucoides_AP326G9								0.9701	-2.98
T. verrucosum_APDJY9N								0.981	-3
Xeno_Ac00010014_a1								0.9997	-3.36

更多应用链接

1. QuantStudio 12K Flex 实时荧光定量 PCR 系统官网

<https://www.thermofisher.cn/cn/zh/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-instruments/quantstudio-systems/models/quantstudio-12-flex.html>

2. 绝对定量简明手册

<https://www.thermofisher.cn/content/dam/LifeTech/Documents/PDFs/china/QuantStudio12K%E7%AE%80%E6%98%8E%E4%B8%AD%E6%96%87%E6%89%8B%E5%86%8C%E4%B9%8B%E7%BB%9D%E5%AF%B9%E5%AE%9A%E9%87%8F.pdf>

3. 相对定量简明手册

<https://www.thermofisher.cn/content/dam/LifeTech/Documents/PDFs/china/QuantStudio12K%E7%AE%80%E6%98%8E%E4%B8%AD%E6%96%87%E6%89%8B%E5%86%8C%E4%B9%8B%E7%9B%B8%E5%AF%B9%E5%AE%9A%E9%87%8F.pdf>

4. 基因分型简明手册

<https://www.thermofisher.cn/content/dam/LifeTech/Documents/PDFs/china/QuantStudio12K%E7%AE%80%E6%98%8E%E4%B8%AD%E6%96%87%E6%89%8B%E5%86%8C%E4%B9%8B%E5%9F%BA%E5%9B%A0%E5%88%86%E5%9E%8B.pdf>