

**描述：**轮状病毒（Rotavirus）为引起婴幼儿腹泻的主要致病病原，它是一种双链核糖核酸病毒，感染率高。轮状病毒共分七种，其中 A 组是最为常见的一种，而人类轮状病毒感染超过 90% 的案例也都是 A 组造成的。

本试剂盒的以轮状病毒 A 的结构蛋白作为靶标蛋白，采用 LAMP TaqMan 技术进行检测。可以粪便或腹泻物等标本中人轮状病毒 A 组 RNA 作为模板，60~65℃ 恒温条件下 15~30min 内完成检测，该试剂盒检测灵敏度极高，可检至 5 copy。本试剂盒结果可用于人轮状病毒 A 组感染的辅助诊断。

## 组分

名称	50 次
LAMP TaqMan Reagent	1 瓶
LAMP Buffer	0.75 ml
RVA LAMP TaqMan Assay	1 支
RVA 阳性标准品（10 <sup>5</sup> Copy/μl）	1 支

## 使用方法：

1. LAMP TaqMan Reagent 为干粉形式，包含 Bst 5.0 DNA 聚合酶、dNTP 等，在未溶解前，该制品可 -20℃ 长期保存，并可室温运输，性能无下降。使用前每瓶用 0.75 ml 的 LAMP Buffer 溶解后，可立即使用，剩余试剂可在 -20℃ 保存 1 个月，在 -60℃ 以下长期保存。

2. RVA LAMP TaqMan Assay 为干粉形式，该制品可 -20℃ 长期保存，并可室温运输，性能无下降。使用前每瓶用 125μl 的 ddH<sub>2</sub>O 溶解后，可立即使用，剩余试剂可在 -20℃ 保存 1 个月，在 -60℃ 以下长期保存。

3. 阳性标准品为干粉形式，首次使用前加入 100 μl 的 ddH<sub>2</sub>O，漩涡 10s 溶解后，保存于 -20℃。溶解后的制品浓度为 10<sup>5</sup> copy /μl，每次实验时采用 1 μl 即可。

## 仪器和程序设置

1. LAMP TaqMan 的检测可以使用标准定量 PCR 仪（也可使用恒温荧光设备），探针报告基团为 FAM。

使用定量 PCR 仪进行 LAMP TaqMan 扩增程序如下：

Stage 1: 65℃ 10s

Stage 2: 65℃ 50s 收集信号，循环 25 次

总反应时间为 25min。

## 2. 配置反应体系

溶解后的 LAMP TaqMan Reagent 15 μl

溶解后的 RVA LAMP TaqMan Assay 2.5 μl

检测模板 RNA 2.5 μl

反应体系配好后，充分混匀并短暂离心，置于荧光定量 PCR 仪上进行反应即可。

**注意：**LAMP 反应高度敏感，反应结束后，务必不要打开管盖，以防止气溶胶污染。一旦发生气溶胶污染，请使用 HaiGene 的 DNA 气溶胶污染去除剂（A6001）进行环境清理。

## 3. 结果判读

### 3.1 结果判读成立条件

阴性水对照不起峰、阳性标准品在 10~14 min 起峰条件下结果判读有效。

### 3.2 阳性结果判读

有扩增曲线，判定为阳性。

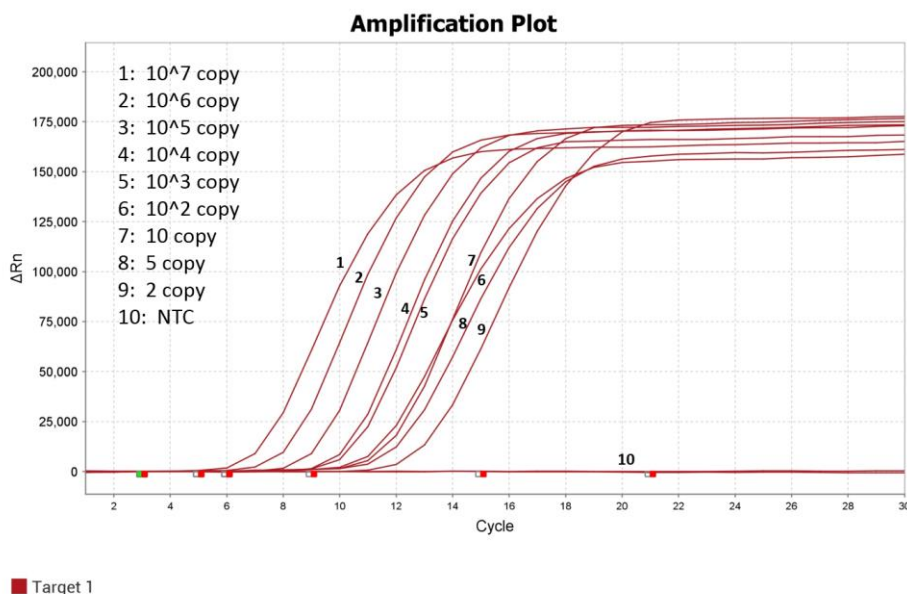
### 3.3 阴性结果判读

平线表明为阴性样本。

## 性能测试

1. 以标准质粒为模板，进行人轮状病毒检测试剂盒 LAMP TaqMan 灵敏度检测

1-10: 模板浓度为  $10^7$  copy~2 copy，均可检测出，且 NTC 平线。该试剂盒灵敏度为 2~10 copy。



2. 人轮状病毒检测试剂盒（LAMP-TaqMan）抗干扰检测

1-3: 单管反应中  $10^5$  copy 标准质粒，并加入 0、50ng、100ng 人基因组作为干扰，结果表明添加基因组后对灵敏度无影响。5-6: 单管反应中无标准质粒，加入 50ng 和 100ng 人基因组，扩增结果无信号，表明轮状病毒特异性引物与人源基因序列无交叉，引物特异性良好。4: NTC，曲线平滑无扩增，表明引物特异性良好。

