

2021 年 6 月

# Investigator<sup>®</sup> 26plex QS 手册

用于 CODIS 核心基因座、欧洲标准基因座组外加 Penta D、Penta E、D6S1043、DYS391 和 Amelogenin 的多重扩增

# 目录

试剂盒组分 .....	3
存放条件 .....	4
预期用途 .....	4
安全信息 .....	5
质量控制 .....	5
简介 .....	6
用户需准备的仪器和试剂 .....	8
方案：PCR 扩增 .....	10
方案：使用 Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer 进行电泳分析.....	12
方案：分析 .....	26
分析软件 .....	27
对照品 .....	27
内质控 .....	29
故障排除向导 .....	34
参考文献 .....	36
附录 A：结果解读 .....	37
附录 B：使用 Investigator 26plex QS Kit 时的 PCR 体积变通 .....	38
订购信息 .....	39
文档修订历史 .....	41

## 试剂盒组分

<b>Investigator 26plex QS Kit</b>	<b>(100)</b>	<b>(400)</b>
<b>目录编号</b>	<b>382615</b>	<b>382617</b>
<b>25 µl 体系反应数</b>	<b>100</b>	<b>400</b>
Fast reaction mix 3.0* (快速反应混合物 3.0*)	750 µl	4 x 750 µl
Nuclease-free water (无核酸酶水)	1.9 ml	4 x 1.9 ml
Primer mix 26plex QS (引物混合液 26plex QS)	250 µl	4 x 250 µl
Control DNA 9948 (0.5 ng/µl) (对照品 DNA 9948 [0.5 ng/µl])	40 µl	40 µl
Allelic ladder 26plex (等位基因分型标准物 26plex)	25 µl	3 x 25 µl

\* 包含 DNA Polymerase、dNTPs、MgCl<sub>2</sub> 和牛血清白蛋白 (Bovine Serum Albumin, BSA)。

Investigator 26plex QS Kit 已根据中国 GA 认证标准通过了中国安全技术防范认证中心 (China Certification Center for Security and Protection, CSP) 的认证。

---

## 存放条件

Investigator 26plex QS Kit 采用干冰运输。收货后，应立即将其保存在  $-30$  至  $-15^{\circ}\text{C}$  的恒温冰箱中。试剂盒应避免反复解冻和冷冻。引物混合液和等位基因分型标准物需要避光保存。DNA 样本和 post-PCR 试剂（等位基因分型标准物和 DNA 分子量标准物）应与 PCR 试剂分开保存。当满足以上保存条件时，试剂盒的各组分在失效日期内保持稳定。

试剂开盖后，Investigator 26plex QS Kit 应在  $2 - 8^{\circ}\text{C}$  下存放，最长存放时间不应超过 6 个月。

## 预期用途

Investigator 26plex QS Kit 应用于法医鉴定、人类身份确定、亲子鉴定的分子生物学领域。该产品不能用于疾病诊断、预防和治疗。

使用本产品时应遵照产品说明书进行操作。我们建议 QIAGEN® 的所有用户遵照 NIH 颁布的重组 DNA 实验指南以及其他相关实验指南。

---

## 安全信息

工作中如接触化学品，需穿着合适的实验工作服，并戴一次性手套和护目镜。如需更多相关信息，请参阅相关安全数据表 (Safety Data Sheet, SDS)。安全数据表可在 [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) 网页上找到，格式为紧凑、方便的 PDF 文件。在该网页上，您可查找、浏览和打印每一种 QIAGEN 试剂盒及组分的 SDS 文件。

## 质量控制

QIAGEN 依据 ISO 认证的质量管理体系，对每一批次 Investigator 26plex QS Kit 进行质量控制与测试，确保产品质量，并保证产品符合 ISO18385 要求。

# 简介

Investigator 26plex QS Kit 可用于法医鉴定、人类身份识别和亲子鉴定领域的多重 PCR 核酸扩增测试。其 PCR 试剂盒可同时扩增下面列出的 24 个具有多态性的 STR 位点以及性别特异性位点 Amelogenin。

Investigator 26plex QS Kit 的引物混合液 (Primer Mix) 包含 2 种创新的内控扩增反应对照（内质控 QS1 和 QS2），以用于监测扩增反应的效率和扩增抑制物的存在。内质控与多态 STR 位点同时进行扩增。

Investigator 26plex QS Kit 专为快速、可靠地绘制血液、口腔拭子和法医学痕迹的 DNA 基因图而设计。该试剂盒采用 QIAGEN 的快速循环 PCR 技术，能够在大约 65 分钟内完成扩增。它采用了抗抑制物化学试剂，可提供高度稳健的结果。引物采用以下染料作为荧光标记物：

- 6-FAM™: Amelogenin、TH01、D3S1358、Penta D、D6S1043、D21S11
- BTG: TPOX、DYS391、D1S1656、D12S391、Penta E
- BTY: D10S1248、D22S1045、D19S433、D8S1179、D2S1338
- BTR2: D2S441、D18S51、vWA、FGA
- BTP: QS1、D16S539、CSF1PO、D13S317、D5S818、D7S820、QS2

标准条件下 DNA 的推荐用量为 0.5 ng。

表 1 显示了相关 STR 基因座的染色体定位和序列重复性，STR 位点的选择符合国际法医遗传学会 (International Society for Forensic Genetics, ISFG) 的微卫星标记使用指南 (1)。

有关 Investigator 26plex 等位基因分型标准物中未包含的已知微变体信息，请参见国家标准与技术研究院 (National Institute of Standards and Technology, NIST) 网站 ([strbase.nist.gov/](http://strbase.nist.gov/))。

表 1. Investigator 26plex QS Kit 的特定基因座信息

基因座	GenBank® 登记号	参考等位基因的重复序列	染色体定位
Amelogenin X	M55418	-	Xp22.1-22.3
Amelogenin Y	M55419	-	Yp11.2
DYS391	AC011302	[TCTA] <sub>11</sub>	Yq11.21
D1S1656	NC_000001.9	[TAGA] <sub>16</sub> [TGA][TAGA][TAGG] <sub>1</sub> [TG] <sub>5</sub>	1q42
D2S441	AL079112	[TCTA] <sub>12</sub>	2p14
D2S1338	G08202	[TGCC] <sub>6</sub> [TTCC] <sub>11</sub>	2q35
D3S1358	11449919	TCTA [TCTG] <sub>2</sub> [TCTA] <sub>15</sub>	3p25.3
D5S818	G08446	[AGAT] <sub>11</sub>	5q23.2
D6S1043	G08539	[AGAT] <sub>11</sub>	6q15
D7S820	G08616	[GATA] <sub>12</sub>	7q21.11
D8S1179	G08710	[TCTA] <sub>12</sub>	8q23.1-23.2
D10S1248	AL391869	[GGAA] <sub>13</sub>	10q26.3
D12S391	G08921	[AGAT] <sub>5</sub> GAT [AGAT] <sub>7</sub> [AGAC] <sub>6</sub> AGAT	12p13.2
D13S317	G09017	[TATC] <sub>13</sub>	13q31.1
D16S539	G07925	[GATA] <sub>11</sub>	16q24.1
D18S51	L18333	[AGAA] <sub>13</sub>	18q21.3
D19S433	G08036	AAGG [AAAG] AAGG TAGG [AAGG] <sub>11</sub>	19q12
D21S11	AP000433	[TCTA] <sub>4</sub> [TCTG] <sub>6</sub> [TCTA] <sub>5</sub> TA [TCTA] <sub>3</sub> TCA [TCTA] <sub>2</sub> TCCATA [TCTA] <sub>11</sub>	21q21.1
D22S1045	AL022314	[ATT] <sub>14</sub> ACT [ATT] <sub>2</sub>	22q12.3
CSF1PO	X14720	[AGAT] <sub>12</sub>	5q33.1
FGA (FIBRA)	M64982	[TTTC] <sub>3</sub> TTTTCT [CTTT] <sub>13</sub> CTCC [TTCC] <sub>2</sub>	4q28.2
Penta D	AP001752	[AAAGA] <sub>13</sub>	21q22.3
Penta E	AC027004	[AAAGA] <sub>5</sub>	15q26.2
TH01 (TC11)	D00269	[TCAT] <sub>9</sub>	11p15.5
TPOX	M68651	[AATG] <sub>11</sub>	2p25.3
vWA	M25858	TCTA [TCTG] <sub>4</sub> [TCTA] <sub>13</sub>	12p13.31

# 用户需准备的仪器和试剂

工作中如接触化学品，需穿着合适的实验工作服，并戴一次性手套和护目镜。如需获取更多信息，请参考相关的安全数据表 (Safety Data Sheet, SDS)，该表格可从对应产品供应商处获取。

## 所有方案

- Hi-Di™ Formamide, 25 ml (Applied Biosystems, 目录编号 4311320)
- Matrix Standard (荧光矩阵标准物) BT6 (请参见“订购信息”), 可用于多毛细管分析仪 (例如 3500 Genetic Analyzer)
- 移液器和移液器吸头
- 以下 DNA 分析仪之一: \*
- Applied Biosystems® 3500 Genetic Analyzer
- Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyzer
- 以下 PCR 热循环仪之一: \*
- QIAmplicon® 96
- GeneAmp® PCR System 9700
- Veriti™ 96 孔热循环仪
- ProFlex™ 96 孔 PCR 系统
- Bio-Rad® PTC-200
- Biometra® UNO-Thermoblock
- Eppendorf® Mastercycler® ep
- PCR 扩增管或扩增孔板
- 用于离心 PCR 扩增管或扩增板的微型离心机
- DNA 分子量标准物 (BTO), 参见第 26 页 订购信息 和 “方案: 分析”

\*该列表中并未列出所有供应商，很多重要的生物耗材供应商也未列出。

---

## 适用的人类身份鉴定产品相关分析软件

**Investigator** 人类身份鉴定 PCR 试剂盒需采用等位基因分型标准物进行校准。因此，使用的软件必须和用于法医学应用的人类身份鉴定产品兼容。我们推荐 **GeneMapper® ID-X** 软件。**Investigator** 模板文件有助于进行数据分析，且与此软件兼容。

# 方案：PCR 扩增

本方案适用于采用 Investigator 26plex QS Kit 进行的法医样本 STR 基因座 PCR 扩增。

## 实验前准备工作

- 将所有反应试剂置于独立区域，该区域需要与进行 DNA 纯化和 PCR 产物分析（Post-PCR 分析）的区域隔离。
- 使用含有疏水滤膜过滤器的一次性吸头以减低交叉污染风险。
- 标准条件下 DNA 的推荐使用量为 0.5 ng。

## 开始之前的准备事项

- 打开含有 PCR 产物的扩增管前，需进行涡旋混匀和离心，使产物在管底富集。

## 步骤

1. 解冻 PCR 试剂各组分和模板核酸样本。

彻底混匀。使用前需短暂离心处理。

2. 根据表 2 制备预混液。

预混液包含除模板（样本）DNA 和无核酸酶水以外的所有 PCR 反应所需组分。

由于在移液过程中可能会有部分试剂损耗，因此制备的反应混合液体积应当较实际反应数所需体积大。此外，还需包括阳性对照品和阴性对照品反应所需的试剂量。

3. 通过涡旋彻底混匀预混液，短暂离心，然后按所需量加入 PCR 反应管或 PCR 板的反应孔中。
4. 将模板 DNA 和无核酸酶水添加到预混液中，使终体积达到 25  $\mu$ l。
5. 制备阳性对照品和阴性对照品。

**阳性对照品：**使用 1  $\mu$ l 对照品 DNA（即 0.5 ng）。

**阴性对照品：**使用无核酸酶水取代反应中的模板 DNA。

**表 2.反应体系**

组分	单个反应加入量
快速反应混合物 3.0	7.5 $\mu$ l
引物混合液	2.5 $\mu$ l
无核酸酶水（在第 4 步添加）	根据具体情况添加
模板 DNA（在第 4 步添加）	根据具体情况添加
总体积	25 $\mu$ l

6. 如模板 DNA 加在 PCR 管的边缘或盖上，需短暂离心使其富集到管底。

7. 根据热循环仪说明书进行操作，循环条件见表 3。

**提示：**如果采用的是配有铝块的 GeneAmp 9700 热循环扩增仪，则采用“Std Mode”（标准模式），如为 96 孔银块或者镀金银块，则采用“Max Mode”（最大模式）。不可使用“9600 Emulation Mode”（9600 仿真模式）。

8. PCR 完成后，将样本置于 -30 至 -15° C 下避光保存或直接进行电泳。

**表 3.标准 PCR 循环条件，适用于所有 DNA 样本**

温度	时间	循环次数
96° C*	8 分钟	-
96° C	10 秒	3 个循环
64° C	55 秒	
72° C	5 秒	
96° C	10 秒	
61° C	55 秒	27 个循环
72° C	5s	
68° C	2 分钟	
60° C	2 分钟	-
10° C	$\infty$	-

\* 采用热启动以激活 DNA 聚合酶。

# 方案：使用 Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer 进行电泳分析

Investigator 26plex QS Kit 适用于 3500/3500xL Genetic Analyzer，后者需使用以下软件

- 3500 Data Collection Software（数据采集软件）

提示：用户必须以本地管理员或具有同等访问权限的人员身份登录分析电脑，才可写入数据。

有关仪器安装、光谱校准或者 Applied Biosystems 3500 Series Data Collection Software 和 GeneMapperID-X Software 的详细使用说明，请参见 *Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer 用户指南* ([tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/4401661.pdf](https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/4401661.pdf))。

8 毛细管系统指的是 Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer。24 毛细管系统指的是 Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyzer。

虚拟过滤器组 AnyDye 适用于 6-FAM、BTG、BTY、BTR2、BTP 和 BTO 这 6 个荧光标记的组合应用。其荧光矩阵标准物即为 BT6。

表 4 中给出了电泳所需的材料。

**表 4. 电泳所需材料**

材料	规格
毛细管	36 cm 阵列，用于 Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer
分离胶	POP-4 <sup>®</sup> ，用于 Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer
缓冲液	阳极缓冲液容器 (ABC) 3500 系列 阴极缓冲液容器 (CBC) 3500 系列

## 光谱校准/荧光矩阵的生成

在进行 DNA 片段大小分析之前，需要采用 6 个荧光标记物——6-FAM、BTG、BTY、BTR2、BTP 和 BTO——对各个分析仪进行光谱校准（表 5）。校准流程将生成一个矩阵，以供用于矫正染料的荧光发射光谱的重叠情况。

重要提示：必须对每个新更换的毛细管阵列进行光谱校准。校准包括以下步骤：

- 仪器准备工作
- 制备标准校准板
- 装配孔板并加载到仪器
- 在软件中进行染料组 BT6 设置
- 运行光谱校准
- 检查荧光染料校准结果

### 仪器准备工作

在进行光谱校准流程之前，请确保已进行空间定位校准。此过程在《*Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer 用户指南*》中有详细描述。

表 5.BT6 的 6 个荧光标记物

颜色	荧光矩阵标准物
蓝色 (B)	6-FAM
绿色 (G)	BTG
黄色 (Y)	BTY
红色 (R)	BTR2
紫色 (P)	BTP
橙色 (O)	BTO

## 针对 8 毛细管系统 (Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer) 制备标准校准孔板

1. 开盖前需进行涡旋混匀和离心, 使试剂在管底富集。
2. 根据表 6 制备甲酰胺和荧光矩阵标准物 BT6 的混合物。

表 6. 针对 8 毛细管系统的甲酰胺和荧光矩阵标准物 BT6 混合物体系。

组分	体积
Hi-Di Formamide	90 $\mu$ l
Matrix Standard BT6 multi cap.	10 $\mu$ l

3. 涡旋混匀并短暂离心。
4. 将 10  $\mu$ l 反应混合物逐一加入 96 孔板上 A1 - H1 位置的 8 排孔内。
5. 95° C 下变性 3 分钟。
6. 将孔板置于冰上 3 分钟快速降温。  
或使用 PCR 仪 4° C 取代冰上降温步骤。

## 针对 24 毛细管系统 (Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyzer) 制备标准校准孔板

7. 开盖前需进行涡旋混匀和离心, 使试剂在管底收集。
8. 根据表 7 制备甲酰胺和荧光矩阵标准物 BT6 的混合物。

表 7. 针对 24 毛细管系统的甲酰胺和荧光矩阵标准物 BT6 混合物体系。

组分	体积
Hi-Di Formamide	225 $\mu$ l
Matrix Standard BT6 multi cap.	25 $\mu$ l

9. 涡旋混匀并短暂离心。
10. 将 10  $\mu$ l 反应物逐一加入 96 孔板上 A1 - H1、A2 - H2 和 A3 - H3 的 24 个孔位置内。

11. 95° C 下变性 3 分钟。
12. 将孔板置于冰上 3 分钟快速降温。  
或使用 PCR 仪 4° C 取代冰上降温步骤。

### 孔板装配并加载到仪器

有关必要步骤的详细描述，见《*Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer 用户指南*》。

### 染料组 BT6 的软件设置

光谱校准之前，必须设置荧光矩阵标准物 BT6 的染料组设置。

1. 要创建新的染料组，选择“Library”（库）。在“Analyze”（分析）下，转到“Dye Sets”（染料组），然后单击“Create”（创建）。
2. 输入“Dye Set Name”（染料组名称），例如“BT6”。
3. 在“Chemistry”（化学试剂）下选择“Matrix Standard”（荧光矩阵标准物），并在“Dye Set Template”（染料组模板）中选择“AnyDye Template”（AnyDye 模板）。
4. 在“Calibration Peak Order”（校准信号峰顺序）中，颜色排列如下：6（蓝色）、5（橙色）、4（绿色）、3（黄色）、2（红色）和 1（紫色）。

提示：这是仪器设置中的正确信号峰顺序，尽管荧光矩阵标准物 BT6 的信号峰顺序有所不同。

5. 将“Parameters”（参数）的设置更改至如下：

Matrix Condition Number Upper Limit（矩阵条件数上限）：13.5

Locate Start Point After Scan（定位扫描后的起点）：1000

Locate Start Point Before Scan（定位扫描前的起点）：5000

Limit Scans To（将扫描限定到）：2750

Sensitivity（灵敏度）：0.4

Minimum Quality Score（最低质量分数）：0.95

6. 单击“Save”（保存）以确认更改。

The screenshot shows the 'Create New Dye Set' dialog box with the following configuration:

- Dye Set Name:** BT6
- Chemistry:** Matrix Standard
- Dye Set Template:** AnyDye Template

**Arrange Dyes**

Dye Selection	Reduced Selection	Calibration Peak Order
<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	6
<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	4
<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	3
<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	2
<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	1
<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	5

**Parameters**

The parameters will be used for instruments configured with 36cm capillary array and polymer POP4

- Matrix Condition Number Upper Limit: 13.5
- Locate Start Point: \* After Scan 1000, \* Before Scan 5000
- \* Limit Scans To: 2750
- Sensitivity: 0.4
- \* Minimum Quality Score: 0.95

**Notes**

Close Save

图 1.染料组 BT6 的设置

## 运行光谱校准

一旦含有光谱校准混合物的多孔孔板位于自动采样托盘上，就可以开始光谱校准过程。

1. 如需进入光谱校准（光谱校准）界面，请选择 3500 Series Data Collection 软件仪表板上的“Maintenance”（维护）。
2. 要设置校准运行，请转到“Calibrate”（校准），然后选择“Spectral”（光谱）并选择“Calibration Run”（校准运行）。
3. 必须设定光谱校准孔板上的孔数以及在仪器上的位置。
4. 在“Chemistry Standard”（化学试剂标准物）下选择“Matrix Standard”（荧光矩阵标准物），并选择之前创建的 BT6 作为“Dye Set”（染料组）（请参阅第 15 页“染料组 BT6 的软件设置”）。
5. **Optional**（可选项）：启用“Allow Borrowing”（允许借用）。
6. 单击“Start Run”（开始运行）。

## 检查荧光染料校准结果

单击表中的毛细管，在运行结果表下显示每个毛细管的结果（“Capillary”[毛细管]、“Quality value”[质量值]和“Condition number”[条件数]）。

- 每个毛细管的质量值（Q 值）必须大于 0.95 且条件数范围（C 值）必须在 1 和 13.5 之间。
- 检查基线是否平坦。如图 2 所示，每个矩阵样本应有 6 个高度为 1000-6000 RFU 的峰。

**提示：**最佳范围为 3000-5000 RFU。

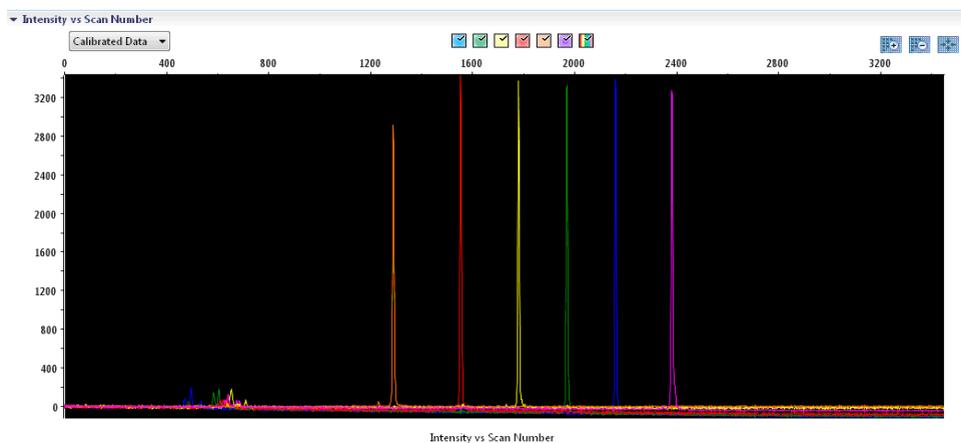


图 2. Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer 上荧光矩阵标准物 BT6 的光谱校准电泳图谱。

当“Overall”（全部）行显示绿色结果（图 3）时，表示光谱校准成功完成。如果“Overall”（全部）行显示红色结果，请参见 *Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer 用户指南* 的“光谱校准故障排除”部分。

▼ Capillary Run Data

Capillary	1	2	3	4	5	6	7	8
Run 1	Passed							
Run 2	Passed							
Run 3	Passed							
Overall	Passed							

■ Passed   
 ■ Failed   
 ■ Borrowed   
  Not Calibrated

图 3. Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer 上所有毛细管荧光矩阵标准物 BT6 的光谱校准成功示例。

选择并显示每个毛细管的光谱和原始数据。检查数据是否满足以下要求：

- 光谱图谱从左到右的峰读取顺序应为橙色-红色-黄色-绿色-蓝色-紫色。
- 原始数据图谱中不应出现无关峰。
- 光谱图谱中的峰形态不应出现明显重叠、倾斜或其他不规则性。单独、独特的峰应清晰可见。应可见独立、清晰可辨的峰。

如果所有毛细管的数据均满足上述标准，则单击“Accept”（接受）。如果有任何毛细管数据不满足上述标准，则单击“Reject”（拒绝），并参见《Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer 用户指南》中的“光谱校准故障排除”部分。

## 样本制备

1. 开盖前，需进行涡旋混匀和离心操作，使反应物集中到管底。
2. 根据表 8 制备甲酰胺和 DNA 分子量标准物的混合液。
3. 进行涡旋混匀，然后对混合物进行短暂离心处理。
4. 每个样本孔分装 12  $\mu$ l 混合物。
5. 添加 1  $\mu$ l 的 PCR 产物或等位基因分型标准物（必要时进行稀释）。
6. 95° C 下变性 3 分钟。
7. 将孔板置于冰上 3 分钟快速降温。
8. 或使用 PCR 仪 4° C 取代冰上降温步骤。
9. 将孔板加载到上样托盘。

表 8. 甲酰胺和 DNA 分子量标准物混合物体系

组分	每个样本的加入量
Hi-Di Formamide	12.0 $\mu$ l
DNA Size Standard (BTO)	0.5 $\mu$ l

**提示：**由于所有毛细管通道将同时进样，因此必须将至少 1 列（8 样本方案）或 3 列（24 样本方案）样本移液到多毛细管分析仪的孔板上。如果待分析样本不足，则必须向空孔位中添加 12  $\mu$ l Hi-Di 甲酰胺。

为确保样本在多毛细管分析仪上获得可靠的基因分型，建议针对每一个 24 样本组进样一个等位基因分型标准物：

- 8 毛细管分析仪：每 3 次进样设置 1 孔等位基因分型标准物
- 24 毛细管分析仪：每 1 次进样设置 1 孔等位基因分型标准物

**重要提示：**实际室温可能会影响多毛细管电泳仪性能，因此可能出现肩峰或双尖峰，尤其是在低温时。**确保环境条件与仪器制造商的建议条件保持一致。**此外，还要确保缓冲液平衡至室温。

## 设置运行方案

如果您首次在 Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer 上使用 Investigator 26plex QS Kit，您需要先设置以下方案：

- 仪器运行方案
- 分子量标准物
- QC 程序
- 检测的参数

所有方案都可以通过 3500 Series Data Collection 软件进行设置。

## 仪器运行方案

1. 要设置仪器运行方案，选择“Library”（库），然后在“Analyze”（分析）下转到“Instrument Protocols”（仪器运行方案），并单击“Create”（创建）。

提示：修改“HID36\_POP4”中的“Run Module”（运行模块）默认设置，具体见表 9。

2. 必须输入或选择表 9 中的参数。
3. 单击“Save”（保存）以确认更改。

表 9. Applied Biosystems 3500/3500xl Genetic Analyzer 的仪器运行程序参数

参数	3500 设置	3500xl 设置
Application type (应用类型)	HID	HID
Capillary length (毛细管长度)	36 cm	36 cm
Polymer (分离胶)	POP4	POP4
Dye set (染料组)	如 BT6	如 BT6
Run Module (运行) 模块	HID36_POP4	HID36_POP4
Protocol name (方案名称)	例如 Investigator 26plex	例如 Investigator 26plex
Oven temperature (°C) (炉温 [°C])	默认值 (60)	默认值 (60)
Run voltage (运行电压 [kV])	13.0	13.0
PreRun voltage (kV) (预运行电压 [kV])	默认值 (15)	默认值 (15)
Injection voltage (kV) (进样电压 [kV])	1.2	1.6
Run time (s) (运行时间 [s])	1550	1550
PreRun time (s) (预运行时间 [s])	默认值 (180)	默认值 (180)
Injection time (s) (进样时间 [s])	30.0*	27.0*
Data delay (s) (数据延迟 [s])	默认值 (1)	默认值 (1)
Advanced options (高级选项)	默认	默认

\* 进样时长可根据样本类型和 PCR 循环数而不同。注射次数表示给定电压下的最大注射次数。如果样本的信号强度极高，则可选择较短的进样时间以降低出现拔起峰的风险。

## 分子量标准物

- 要设置 DNA 分子量标准物，选择“Library”（库），然后在“Analyze”（分析）下转到“Size Standards”（分子量标准物），并单击“Create”（创建）。

5. 必须输入或选择表 10 中的参数。

DNA Size Standard (分子量标准物) 24plex (BTO) 或 DNA Size Standard (分子量标准物) (BTO) 450 对应的片段长度如下:

- **DNA Size Standard 24plex (BTO):** 60、80、90、100、120、140、160、180、200、220、240、250、260、280、300、320、340、360、380、400、425、450、475、500、525 和 550 bp
- **DNA Size Standard 450 (BTO):** 60、80、100、140、180、200、220、260、300、340、360、400 和 450 bp

表 10.分子量标准物参数

参数	设置
Size standard (分子量标准物)	例如 SST-BTO_60-500bp 或 SST-BTO_60-450bp
Dye color (染料颜色)	橙色

6. 或者, 使用推荐的 Investigator 模板文件 (表 15) 导入 DNA 分子量标准物参数。

7. 单击 “Save” (保存) 以确认更改。

## QC 程序

8. 要设置 QC 方案, 选择 “Library” (库), 然后在 “Analyze” (分析) 下转到 “QC Protocols” (QC 程序), 并单击 “Create” (创建)。

9. 必须输入或选择表 11 中的参数。

表 11.QC 方案的参数

参数	设置
Protocol name (方案名称)	例如 BTO_550 或 BTO_450
Size standard (分子量标准物)	SST-BTO_60-500bp 或 SST-BTO_60-450bp
Sizecaller	SizeCaller v1.1.0

10. 转到“Analysis Settings”（分析设置），然后转到“Peak Amplitude Threshold”（峰幅阈值），并确保启用所有颜色。

检查表 14 中建议的分析设置。所有其他设置应保留为“Default”（默认值）。

11. 单击“Save”（保存）以确认更改。

### 检测的参数

12. 要设置检测，转到“Library”（库），然后在“Manage”（管理）下，转到“Assays”（检测），并单击“Create”（创建）。

13. 要分析 Investigator 26plex 片段，请选择表 12 中的参数。

14. 单击“Save”（保存）以确认更改。

表 12.检测的参数

参数	设置
Assay name（检测名称）	例如 Investigator 26plex
Color（颜色）	默认
Application type（应用类型）	HID
Instrument protocol（仪器运行方案）	例如 Investigator 26plex
QC protocols（QC 方案）	例如 BTO_550 或 BTO_450

### 开始运行

1. 在仪表板中，单击“Create New Plate”（创建新孔板）。

2. 转到“Setup”（设置），然后转到“Define Plate Properties”（定义板属性），并选择“Plate Details”（板详细信息）。选择或输入表 13 中的参数。

表 13.孔板属性

属性	设置
Name（名称）	例如 Investigator 26plex
Number of wells（孔数）	96
Plate type（孔板类型）	HID
Capillary length（毛细管长度）	36 cm
Polymer（分离胶）	POP4

3. 单击“Assign Plate Contents”（指定孔板内容）以实施更改。
4. 在每个含有样本或等位基因分型标准物的孔内输入指定样本名称，这样可为数据采集和处理确定每个样本的孔位。
5. 在“Assay”（检测）下选择正确的检测。如果已执行了“设置运行方案”下的步骤，请单击“Add from Library”（从库中添加），然后从“Instrument Protocol”（仪器运行方案）中选择“Investigator 26plex”。孔板上所有命名的孔都必须有分配的检测程序。
6. 对“File name conventions”（文件名惯例）和“Results group”（结果组）重复此操作。
7. 选择待指定检测的孔。勾选“the name of the Assay”（检测的名称）、“File name conventions”（文件名惯例）和“Results group”（结果组）旁的方框，将它们指定给所选孔。
8. 将已准备好的样本板加载到仪器上并关闭仪器门（如此步尚未进行），以重新初始化仪器。单击“Link Plate for Run”（链接要运行的板）。在下一个界面中，输入运行名称并单击“Start Run”（开始运行）。

## 分析参数/分析方法

表 14 列出了“Peak Detector”（峰检测器）工作单中的建议分析参数。

**表 14. Applied Biosystems 3500/3500xl Genetic Analyzer 建议设置**

参数	设置
Peak detection algorithm（峰检测算法）	Advanced（高级）
Ranges（范围）	Analysis（分析）： Partial Range（局部范围） Start Point（起点）： 1000； Stop Point（终点）： 20,000 Sizing（大小调整）： All Sizes（所有大小）
Smoothing and baselining（平滑与基线确定）	Smoothing（平滑）： Light（轻度） Baseline Window（基线窗）： 51 pts
Size calling method（大小识别方法）	Local Southern Method（Local Southern 法）
Peak detection（峰检测）	Peak Amplitude Thresholds（峰幅阈值） B: * Y: * G: * R: * P: * O: * Min. Peak Half Width（最小峰半宽）： 2 pts Polynomial Degree（多项式次数）： 3 Peak Window Size（峰窗大小）： 11 pts <sup>†</sup> Slope Thresholds（斜率阈值）： 0.0

\* 峰幅阈值（边界值）对应于 GeneMapper ID-X 软件检测出的最低信号峰高度。阈值通常为 50 - 200 RFU，且应由各实验室依据情况确定。

**建议：**最低信号峰高度应比基线背景噪声高 3 倍。

<sup>†</sup> 仅 Peak Window Size（峰窗大小）的设置与 HID 分析 Applied Biosystems 的默认值不同。

## 方案：分析

有关自动样本分析的一般说明，请参阅 *GeneMapper ID-X* 软件的相应用户指南。

扩增产物的确切大小取决于设备型号、电泳条件以及所用的 DNA 分子量标准物。由于一些基因组具有复杂性，进行大小判定时采用的参照物应均匀分布。DNA Size Standard 24plex (BTO) 或 DNA Size Standard 450 (BTO) 片段长度如下：

**DNA Size Standard 24plex (BTO):** 60、80、90、100、120、140、160、180、200、220、240、250、260、280、300、320、340、360、380、400、425、450、475、500、525 和 550 bp

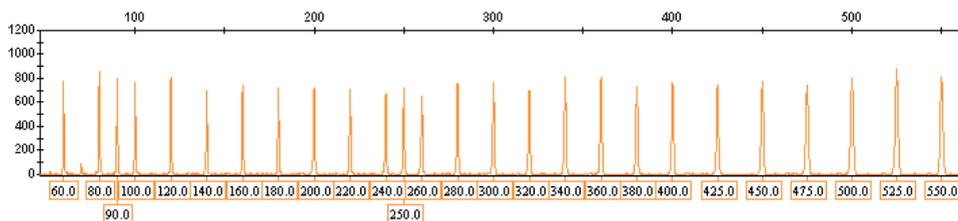


图 4a. DNA Size Standard 24plex (BTO) 峰图。片段长度单位 bp。

**DNA Size Standard 450 (BTO):** 60、80、100、140、180、200、220、260、300、340、360、400 和 450 bp

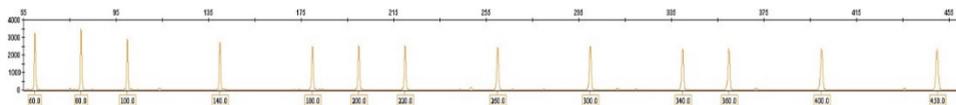


图 4b. DNA Size Standard 450 (BTO) 峰图。片段长度单位 bp。

## 分析软件

在进行等位基因的分型时，应将合适的分析软件（例如 GeneMapper ID-X 软件）与 Investigator 模板文件（可从 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 下载）结合使用

表 15. 推荐的适用于 GeneMapper ID-X 的 Investigator 模板文件

文件类型	文件名称
Panels*	26plex_Panels
BinSet*	26plex_Bins
Stutter（影子峰）	26plex_Stutter
Size standard（分子量标准物）	SST-BTO_60 - 500bp 或 SST-BTO_60-450bp
Analysis method（分析方法）	Analysis_HID_3500_50rfu Analysis_HID_3500_200rfu
Plot settings（绘图设置）	Plots_6dyes

\* 必须始终使用 Panels 和 BinSets；其他模板文件为可选。

## 对照品

表 16 中列出了对照品 DNA 9948（包括在 Investigator 26plex QS Kit 中）的等位基因。

表 16. Investigator 26plex QS Kit 的等位基因分配

基因座	CCR 9948
Amelogenin	X/Y
DYS391	10/10
D1S1656	14/17
D2S441	11/12
D2S1338	23/23
D3S1358	15/17
D5S818	11/13
D6S1043	12/12
D7S820	11/11
D8S1179	12/13
D10S1248	12/15
D12S391	18/24
D13S317	11/11
D16S539	11/11
D18S51	15/18
D19S433	13/14
D21S11	29/30
D22S1045	16/18
CSF1PO	10/11
FGA	24/26
Penta D	8/12
Penta E	11/11
TH01	6/9.3
TPOX	8/9
vWA	17/17

## 内质控

Investigator 26plex QS Kit 包含 2 种内部 PCR 质控（内质控 QS1 和 QS2），它们可就 PCR 扩增效率和 PCR 抑制因子存在情况提供有用信息。内质控包含在引物混合液中，与样本的 STR 位点同时扩增。内质控荧光染料标记为 BTP，片段大小为 74 bp (QS1) 和 435 bp (QS2)。

为了解决序列相似性和可能发生非特异性结合的问题，我们利用一种随机算法设计并合成了一个内质控 DNA 模板。该模板序列不同于所有已知的 DNA 序列，特别是与人类 DNA 序列没有相似性。因此，在多重 PCR 扩增反应中发生非特异性结合的几率很低。

一般来说，如果小片段内质控 (QS1) 的扩增成功，则表明 PCR 的设置和运行方式是正确的，无论样本中是否存在 DNA。如果在扩增产物的分析中没有检测到内质控，这意味着在 PCR 设置期间的移液操作或 PCR 本身的运行方式有误，用户可以重复试验以获得更好的结果。

灵敏度试验表明，内质控对试剂盒的 PCR 性能没有影响。低 DNA 模板量的扩增结果表明，无论有无内质控，引物混合液的扩增结果都相似。

此外，对 2 个内质控片段 (QS1 和 QS2) 以及 STR 目标扩增产物的分析可以鉴别在扩增反应中是否存在抑制因子或 DNA 降解。

在存在样本降解的情况下，较小 DNA 片段的扩增比较大 DNA 片段的扩增更高效。但目标模板的降解并不妨碍内质控片段的扩增。因此，如果 QS1 和 QS2 的比率相等，且比率偏向于小片段 STR 目标产物，则表明存在样本降解。

如果样本中存在诸如血色素和腐殖酸之类的抑制因子，则扩增效率较低，并且较大的 DNA 片段的扩增效率低于较小的 DNA 片段。如果对扩增产物的分析表明，较大 STR 目标序列和较大内质控 (QS2) 片段扩增效率低下，但较小内质控 (QS1) 扩增成功，则样本可能受到抑制因子的污染。这意味着，峰值比率偏向于小片段内质控 (QS1) 时表明存在抑制因子。

对两个内质控存在情况进行分析，可让用户鉴定是否存在 PCR 抑制因子，或鉴定法医样本中是否存在降解。这可在数据解读和后续措施的规划方面为用户提供有用的信息。表 17 总结了可能的峰形外观及其含义。

**表 17.峰形外观及其含义**

等位基因峰	QS1	QS2	原因解释
存在	存在	存在	成功的峰形
不存在	存在	存在	无 DNA
不存在	不存在	不存在	PCR 失败
滑雪坡式整体峰形	存在	微量/不存在	存在抑制因子
滑雪坡式整体峰形	存在	存在	降解 DNA

**提示：**不同实验之间的 QS1 和 QS2 的峰高可能略有不同。轻微的峰高分散是常见现象，不受抑制因子的影响。在分析的验证过程中，分析师应针对特定的样本类型进行常规变异范围评估，并应为两个 QS 定义常规峰高范围。

当 QS2 信号下降到 QS1 信号的 20% 以下时，表明 PCR 反应受到抑制。

## 等位基因

表 18 显示了等位基因分型标准物的等位基因。所有分析都是利用 POP-4 分离胶（表 18 和图 5）运行的。不同的分析仪器、DNA 分子量标准物或分离胶可使得出的片段长度有所不同。此外，还建议通过目视比对等位基因分型标准物。

## 刻度

- 水平：70-450 bp
- 垂直：取决于信号强度

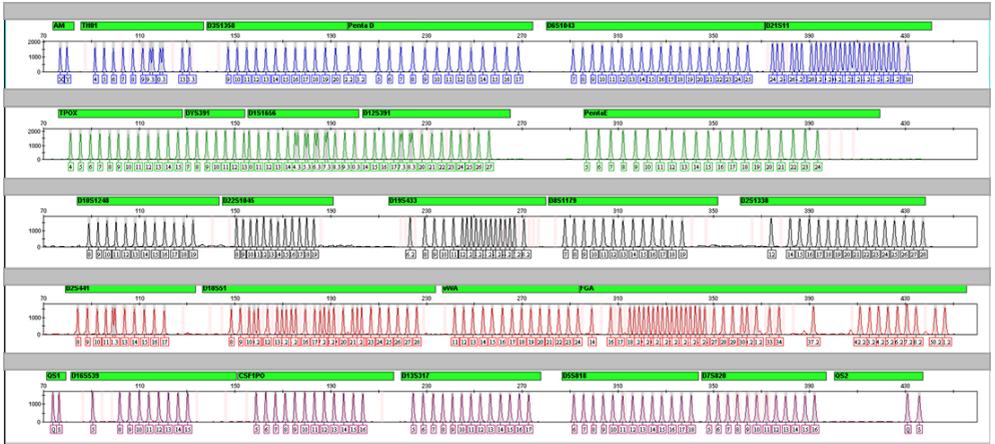


图 5. Applied Biosystems 3500xL Genetic Analyzer 上分析的等位基因型标准物 26plex 的电泳图。该等位基因型标准物对于每个内质控（QS1 和 QS2）包含 2 个等位基因。这可以自动调用 QS 峰值进行样本分析。

表 18. 等位基因分型标准物 26plex 中包含的等位基因片段

基因座	荧光染料	等位基因分型标准物的重复单元数
Amelogenin	6-FAM	X, Y
TH01	6-FAM	4, 5, 6, 7, 8, 9, 9.3, 10, 10.3, 11, 13, 13.3
D3S1358	6-FAM	9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20
Penta D	6-FAM	2.2, 3.2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17
D6S1043	6-FAM	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25
D21S11	6-FAM	24, 24.2, 25, 26, 26.2, 27, 28, 28.2, 29, 29.2, 30, 30.2, 31, 31.2, 32, 32.2, 33, 33.2, 34, 34.2, 35, 35.2, 36, 36.2, 37, 38
TPOX	BTG	4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
DYS391	BTG	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13
D1S1656	BTG	10, 11, 12, 13, 14, 14.3, 15, 15.3, 16, 16.3, 17, 17.3, 18, 18.3, 19.3, 20.3
D12S391	BTG	14, 15, 16, 17, 17.3, 18, 18.3, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27
Penta E	BTG	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
D10S1248	BTY	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
D22S1045	BTY	8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
D19S433	BTY	6.2, 8, 9, 10, 11, 12, 12.2, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 15.2, 16, 16.2, 17, 17.2, 18.2
D8S1179	BTY	7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19
D2S1338	BTY	12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28
D2S441	BTR2	8, 9, 10, 11, 11.3, 12, 13, 14, 15, 16, 17
D18S51	BTR2	8, 9, 10, 10.2, 11, 12, 13, 13.2, 14, 14.2, 15, 16, 17, 17.2, 18, 18.2, 19, 20, 21, 21.2, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28
vWA	BTR2	11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
FGA	BTR2	14, 16, 17, 18, 18.2, 19, 19.2, 20, 20.2, 21, 21.2, 22, 22.2, 23, 23.2, 24, 24.2, 25, 25.2, 26, 27, 28, 29, 30, 30.2, 31.2, 33, 34, 37.2, 42.2, 43.2, 44.2, 45.2, 46.2, 47.2, 48.2, 50.2, 51.2
QS1	BTP	Q, S
D16S539	BTP	5, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15
CSF1PO	BTP	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
D13S317	BTP	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17
D5S818	BTP	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18
D7S820	BTP	5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16
QS2	BTP	Q, S

---

有关 Investigator 26plex 等位基因分型标准物中未包含的已知微变体信息，请参见国家标准与技术研究院 (National Institute of Standards and Technology, NIST) 网站 ([strbase.nist.gov](http://strbase.nist.gov))。

# 故障排除向导

故障排除向导可帮助您解决可能出现的问题。如需更多相关信息，请参见技术支持中心的常见问题：[www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx)。QIAGEN 技术服务部门的专家将非常乐意解答您有关本手册中信息或有关一般性样本和检测技术的问题。如想获取联系信息，请访问 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)。

---

## 意见和建议

---

### 不平衡峰、低信号

- |                        |                    |
|------------------------|--------------------|
| a) 快速反应混合液或引物混合液的体积不正确 | 检查反应体系是否正确并重复扩增流程。 |
| b) 预混液在分配液前没有涡旋混匀      | 彻底涡旋预混液，并进行短暂离心处理。 |

### 标准实验中 QS1 和/或 QS2 的峰高降低

内质控轻微的峰高变化是常见现象，不受抑制因子的影响。

在验证过程中，分析师应评估与其特定样本类型相关的常规变化图谱，并为两个 QS 定义一个常规峰高范围。当 QS2 信号下降到 QS1 信号的 20% 以下时，表明 PCR 反应受到抑制。

### 内质控峰的主导性

QS1 和 QS2 峰主导性过强。

使用 GeneMapper *ID-X* 软件，在“Display Settings”（显示设置）下为“all-dye range”（所有染色范围）选择一个新设置进行放大。该范围应在 QS1 和 QS2 之间。

**重要提示：**此外，在“Analysis Method Editor”（分析方法编辑器）中的“peak detector”（峰检测器）下，将 size-calling（范围：大小识别）调整为 75 → 450。

### 样本制备

必须增强样本信号强度。

降低 DNA 分子量标准物（BTO）的体积，使峰高降低至约 500 RFU。

在开始分析之前，提纯 PCR 样本。我们建议使用 MinElute® PCR Purification Kit（目录编号：28004 和 28006）进行快速、有效的纯化。

### 荧光矩阵/光谱校准不适当

当前荧光矩阵/光谱校准下的荧光通道（B、G、Y、R、P、O）之间有拔起峰。

此荧光矩阵不可用于分析。重复荧光染料校准/光谱校准。务必认真遵循特定分析仪器的正确操作规程。

---

## 意见和建议

---

### 大量样本的峰被标记为 off-ladder (OL) 峰

- |  |   |
|--|---|
| a) DNA Size Standard 24plex (BTO) 或 DNA Size Standard 450 (BTO) 的定义或识别不正确。                         | 在 GeneMapper ID 或 GeneMapper ID-X 软件的上部工具栏中单击“Size Match Editor”（大小匹配编辑器）橙色图标。标记所有样本的橙色片段。<br>Investigator Human Identification PCR Kit 应始终配用 DNA Size Standard 24plex (BTO) 或 DNA Size Standard 450 (BTO)。 |
| b) 信号强度过高。如果使用 Applied Biosystems 3500/3500xl Genetic Analyzer 时的样本峰高不在线性检测范围内，则影子峰、裂峰和伪峰的情况可能会增加。 | 逐步缩短进样时长，至最短 1 秒；降低分析所用的 PCR 扩增产物的用量；或降低 PCR 所用的 DNA 量。   |
| c) 毛细管中存在气泡，导致所有荧光通道中出现拔起峰（“钉子峰”），导致等位基因误判。  | 重复电泳，以确认结果。检查仪器制造商建议的最大进样次数。如有必要，更换新的毛细管阵列。   |
| d) 多毛细管分析仪毛细管运行性能的差异可导致等位基因分型改变。   | 为确保多毛细管分析仪上等位基因的准确分型，应运行等位基因分型标准物。  |
| e) 低温或低毛细管电泳缓冲液温度可能导致片段迁移情况改变或 OL 峰。   | 确保环境条件与仪器制造商的建议条件保持一致。确保缓冲液已平衡至环境温度。仪器制造商建议对毛细管电泳仪进行预热（约 30 分钟）。  |

### 等位基因分型标准物的进样参数/文件不恰当

- |   |  |
|---|--|
| a) 由于电泳期间出现功能异常，其他信号峰可被认定为等位基因分型标准物峰。如果等位基因分型标准物峰被误判，则该等位基因标准物不可用于分析。 | 对该等位基因分型标准物采用不同的进样参数/文件，并查看根据该等位基因分型标准物的分子量标准（单位 bp）得出的分子量大小分析数据。<br>始终采用 Investigator Human Identification PCR Kit 的 DNA 分子量标准物 DNA Size Standard 24plex (BTO) 或 DNA Size Standard 450 (BTO)。 |
| b) 等位基因分型标准物的一个峰因位于所用分析方法的峰检测值 (50 - 200 RFU) 以下而无法被识别。               | 加载到分析仪的等位基因标准物浓度必须高于待分析的样本的浓度或者，这些等位基因分型标准物数据还可通过在分析软件中采用较低的峰检测值进行分析。  |
| c) 等位基因分型标准物的一个峰因不在软件的预期片段大小范围（单位 bp）内而无法被识别                          | 将等位基因分型标准物的一个颜色通道中的第一个等位基因的片段长度（单位 bp）与各类别的相应值进行比较。然后，将其与其他等位基因进行比较。   |
| d) 未找到点等位基因。  | 点等位基因是与邻近整数倍等位基因至少有 1 bp 差异的等位基因。检查分析方法的设置，将峰窗大小值降低为 11 个点。  |

---

## 参考文献

1. Bär, W. et al. (1997) DNA recommendations: Further report of the DNA Commission of the ISFH regarding the use of short tandem repeat systems. *Int. J. Legal Med.* **110**, 175 - 176.

## 附录 A：结果解读

利用合适的分析软件进行 Post-PCR 分析和等位基因自动分型可确保等位基因鉴别的准确性和可靠性。

分析的一般流程

1. 检查 DNA 分子量标准物。
2. 检查等位基因分型标准物。
3. 检查阳性对照品和阴性对照品。
4. 分析并判读样本数据。

拔起峰

如果峰高出线性检测范围（参见“故障排除向导”），或应用了不正确的荧光矩阵，则可能会出现拔起峰。它们在其他颜色通道中出现在特定峰位，通常具有较低的信号强度。为防止拔起峰，峰高不应超过检测范围。

影子峰

影子峰的出现取决于重复结构序列和等位基因数。 $n - 4$  峰的出现是因为 Taq DNA Polymerase 的复制滑脱效应，造成四核苷酸 STR 基序扩增期间重复单元丢失。而  $n - 3$  峰则出现在三核苷酸 STR 基序 D22S1045 的扩增期间。应利用 GeneMapper ID-X 软件的 Investigator 模板文件对这些峰进行判读。

模板非依赖性核苷酸添加

由于具有末端转移酶活性，Taq DNA Polymerase 可导致 DNA 扩增片段的 3' 末端腺苷酰化不完整。伪峰比预期峰少一个碱基（-1 峰）。Investigator 26plex QS Kit 引物在设计上力图尽可能减少这些伪峰。伪峰峰高与 DNA 量有关。各实验室在分析信号峰时应界定自己的极限值。

## 伪峰

环境温度可能会影响 PCR 产物在多毛细管分析仪上的表现，因此可能会出现肩峰或裂峰。如出现肩峰或裂峰，我们建议重新上机检测样本。确保环境条件与仪器制造商的建议条件保持一致。确保缓冲液已平衡至环境温度。

## 附录 B: 使用 Investigator 26plex QS Kit 时的 PCR 体积变通

在使用 Investigator 26plex QS Kit 时，可采用减半的反应体积（快速反应混合液 + 引物混合液）。请注意，虽然我们对此处所述的减量反应体积进行了成功的测试，但是采用试剂盒手册中推荐的完整反应体积时的总体成功率仍然最高。

# 订购信息

产品名称	组分	目录编号
Investigator 26plex QS Kit (100)	引物混合液、快速反应混合液 3.0、对照品 DNA、等位基因分型标准物 26plex 和无核酸酶水	382615
Investigator 26plex QS Kit (400)	引物混合液、快速反应混合液 3.0、对照品 DNA、等位基因分型标准物 26plex 和无核酸酶水	382617
<b>相关产品</b>		
Matrix Standard BT6 (50)	6-FAM、BTG、BTY、BTR2、BTP 和 BTO 荧光标准物，适用于 Applied Biosystems 3500 Genetic Analyzer	386224
DNA Size Standard 450 (BTO) (100)	带 13 个片段的 DNA 分子量标准物 (100 次反应)	386045
DNA Size Standard 24plex (BTO) (100)	带 26 个片段的 DNA 分子量标准物 (100 次反应)	386035
<b>Investigator Human Identification PCR Kit</b>		
Investigator Quantiplex® Pro Kit (200)	用于 Applied Biosystems 7500 Real-Time System: Quantiplex Pro Reaction Mix、Quantiplex Pro Primer Mix、Quantiplex Pro Control DNA M1、QuantiTect Nucleic Acid Dilution Buffer	387216

产品名称	组分	目录编号
Investigator Quantiplex Pro RGQ Kit (200)	用于 QIAGEN RotorGene Q Real-Time System: Quantiplex Pro RGQ Reaction Mix、Quantiplex Pro RGQ Primer Mix、Male Control DNA M1、QuantiTect Nucleic Acid Dilution Buffer	387316

最新的许可信息以及产品的免责声明，请参阅相应的 QIAGEN 试剂盒手册或用户手册。QIAGEN 试剂盒手册和用户手册可从 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 或 QIAGEN 技术服务部以及您当地的经销商联系处取得。

# 文档修订历史

日期	更改
R1 2019 年 8 月	初次发布
R2 2021 年 6 月	修订表 3。更新“订购信息”部分。在“用户需准备的仪器和试剂”部分新增“Veriti 96 孔热循环仪”、“ProFlex 96 孔 PCR 系统”和“QIAamplifier 96”。编辑和版式更改。

## Investigator 26plex QS Kit 有限许可协议

使用本产品表示本产品的任何购买者或使用者同意遵循如下条款：

1. 本产品在使用时只能遵守本产品随附的操作规程和本手册，且只能与试剂盒内包含的组分协同使用。除了本产品随附的操作规程、本手册以及 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 中提供的其他操作规程中所述的情况，QIAGEN 并未在其任何知识产权下许可将本试剂盒的所含组分与本试剂盒中未包含的任何组分协同使用或者相整合。其中一些附加操作规程可能是由 QIAGEN 用户为 QIAGEN 用户提供的。这些操作规程未经 QIAGEN 彻底测试或优化。QIAGEN 既不对其进行担保，也不保证其没有侵犯第三方的权利。
2. 除非相关许可明确说明，否则 QIAGEN 并不保证本试剂盒和/或其使用不会侵犯第三方的权利。
3. 本试剂盒及其组分为一次性用品，不可重复使用、翻新或转卖。
4. 除了明确陈述的许可外，QIAGEN 否认提供任何其他明示或暗示许可。
5. 本试剂盒的购买者和使用者同意不采取、也不允许其他人采取任何方法来实施或推动实施以上禁止的任何行为。为行使本“有限许可协议”条款的规定内容或者保护本试剂盒和/或其组分的知识产权，QIAGEN 可能会在法庭上执行本协议的相关禁令，并追讨所有调查和诉讼费用（包括律师费）。

如需获得更新的许可条款，请访问 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)。

商标：QIAGEN®、Sample to Insight®、Investigator®、MinElute®、QIAamplifier® (QIAGEN Group)；Biometra® (Biometra Biomedizinische Analytik GmbH)；Bio-Rad® (Bio-Rad Laboratories, Inc.)；Eppendorf®、Mastercycler® (Eppendorf AG)；GenBank® (美国卫生与公众服务部)；Applied Biosystems®、FAM™、GeneAmp®、GeneMapper®、Hi-Di™、POP-4®、ProFlex™、Veriti™ (赛默飞世尔科技或其子公司)。本文中使用的注册名称、商标等，甚至在没有专门如此标记时，也不得视为不受法律保护。

06/2021 HB-2681-CN-001 © 2021 QIAGEN. 保留所有权利。

---

注

---

订购: [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | 技术支持: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | 网站: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)