

VDx[®] ASFV qPCR

Cat. No. NS-ASF-31



1. 제품의 개요

VDx[®] ASFV qPCR은 ASFV 감염의심 시료에 대해 특이 유전자를 실시간 중합효소연쇄반응법 (Real time PCR)으로 증폭하여 바이러스의 존재여부를 검사할 수 있는 유전자 검사 시약입니다. ASFV의 특이적인 유전자(p72)를 TaqMan probe를 이용하여 특이성 높게 검사합니다.

2. 제품의 특징

- 1) VDx qPCR은 유전자증폭에 필요한 Primer, 형광Probe, dNTP 및 Taq Polymerase 등 DNA로부터 유전자를 증폭할 수 있도록 필요한 구성요소가 들어있습니다.
- 2) 각 PCR tube 당 premix 형태로 15 μ l 씩 제공되며, 추출한 유전자 5 μ l을 첨가하여 즉시 qPCR 검사를 할 수 있습니다(최종 20 μ l 반응).
- 3) 반응의 검증을 위한 Control DNA 을 제공하여 드러 반응의 유효함을 확인 할 수 있습니다.

3. 제품의 구성

No	Reagents	96T
1	qPCR Premix	8T X 12strip
2	Control DNA	100 μ l
3	Manual	1부

4. 검사 준비

4.1 검사용 시료의 준비

- 1) 검사에 사용할 수 있는 시료는 돼지의 **혈장, 혈청, 백혈구 및 조직시료, 세포배양액**을 사용할 수 있습니다.
- 2) 시료는 가능한 신선한 것을 사용하고 보관 시에는 냉동 보관합니다.

4.2 Virus nucleotides의 추출

(Qiagen[®] QIAamp DNA Mini Kit 기준)

- 1) 10% 유제액 300 μ l로부터 DNA 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 qPCR 검사에 사용합니다.



주의 (Caution)

유전자 추출키트는 다른 제품의 사용이 가능하나 해당 제조사의 사용자설명서를 사전에 확인 하십시오.

5. 검사방법

- ❖ premix (enzyme 및 시약)의 활성을 유지하기 위해 작업 시 ice 혹은 cool rack 을 이용하여 저온에서 작업할 수 있도록 합니다.

- 1) 제품에 포함된 Target probe는 FAM, IPC는 HEX가 부착되어 있으므로 PCR machine의 program 설정 시 detector를 **FAM**과 **HEX**로 설정하여 주십시오. 준비된 premix에 추출한 유전자 5 μ l 를 넣고 아래의 PCR Program과 같이 PCR을 실시합니다(이때 사용 PCR tube에 기포가 생기지 않도록 주의하며 spin-down 하여 tube 바닥으로 용액을 모이게 합니다).
- 2) 음성 control 로 H₂O 를 넣어 주시고, control DNA를 넣어줍니다. Control DNA는 교차오염의 원인이 될 수 있으므로 아래의 유의사항을 참조하십시오.



주의(Caution): Control DNA의 사용

- 1) Control DNA는 반응의 유효성을 확인하기 위한 표준시약으로 시료에 오염되기 쉬우므로 Filter tip을 사용하고 가장 마지막에 첨가하거나 사용하십시오.
- 2) qPCR은 민감도가 뛰어나 시료 handling 시 적은 양의 오염도 검출될 수 있으므로 control DNA 전용 pipette 을 구분하여 사용 권장합니다.

6. PCR Program

Step	qPCR Cycle (20 μ l reaction)		
	Temp	Time	Cycle
UDG reaction	50 $^{\circ}$ C	2min	1 cycle
Initial inactivation	95 $^{\circ}$ C	10min	1 cycle
Denaturation	95 $^{\circ}$ C	15 sec	40 cycles
Annealing	58 $^{\circ}$ C	60 sec	
Extension			
hold	4 $^{\circ}$ C	10 sec	1cycle

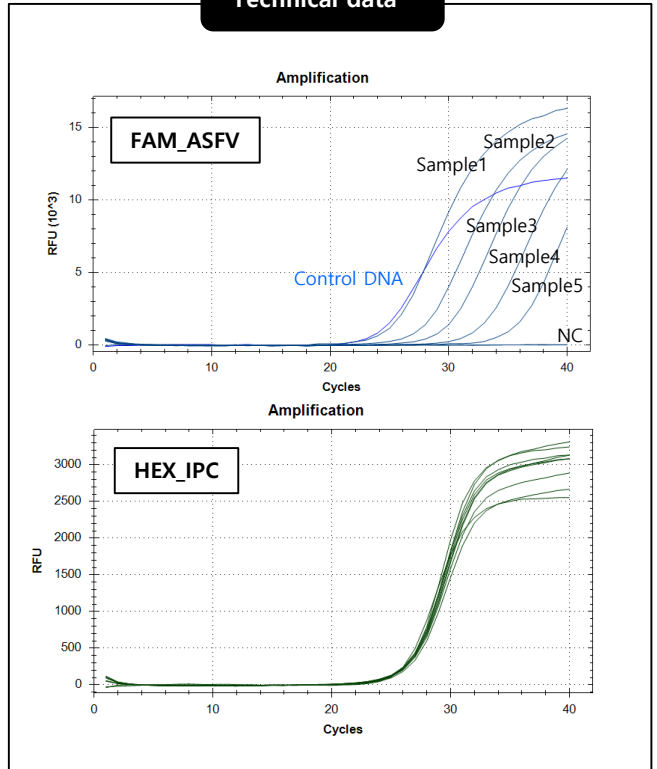
*ABI7500 경우 reference dye : none 설정 후 사용.

7. 결과판정

- 1) 결과판정은 사용 PCR machine의 판독 기준에 따라 결정되며 해당 장비의 manual를 참고 합니다.
- 2) 음성 control이 음성(해당 IPC는 양성)으로 판독 되었을 때에만 정상적인 결과 판정을 진행합니다.
- 3) 반응 내부에 IPC(Internal positive control)이 있어 시료내 존재 가능한 저해제에 의한 반응의 영향성을 확인할 수 있습니다.
- 4) 결과 판정 예시는 아래와 같습니다.

	Case1	Case2	Case3
FAM (ASFV)	POS	NEG	NEG
HEX (IPC)	POS / NEG	POS	NEG
결과 판독	양성	음성	재확인

Technical data



8. 사용기간

본 제품은 -20°C 냉암소에서 제조일로부터 12개월(키트의 유효기간 이내), 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