

**描述：**本试剂盒采用恒温环扩增技术配合荧光技术，进行 2019-nCoV 的 RNA 病毒检测。试剂盒灵敏度 10 copies。肺泡灌洗液、拭子浸泡液可直接检测（不需要核酸提取），唾液、痰液、血清、血浆、含高盐病毒保存液样本需要核酸提取。该试剂盒的灵敏度为 10copies（检出率 100%，单 copy 检出率 30-50%），假阳性比例<1%。

该试剂盒的靶标基因为 N 基因，靶标序列如下：

ATTCCCTCGAGGACAAGGCGTTCCAATTAACACCAATAGCA  
GTCCAGATGACCAAATTGGCTACTACCGAAGAGCTACCAGA  
CGAATTCGTGGTGGTGACGGTAAAATGAAAGATCTCAGTCC  
AAGATGGTATTTCTACTACCTAGGAACTGGGCCAGAAGCTG  
GACTTCCCTATGGTGCTAACAAGACGGCATCATATGGGTTG  
CAACTGAGGGAGCCTTGAATACACCAAAAGATCACATTGGC  
ACCCGCAATCCTGCTAACAATGCTGCAATCGTGCTACAACCT  
CCTCAAGGAACAACATTGCCAAAAGGCTTCT

#### 组分

| 名称                   | 100T |
|----------------------|------|
| 2019-CoV N Assay 冻干品 | 2 支  |
| 2xSG IsoAmp BufferD  | 1 ml |
| CoV N Positive(冻干品)  | 1 支  |
| ddH <sub>2</sub> O   | 1 ml |

**储存及运输：**该制品可于室温运输，其在室温条件下稳定 15 日。长期保存于-20℃，1 年有效。

#### 关于样本的使用说明：

（1）唾液、痰液、血清、血浆、高盐病毒保存液制作的样本，必须核酸提取后再使用。核酸纯化样品，使用量为 5 μl。

（2）关于粗制样品使用说明：由于恒温扩增反应温度为 65℃，且反应 Buffer 中含有去污剂，因此，理论上咽拭子、肛拭子，浸泡于 0.5ml ddH<sub>2</sub>O 后，可以直接作为扩增模板。在加热的过程中病毒分子在高温和去污剂的作用下，裂解并释放 RNA 分子作为扩增模板。但该试剂盒未做活毒测试，无法提供相应数据支持。

#### 使用方法：

1. 每一支 2019-CoV N Assay 冻干品可用于 50 人份的检测反应，首次使用前用 250 μl 的 ddH<sub>2</sub>O 溶解该制品。未使用完的该制品，可短期保存于 4℃（1 周内使用）。CoV N Positive 用 200 μl 的 ddH<sub>2</sub>O 溶解。

#### 2. 配制反应体系

在 0.2 ml EP 反应管中加入下述试剂

|                           |       |
|---------------------------|-------|
| 溶解后的 2019-CoV N Assay 冻干品 | 5 μl  |
| 2xSG IsoAmp BufferD       | 10 μl |
| 检测样品                      | 5 μl  |

#### 3. 仪器和程序设置

可以使用标准定量 PCR 仪（也可使用恒温荧光设备），荧光通道选择 SYBR Green 或 FAM 通道。

使用定量 PCR 仪进行恒温荧光扩增程序如下：

步骤 1: 65℃ 10s

步骤 2: 65℃ 50s 收集信号，循环 15-18 次

总反应时间为 15-18min。

#### 4. 结果判读

##### 4.1 结果判读成立条件

阴性水对照不起峰、阳性标准品在 10min 起峰。

##### 4.2 阳性结果判读

有扩增曲线，判定为阳性。

##### 4.3 阴性结果判读

平线表明为阴性样本。