

VDx[®] Abortion MP PCR / RT-PCR II

CAT.NO. NS-ABO-11 / NS-ABO-12



MEDIAN
Diagnostics

1. 제품의 개요

VDx[®] Abortion MP PCR / RT-PCR II는 감염의심시료에서 4종 돼지 유사산 바이러스 (ADV, PPV, EMCV, JEV)의 특정 유전자를 복합중합효소연쇄반응 (Multiplex PCR) 및 복합역전사중합효소연쇄반응 (Multiplex RT-PCR)로 증폭하여 바이러스의 존재여부를 검사할 수 있는 유전자검사시약입니다.

이 시약은 편도, 임파절, 유사산 태아의 흉수, 폐, 전혈 등의 시료에서 2종 DNA 바이러스(ADV,PPV)를 Multiplex PCR로, 2종 RNA 바이러스 (EMCV, JEV)를 Multiplex RT-PCR로 각각 One-Tube에서 One-step으로 바이러스의 특정유전자를 증폭하여 단독 및 복합 감염 여부를 검사할 수 있습니다.

2. 제품의 특징

- 1) VDx[®] Abortion MP PCR / RT-PCR II은 유전자증폭에 필요한 Primer, dNTP, Reverse transcriptase 및 *Taq* polymerase 등 RNA 혹은 DNA로부터 One-step으로 유전자를 증폭할 수 있는 구성요소가 적절하게 혼합된 Premix로 별도의 시약 준비 없이 바로 검사에 사용 가능합니다.
- 2) 1회 시험 분량으로 소분 및 건조된 상태로 공급되며, 사용 전에 primer mix 15 μ l를 첨가한 뒤 시료에서 추출한 유전자 5 μ l를 첨가하여 즉시 One-step MP PCR/RT-PCR 검사를 할 수 있습니다.
- 3) Control DNA가 제공되므로 유전자의 정상적인 증폭을 확인할 수 있습니다.
- 4) PCR 결과물은 전기영동 시 loading dye가 필요 없이 바로 사용할 수 있습니다.

3. 제품의 구성

Reagents	MP-PCR	MP RT-PCR II
PCR Premix(ADV/PPV)	50tests	-
RT-PCR Premix(JEV/EMCV)	-	50tests
Abortion PCR primer mix	400 μ l X 2	-
Abortion RT primer mix	-	400 μ l X 2
Control DNA	100 μ l X 1	100 μ l X 1
Instruction manual	1부	1부

4. 검사시료

4.1 검사용 시료의 준비

- 1) 바이러스별 검사에 사용할 수 있는 시료

Virus	Samples					
	Lung	Tonsils	Spleen	Lymph	Semen	Brain
ADV	+/-	+	+/-	+	+	+
PPV	+	+	+	+	+	+
EMCV	+	+	+	+	+/-	+/-
JEV	+	+	+	+	+	+

*Semen: Whole semen 또는 semen plasma

*임신 70일령 이하의 유사산 태아 (체장 16cm 미만)의 흉수, 체액 또는 폐, 편도, 비장, 임파절 등의 조직을 1g 절개하여 항생제가 첨가된 배지를 이용하여 10% 유제액으로 만든 후 그 원심 상층액 300 μ l를 취하여 사용합니다.

(대부분 임신중기(70-75일 이후) 유사산 태아는 그 원인 바이러스에 대한 항체가 생성되어 검사 효율이 떨어지므로, 임신 초기(70일 이전)의 유사산 태아인 경우 주로 사용함)

4.2 Virus nucleotides의 추출

(Qiagen[®] RNeasy Mini Kit 기준)

- 1) 10% 유제액 300 μ l로부터 RNeasy Mini Kit을 사용하여 PCR grade water(RNase-free water) 50 μ l 로 추출합니다. 유전자 추출방법은 제조사의 사용설명서를 참고하십시오.
- 2) 추출한 유전자 5 μ l를 RT-PCR 검사에 사용합니다.



주의 (CAUTION)

유전자 추출키트는 다른 제품의 사용이 가능하나 해당제조사의 사용설명서를 사전에 확인하십시오.

일부 추출 키트 중 elution buffer에 보존제가 첨가된 경우 반응을 저해 할 수 있습니다. 그런 경우 마지막 elution 단계에서 PCR grade water(RNase-free water)로 진행하여 주십시오.

5. 검사방법

- 1) 건조된 PCR 또는 RT-PCR Premix에 해당 primer mix 15 μ l를 넣은 후, 추출한 유전자를 5 μ l 넣고, 아래의 PCR program과 같이 PCR 혹은 RT-PCR을 실시합니다 (Total 20 μ l reaction).
- 2) PCR검사의 유효성을 확인하기 위하여 Control DNA를 동일한 방법으로 첨가합니다. Control DNA는 교차오염의 원인이 될 수 있으므로 아래의 주의사항을 참조합니다.
- 3) PCR cycle이 종료되면 그 중 5 μ l를 EtBr이 첨가된 1.5% agarose gel에서 통상적인 방법으로 전기영동하여 특이유전자의 존재여부를 확인합니다 (loading dye premix 내 포함). 이때 특이유전자 분획이 너무 많은 경우, 샘플 loading 양을 줄여서 전기영동하면 선명한 결과를 얻을 수 있습니다.



주의(CAUTION): Control DNA의 사용

- 1) Control DNA는 유전자 증폭이 이루어지는 여부를 확인하기 위한 대조시약으로, 시료와의 오염을 방지하기 위해 Filter tip을 이용하여 가장 마지막에 첨가해 사용합니다.
- 2) 유전자 증폭 완료 후, 전기영동 시에도 가장 마지막에 다루는 것이 좋습니다.

PCR Program

Step	MP PCR			MP RT-PCR II		
	Temp	Time	Cycle	Temp	Time	Cycle
cDNA Synthesis	-	-	-	50°C	30min	1 cycle
Initial Inactivation	94°C	3 min	1 cycle	95°C	15min	1 cycle
Denaturation	94°C	45sec	35 cycles	94°C	45sec	35 cycles
Annealing	55°C	30sec		55°C	30sec	
Extension	72°C	45sec		72°C	45sec	
Final Extension	72°C	10 min	1 cycle	72°C	10min	1 cycle

VDx[®] Abortion MP PCR / RT-PCR II

CAT.NO. NS-ABO-11 / NS-ABO-12



6. 결과판정

- Control DNA의 결과를 기준으로 아래 크기의 특이유전자 분획이 확인되면 양성으로 판정합니다.

Virus별 특이 유전자 Size

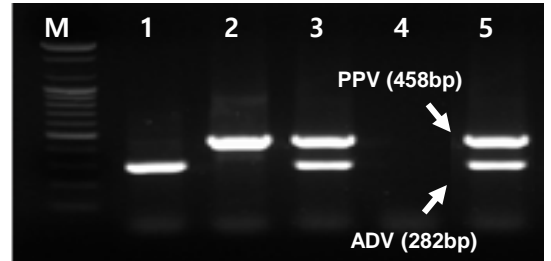
Virus	Target gene	Size
ADV	gD	282 bp
PPV	VP2	458 bp
EMCV	3D	286 bp
JEV	E, NS1	480 bp

사용시 주의사항

- 제품은 동물용 체외진단용으로만 사용하여야 합니다.
- 제품은 동물 질병에 대한 병성 감정에 필요한 시약으로 일반인 사용을 금하며, 동물병원 또는 병성감정기관 내 해당분야 전문가만이 사용이 가능합니다.
- 검체는 돼지에서 유래된 부검 조직, 혈액, 정액 및 세포배양액등을 사용합니다.
- 검체를 채취 및 수거 시에는 반드시 개인 보호장비(보호복, 마스크, 장갑, 보안경, 모자 및 신발 등) 착용 후, 수행합니다.
- 채취한 검체는 4°C를 유지하여 빠른 시간 내 (24시간 이내) 검사소로 송부합니다.
- 검체 중 JEV 양성 시료가 존재할 수 있으므로 시험자는 사전에 일본뇌염백신을 접종 받기를 권고합니다.
- 검사 후 남은 의심 검체, 오염된 실험 재료 및 기구 등을 폐기하고자 하는 경우, 고압증기멸균 처리 등으로 불활성화하여 폐기 하며, 작업 테이블 등을 70% 에탄올을 이용하여 10~30분간 소독 처리하여 실험실 내외로 질병이 확산되지 않도록 합니다.
- 제품과 시약은 -20°C 이하의 냉암소에서 유효기간 내에만 사용합니다.
- 제조 번호가 다른 제품의 시약은 섞거나 함께 사용하지 않습니다.
- 검사에 사용되는 용액, 가검물 등이 오염되지 않도록 주의합니다.
- 검사에 사용되는 모든 기구 즉, 피펫, PCR machine, UV transilluminator등의 기능이 정확한지 확인합니다.
- 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의하며 각 샘플마다 피펫팁을 교체하여 사용합니다.
- 시약의 사용 시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단 제품 재료들은 폐기물 처리하여 폐기하도록 합니다.
- 검사에 사용되는 모든 시약은 필요량만 꺼내어 해동하여 사용하고, 해동 후에는 ice batch 혹은 cool rack 에서 작업을 진행합니다. 사용하지 않는 premix는 -20°C 이하의 냉암소에 바로 넣어 보관합니다.
- 교차 오염을 방지하기 위해 primer mix, control DNA, 검체 등을 사용 시에는 반드시 필터피펫팁을 사용하여 실험하며, 특히 control DNA 가 시료에 오염되는 것을 방지하기 위해 시료 주입 시에는 필터팁을 이용하여 가장 마지막에 첨가해 사용합니다.
- 본 제품은 사용 PCR 장비의 성능(ramp rate, block type)에 따라 반응 감도 차이를 보일 수 있습니다. 사용 전에 PCR 장비의 규격을 확인해 주시기 바랍니다.
- 전기영동 결과는 판독자의 육안 확인에 따라 결과 차이가 발생할 수 있습니다.
- UV transilluminator의 조도나 image analyzer 경우, 카메라의 성능에 따라 결과에 차이가 있을 수 있습니다.
- 본 제품의 검사결과와 다른 임상 결과 및 실험결과와 함께 전문의사가 종합적으로 판단하여 최종 진단을 내려야 합니다.

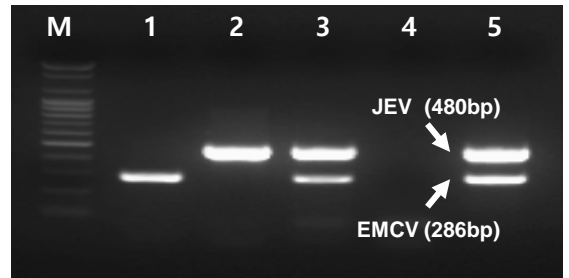
Gel Electrophoresis

Abortion MP PCR (PPV/ADV)



M: Size Marker,
Lane1: ADV 단독감염(282bp)
Lane2: PPV 단독감염(458bp)
Lane3: ADV/PPV 중복감염
Lane4: Negative control
Lane5: Control DNA

Abortion MP RT-PCR II (JEV/EMCV)



M: Size Marker
Lane 1: EMCV 단독감염(286bp)
Lane2: JEV 단독감염(480bp)
Lane3: JEV, EMCV 중복감염
Lane4: Negative control
Lane5: Control DNA

7. 사용기간

본 제품은 -20°C 냉암소에서 제조일로부터 12개월입니다. 개봉 시에는 개봉 후 6개월입니다.

기술지원 및 문의

유효기간 내 제품은 고객센터기준에 의하여 제품교환이나 기술지원을 요청하실 수 있습니다.

문의처: (주) 메디안디노스틱 품질보증본부
24399 강원도 춘천시 동내면 순환대로 878
전화 033 244 0100, 팩스 033 244 4634
median@mediandx.com