

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

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

【产品货号及规格】

货号	规格
RXE01WS	25μL/50T, 50T/套, 无甘油
RXE01WX	包装规格可定制, 无甘油

【产品介绍】本产品为可冻干 EagleZ Premix (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；5x EagleZ Buffer (PCR) 及酶液可为 PCR 的扩增提供缓冲环境、必要的反应原料和 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（推荐 DGC01X GNM 2×冻干填料液 A）配制为冻干液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快速 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 5x EagleZ Buffer (PCR)、EagleZ PCR 酶液、5x 核酸释放剂组成。

【使用说明】

### 1. 核酸释放

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

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

- 使用移液枪吸打混匀 20 次，将 EP 管置于恒温器中 99℃ 加热裂解 5min。
- 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

- 准备：将 5x EagleZ Buffer (PCR)、EagleZ PCR 酶液、冻干填料液、纯化水等平衡至室温，充分混匀并瞬时离心后，备用。

#### b) 按下表配制冻干液

试剂	25μL 体系 *15μL 反应液冻干珠	终浓度	备注
5x EagleZ Buffer (PCR)	5μL	反应终浓度 1x	随反应体系的变化等比放大或缩小
EagleZ PCR 酶液	2μL	/	
冻干填料液	7.5μL	/	
ddH <sub>2</sub> O	补足到 15μL	/	

备注：以上表格反应液有效组分（5x EagleZ Buffer (PCR)、EagleZ PCR 酶液）以 25 $\mu$ L 反应体系为准进行计算；冻干辅料以 15 $\mu$ L 冻干体积为准进行计算；按照冻干填料液、ddH<sub>2</sub>O、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 $\mu$ 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	冷冻干燥	-50°C	1hr	关闭
2		-50°C	8hr	
3		-45°C	4hr	
4		-35°C	13hr	
5		-25°C	6hr	
6		5°C	4hr	
7		25°C	5hr	
8		35°C	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) 冻干结束后，将冻干珠、引物、探针、纯化水、核酸释放后 DNA 模板等平衡至室温，充分混匀并瞬时离心后，备用，并按下表配制冻干珠反应体系。

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

g) 反应液充分混匀后，取 25 $\mu$ 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(PCR)、EagleZ PCR 酶液、冻干填料液、引物、探针、纯化水、核酸释放后 DNA 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 $\mu$ L 体系	终浓度
5xEagleZ buffer(PCR)	5 $\mu$ L	1x
EagleZ PCR 酶液	2 $\mu$ L	/
冻干填料液	7.5 $\mu$ L	与 1.冻干体系中加量一致
引物	根据母液浓度稀释	0.2-1.0 $\mu$ M(推荐浓度)
探针	根据母液浓度稀释	0.1-0.5 $\mu$ M(推荐浓度)
核酸释放后 DNA 模板	根据实验需求加样 (推荐 5 $\mu$ L)	/
ddH <sub>2</sub> O	补足到 25 $\mu$ 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 $\mu$ 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	95°C	15sec	1
2	95°C	5sec	
3	55~65°C 退火采集信号	10sec	45 个循环

备注: 退火温度应依据引物熔解温度 Tm 设定, 通常退火温度比引物熔解温度低 5°C; 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°C 保存, 有效期 2 年, 避免反复冻融。

【运输条件】 2-8°C 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。