

GDSlyo One-step Probe RT-qPCR Kit V2-NAF

货号规格

货号	V5016F-A
25- μ l 反应数	2,000 rxns

产品简介

GDSlyo One-step Probe RT-qPCR Kit V2-NAF 是一款专为冻干工艺精心开发的一步法探针法逆转录定量 PCR 试剂。本产品采用经定向改造去除 RNase H 活性的 Power 耐热逆转录酶与高特异性热启动 DNA 聚合酶优化组合,显著提升了逆转录效率和 PCR 扩增性能,可在广阔的线性范围内呈现优异的定量标准曲线,尤其适用于低浓度 RNA 模板的高灵敏度检测。试剂配备经严格优化的 qPCR 专用缓冲体系及 dUTP/温敏型 UDG 防污染系统,有效预防气溶胶及产物残留导致的假阳性问题,保证检测结果的准确性与重复性。本品冻干后形态饱满、稳定性优良,适用于常温储运及多种分子检测场景。

本品经特殊工艺处理,无外源 DNA 残留,符合生物制药、细胞治疗、疫苗质量控制等高标准应用需求。

产品组成

Component	V5016F-A
5X GDSlyo One-step Buffer V2-NAF ^[1]	10 mL
25X GDSlyo One-step Enzyme Mix V2-NAF ^[2]	2 mL

[1] 包含 dNTP/dUTP mix, Mg²⁺。

[2] 包含温敏型 UDG, Reverse Transcriptase, 热启动 Taq DNA Polymerase。

注: 本产品不含冻干保护剂。如需进行冷冻干燥处理,可单独选购(#P9141, 4X Lyoprotectant), 该保护剂可在冻干过程中有效保护酶活性。

保存条件

-20°C。

应用范围

制备冻干 RT-qPCR 试剂, 病毒样本等 RNA 检测 IVD 产品开发, 生物制药质控, 细胞治疗产品检测, 多重靶标 RNA 一步法 RT-qPCR 实验等。

质量控制

纯度检测: 经质量检测, 产品不含脱氧核糖核酸内切酶、脱氧核糖核酸外切酶和核糖核酸酶污染。

功能检测: 经不同来源的模板和引物检测, 产品具有优秀的特异性、灵敏性及可重复性等。

应用举例

1. 制备冻干样品

1.1 配制冻干体系

参考冻干体系:

Component	25 μ l-rxn	Final Conc.
5X GDSlyo One-step Buffer V2-NAF	5 μ l	1X
25X GDSlyo One-step Enzyme Mix V2-NAF	1 μ l	1X
4X Lyoprotectant	6.25 μ l	1X
Primer Probe Mix	1 μ l	-
RNase-free ddH ₂ O	to 18-20 μ l	-

1.2 运行冻干反应

25- μ l 体系原位冻干工艺参考冻干条件:

Step	Temp.	Time	State	Vacuum
Freezing	4°C	30 min	Hold	1 atm
	-50°C	60 min	Cooling	
	-50°C	180 min	Hold	
Primary Drying	-30°C	60 min	Warming	Ultimate Vacuum
	-30°C	720 min	Hold	
Primary Drying	25°C	60 min	Warming	Ultimate Vacuum
	25°C	300 min	Hold	

对于冻干珠或更大体积的冻干可能需要调整冻干程序。

不同制造商和型号的冻干机存在差异, 可能需要对冻干程序进行优化。

2. 冻干样品复溶/准备反应体系

2.1 将冻干粉进行瞬时离心收集至管底。

2.2 将模板 RNA 和无 RNase 的 ddH₂O 加入到冻干产品中, 参照下表配制反应体系:

Form	Component	25 μ l-rxn	Final Conc.
Lyophilized Powder	5X GDSlyo One-step Buffer V2-NAF	5 μ l	1X
	25X GDSlyo One-step Enzyme Mix V2-NAF	1 μ l	1X
	4X Lyoprotectant ^[1]	6.25 μ l	1X
	Primer Probe Mix ^[2]	1 μ l	-
Liquid	Template RNA ^[3]	Variable	-
Liquid	RNase-free ddH ₂ O	to 25 μ l	-

[1] 在无冻干需求或非测试冻干产品性能场景下可不加入冻干保护剂。

[2] 引物的终浓度最佳范围是 0.1~1.0 μ M。通常情况下, 0.2 μ M 的引物效果良好。探针的终浓度最佳范围是 0.1~0.3 μ M。

[3] 建议通过梯度稀释和调整用量来确定不同模板的最佳用量。

2.3 充分混匀, 瞬时离心。

3. 运行 RT-qPCR 反应程序

参照下表设置反应程序：

Stage	Temp.	Time	Cycles
Reverse transcription	50°C ^[1]	10-20 min	/
Initial denaturation	95°C	1-5 min	/
Circular reaction	95°C	10-20 sec	40-50
	56-64°C	20-60 sec	

[1] 可在 42-55°C 温度范围及 5-30 min 时间范围内优化逆转录反应。

[2] 以下情况建议采用三步法扩增：引物退火温度较低、目标片段 > 200 bp、扩增效率较低。

本品仅供科学研究使用。