

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

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

【产品货号及规格】

| 货号      | 规格                         |
|---------|----------------------------|
| RXS01GS | 25 $\mu$ L/50T, 50T/套, 含甘油 |
| RXS01GX | 包装规格可定制, 含甘油               |

【产品介绍】 本产品由 5x 核酸释放剂、5xEagleZ Buffer (RT-PCR)和 5xEagleZ 混酶液 (RT-PCR)组成；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)可为 RT-PCR 的扩增提供缓冲环境和必要的反应原料；5xEagleZ 混酶液 (RT-PCR)可为 RT-PCR 的扩增提供反转录酶和 DNA 聚合酶。本产品适用于全血、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。

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

【使用说明】

1. 准备：将核酸释放剂、反应液、引物探针、纯化水、样本等平衡至室温，充分混匀并瞬时离心后，备用；将恒温器预热至 99℃（注意烫伤）。
2. 核酸释放：
  - 2.1 在 EP 管中加入 5 $\mu$ L 的 5x 核酸释放剂，再加入 20 $\mu$ L 的液体样本（如全血、血浆、血清或咽拭子样品）（注：20 $\mu$ 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）。
  - 2.2 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。
  - 2.3 将上述裂解产物经 7000rpm 离心 3min 后取上清，作为 RNA 模板用于后续实验。
3. 按下表配制反应液

| 试剂                       | 25 $\mu$ L 体系        | 终浓度                   |
|--------------------------|----------------------|-----------------------|
| 5xEagleZ Buffer (RT-PCR) | 5 $\mu$ L            | 1x                    |
| 5xEagleZ 混酶液 (RT-PCR)    | 5 $\mu$ L            | 1x                    |
| 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) |
| RNA 模板                   | 根据需求加样（推荐 5 $\mu$ L） | /                     |
| ddH <sub>2</sub> O       | 补足到 25 $\mu$ L       | /                     |

备注：表中引物、探针浓度为推荐 RT-PCR 工作浓度范围，应根据需要对其浓度进行优化和调整；不同种类的 RNA 模板所含靶基因拷贝数不同，必要时可进行梯度稀释确定最佳模板浓度。

4. 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。

## 5. 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 10 月 24 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。