

GNM Lyo-ready 5xEagleZ Premix (RT-PCR)快速直扩说明书

【产品名称】 GNM Lyo-ready 5xEagleZ Premix (RT-PCR)快速直扩

【产品货号及规格】

货号	规格
RXS01WS	25 μ L/50T, 50T/套, 无甘油
RXS01WX	包装规格可定制, 无甘油

【产品介绍】 本产为可冻干 EagleZ Premix (RT-PCR) 直扩反应液, 其中 5x 核酸释放剂可将病毒和细胞等样本裂解, 经高温处理后可将大部分蛋白沉淀, 离心后上清中含有释放的核酸粗样品; 5xEagleZ Buffer (RT-PCR)可提供缓冲环境和必要的反应原料; 10xEagleZ 混酶液 (RT-PCR)可提供反转录酶和 DNA 聚合酶。本产品可用作液体冻干前的性能评价及填料筛选等; 配合 GNM 冻干填料液配制为冻干液 (推荐 DGC02X GNM 2 \times 冻干填料液 B) 直接进行滴珠冻干或原位冻干, 冻干后所得冻干珠适用于全血、血浆、血清和非灭活款咽拭子等经核酸释放剂处理后的粗样本 RT-PCR 扩增, 无需繁琐的核酸提取纯化, 很大程度的简化了操作流程和降低了试剂成本。

【适用范围】 本产品作为可冻干规格, 产品本身不含有甘油等保护剂。仅适用于冻干珠的制作、生产, 不可增加其他组分配制为反应液进行存放及使用。

【产品组分】 本产品由 5xEagleZ Buffer (RT-PCR)、10xEagleZ 混酶液 (RT-PCR)及 5x 核酸释放剂组成。

【使用说明】

1. 核酸释放

a) 在 1.5mL EP 管中加入 5 μ L 的 5x 核酸释放剂, 再加入 20 μ L 的液体样本 (如全血、血浆、血清或咽拭子样品)。

注: 20 μ L 的液体样本可制得 1 人份 RNA 模板, 可根据实际需要按比例放大反应体积

b) 使用移液枪吸打混匀 20 次, 将 EP 管置于恒温器中 99 $^{\circ}$ C 加热裂解 5min。

c) 将上述裂解产物经 7000rpm 离心 3min 后取上清, 作为 DNA 模板用于后续实验。

2. 冻干体系

a) 准备: 将反应液、引物、探针、纯化水、RNA 模板等平衡至室温, 充分混匀并瞬时离心后, 备用。

b) 按下表配制冻干液

试剂	25 μ L 体系 *15 μ L 反应液冻干珠	终浓度	备注
5xEagleZ Buffer (RT-PCR)	5 μ L	反应终浓度 1x	随反应体系的变化 等比放大或缩小
10xEagleZ 混酶液 (RT-PCR)	2.5 μ L	/	
冻干填料液	7.5 μ L	/	

备注: 以上表格反应液有效组分 (5xEagleZ Buffer (RT-PCR)、10xEagleZ 混酶液 (RT-PCR)) 以 25 μ L 反应体系为准进行计算; 冻干辅料以 15 μ L 冻干体积为准进行计算; 按照冻干填料液、ddH₂O、buffer、酶液的加液顺序进行配制。

c) 反应液充分混匀后，根据冻干品形式，以 15 μ L/T 进行冻干。

d) 推荐冻干程序

程序段	程序段	温度	维持时间	真空控制
1	预冻	-50℃	1hr	关闭
2	冷冻干燥	-50℃	8hr	开启
3		-45℃	4hr	
4		-35℃	13hr	
5		-25℃	6hr	
6		5℃	4hr	
7		25℃	5hr	
8		35℃	4hr	

备注：可根据冻干机试剂情况适当调整程序。

e) 推荐冻干机品牌：四环福瑞、东富龙、博医康。

f) 按下表配制冻干珠反应体系

试剂	25 μ L 体系	终浓度
EagleZ Premix (RT-PCR)冻干珠	1 颗	1x
引物	根据母液浓度稀释	0.2-1.0 μ M
探针	根据母液浓度稀释	0.1-0.5 μ M
核酸释放后 RNA 模板	根据实验需求	/
ddH ₂ O	补足到 25 μ L	/

g) 反应液充分混匀后，取 25 μ L 加入相应体积的反应管，上机检测。

3. 溶液体系

a) 准备：将 5xEagleZ Buffer (RT-PCR)、10xEagleZ 混酶液 (RT-PCR)、冻干填料液、引物、探针、纯化水、核酸释放后 RNA 模板等平衡至室温，充分混匀并瞬时离心后，备用

b) 按下表配制反应液

试剂	25 μ L 体系	终浓度
5xEagleZ Buffer(RT-PCR)	5 μ L	1x
10xEagleZ 混酶液(RT-PCR)	2.5 μ L	1x
引物	根据母液浓度稀释	0.2-1.0 μ M(推荐浓度)
探针	根据母液浓度稀释	0.1-0.5 μ M(推荐浓度)
核酸释放后 RNA 模板	根据实验需求加样（推荐 5 μ L）	/
ddH ₂ O	补足到 25 μ L	/

备注：在溶液体系下，需加冻干体系引入的相同填料浓度及与冻干珠进行测试比对。溶液不含保护剂等，其反应性与冻干珠不同，溶液性能仅作为参考。

c) 反应液充分混匀后，取 25 μ L 加入相应体积的反应管，上机检测。

4. 推荐反应条件

步骤	温度	时间	循环数
1	50℃	5min	1
2	95℃	15sec	1
3	95℃	5sec	45 个循环
4	55~65℃ 退火采集信号	5~10sec	

备注：退火温度应依据引物熔解温度 T_m 设定，通常退火温度比引物熔解温度低 5℃；延伸时间应根据产物片段大小来设定；根据反应灵敏度要求设定循环数，在保证灵敏度的前提下应尽量减少循环数。

【保存条件及有效期】 -20℃保存，有效期 2 年，避免反复冻融。

【运输条件】 2-8℃运输

【基本信息】

生产企业名称/售后服务单位：北京金诺美科技股份有限公司

住所：北京市北京经济技术开发区经海四路 25 号院 16 号楼-01-5 层

联系方式：010-67880228

【说明书版本及修改日期】本说明书已正式发布，版本为 V1.1，本次修订日期为 2024 年 12 月 03 日。

【免责声明】本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其他用途。