

一种基于荧光定量 PCR 技术检测 A、B、C 组轮状病毒方法的建立

Establishment of a real-time fluorescent quantitative RT-PCR assay for detecting group A、B、C rotavirus

目 录

摘 要:	1
关键词:	1
1 前言	2
1.1 轮状病毒概况	2
1.2 研究现状	3
1.2.1 聚丙烯酰胺凝胶电泳技术	3
1.2.2 电镜技术	3
1.2.3 酶联免疫吸附试验技术	4
1.2.4 胶体金技术	4
1.2.5 PCR 技术	4
1.2.6 实时荧光定量 PCR	5
2 材料与方法	5
2.1 材料	5
2.2 主要试剂	5
2.3 引物探针和质粒的设计	5
2.4 引物探针的筛选	6
2.4.1 轮状病毒 A 型/轮状病毒 B 型/轮状病毒 C 型内标单检引物探针筛选	6
2.4.2 轮状病毒 A 型/轮状病毒 B 型/轮状病毒 C 型、内标四联检引物探针筛选	7
2.5 四重 PCR 检测体系优化	8
2.5.1 轮状病毒 A 型/轮状病毒 B 型/轮状病毒 C 引物用量的优化	8
2.5.1 轮状病毒 A 型/轮状病毒 B 型/轮状病毒 C 型探针用量的优化	9
2.5.1 轮状病毒 A 型/轮状病毒 B 型/轮状病毒 C 型内标引物/探针的优化	9
2.5.1 mMLV 酶用量的优化	9

2.5.1	热启动 Taq 酶（H-Taq 酶）用量优化	10
2.5.1	dNTPs 用量的优化	10
2.6	性能评估方案	10
2.6.1	检测范围	10
2.6.2	准确性（阳性符合率）	11
2.6.3	特异性（阴性符合率）	11
2.6.4	精密度	11
2.6.5	检测限	11
3	结果	12
3.1	筛选结果	12
3.1.1	轮状病毒 A 、 B 、 C、内标单独筛选结果	12
3.1.2	A、B、C 三组联检结果	13
3.2	体系优化结果	14
3.2.1	不同引物用量检测结果	14
3.2.2	不同探针用量的检测结果	15
3.2.3	不同内标引物、探针用量的检测结果	15
3.2.4	mMLV 酶用量优化结果	16
3.2.5	热启动酶 Taq 酶（H-Taq 酶）用量优化结果	16
3.2.6	dNTPs 用量优化结果	17
3.3	性能评估结果	17
3.3.1	检测范围结果	17
3.3.2	准确度结果	21
3.3.3	特异性结果	21
3.3.4	精密度结果	22
3.3.5	检测限结果	23
4	讨论	24
5	参考文献	25
	致 谢	26

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要
下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/797165142114006156>