

## 1. 제품의 개요

VDx® PCV2 ORF2 PCR은 감염의 심시료에서 PCV2 바이러스의 ORF2 유전자를 증폭하여 바이러스의 존재여부를 검사할 수 있는 유전자검사시약입니다.

VDx® PCV2 ORF2 PCR은 493bp에 해당하는 PCV2의 특이적인 유전자만을 증폭하며 PCV type 1의 유전자는 증폭되지 않습니다.

## 2. 제품의 특징

- 1) VDx® PCV2 ORF2 PCR은 유전자증폭에 필요한 Primer, dNTP, Taq polymerase 등의 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 15µl를 첨가한 뒤 시료에서 추출한 유전자 5µl을 첨가하여 즉시 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	50 Tests
1) PCR Premix(PCV2)	50T
2) PCV2 primer mix	400µl X 2
3) Control DNA	100µl X 1
4) Instruction manual	1부

## 4. 검사시료

### 4.1 검사용 시료의 준비

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

### 4.2 Virus nucleotides의 추출

(Qiagen® RNeasy Mini Kit 기준)

- 1) 10% 유제액 300µl로부터 **RNeasy Mini Kit**을 사용하여 PCR grade water(RNase-free water) 50µl 로 추출합니다. 유전자 추출방법은 제조사의 사용설명서를 참고하십시오.
- 2) 추출한 유전자 5µl를 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 Premix에 PCV2 primer mix 15µl를 넣은 후, 추출한 유전자를 **5µl** 넣고, 아래의 PCR program과 같이 PCR을 실시합니다 (Total 20µl 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 5µl를 EtBr이 첨가된 1.5% agarose gel에서 통상적인 방법으로 전기 영동하여 특이유전자의 존재여부를 확인합니다 (loading dye premix 내 포함). 이때 특이유전자 분획이 너무 많은 경우, 샘플 loading 양을 줄여서 전기 영동을 실시하면 좀 더 선명한 결과를 얻을 수 있습니다.

## PCR Program

Step	PCR Cycle		
	Temp.	Time	Cycle
Initial Denaturation	94°C	3 min	1 cycle
Denaturation	94°C	20 sec	35 cycles
Annealing	55°C	20 sec	
Extension	72°C	30 sec	
Final Extension	72°C	10 min	1 cycle



### 주의(CAUTION): Control DNA의 사용

- 1) 제품에 포함된 Control DNA는 317bp의 유전자가 증폭되도록 설계되어 있습니다.
- 2) 시료에서 317bp의 유전자가 검출되면 Control DNA가 오염된 것으로 판정할 수 있습니다.
- 3) Control DNA는 유전자 증폭이 이루어지는 여부를 확인하기 위한 대조시약으로, 시료와의 오염을 방지하기 위해 Filter tip을 이용하여 가장 마지막에 첨가해 사용합니다.
- 4) 유전자 증폭 완료 후 전기영동 시에도 가장 마지막에 다루는 것이 좋습니다.

## 6. 결과판정

- 1) Control DNA는 317bp의 증폭산물을 확인할 수 있습니다.
- 2) 시료에서 아래 크기의 분획이 확인되면 양성으로 판정합니다.

### Virus별 특이 유전자 Size

Virus	Target gene	Size
PCV2	ORF2	493 bp
Control DNA	-	317 bp

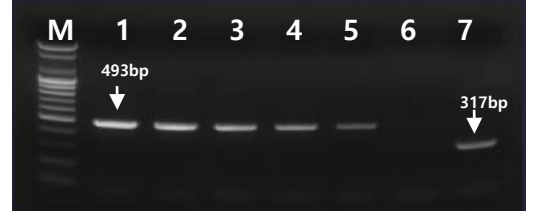


### 사용 시 주의사항

1. 제품은 동물용 체외진단용으로만 사용하여야 합니다.
2. 제품은 동물 질병에 대한 병성 감정에 필요한 시약으로 일반인 사용을 금하며, 동물병원 또는 병성감정기관 내 해당분야 전문가만이 사용이 가능합니다.
3. 검체는 돼지에서 유래된 부검 조직, 혈액, 정액 및 세포배양액등을 사용합니다.
4. 검체를 채취 및 수거 시에는 반드시 개인 보호장비(보호복, 마스크, 장갑, 보안경, 모자 및 신발 등) 착용 후, 수행합니다.
5. 채취한 검체는 4°C를 유지하여 빠른 시간 내 (24시간 이내) 검사소로 송부합니다.
6. 검사 후 남은 의심 검체, 오염된 실험 재료 및 기구 등을 폐기하고자 하는 경우 고압증기멸균 처리 등으로 불활성화하여 폐기하며, 작업 테이블 등을 70% 에탄올을 이용하여 10~30분간 소독 처리하여 실험실 내외로 질병이 확산되지 않도록 합니다.
7. 제품과 시약은 -20°C 이하의 냉암소에서 유효기간 내에만 사용합니다.
8. 제조번호가 다른 제품의 시약은 섞거나 함께 사용하지 않습니다.
9. 검사에 사용되는 용액, 가검물 등이 오염되지 않도록 주의합니다.
10. 검사에 사용되는 모든 기구 즉, 피펫, PCR machine, UV transilluminator 등의 기능이 정확하진지 확인합니다.
11. 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의하며 각 샘플마다 피펫팁을 교체하여 사용합니다.
12. 시약의 사용 시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단 제품 & 재료들은 폐기물로 취급하여 폐기하도록 합니다.
13. 검사에 사용되는 모든 시약은 필요량만 꺼내어 행동하여 사용하고, 행동 후에는 ice batch 혹은 cool rack 에서 작업을 진행합니다. 사용하지 않는 premix는 -20°C 이하의 냉암소에 바로 넣어 보관합니다.
14. 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.
15. 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.
16. 전기영동 결과는 판독자의 육안 확인에 따라 결과 차이가 발생 할 수 있습니다.
17. UV transilluminator 의 조도나 image analyzer 경우 카메라의 성능에 따라 결과에 차이가 있을 수 있습니다.
18. 본 제품의 검사결과는 다른 임상 결과 및 실험결과와 함께 전문수의사가 종합적으로 판단하여 최종 진단을 내려야 합니다.

## Gel Electrophoresis

### PCV2 ORF2 PCR (Cat.# NS-PCV-11)



- M: Size Marker  
 Lane 1: PCV2 감염(493bp)  
 Lane 2: PCV2 감염(493bp)  
 Lane 3: PCV2 감염(493bp)  
 Lane 4: PCV2 감염(493bp)  
 Lane 5: PCV2 감염(493bp)  
 Lane 6: Negative control  
 Lane 7: Control DNA(317bp)

## 7. 사용기간

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



### 주의(CAUTION): 정액(Sperm) 시료의 검사

정액시료는 단백질성분이 많아 유전자 추출 시 유전자 증폭 방해 물질이 완전하게 제거되지 않는 경우가 많으므로 주의를 요합니다.

- 다음 방법은 정액시료 검사의 정확도를 향상시킬 수 있습니다.
- 정액시료는 Whole sperm을 사용합니다.
  - 정액시료는 시료채취 시 보존액에 1/5로 희석하여 검사하는 것이 검사의 정확도를 향상시킬 수 있습니다.
  - 동결된 정액원액을 검사하는 경우, 증류수로 1/5로 희석한 후 검사에 사용합니다. 검사 전에 희석하는 경우 정액과 증류수를 혼합하여 충분히 진탕한 후 검사에 사용합니다.

유전자 증폭산물의 양이 적어 양성반응이 약하게 나타날 수 있으므로 판독에 유의합니다.

양성농장(Herd)이 확인되면 정확한 감염개체를 확인하기 위하여 정밀검사가 필요할 수 있습니다.

바이러스의 Typing이 필요한 경우 DNA Chip을 사용하여 검사할 수 있습니다.

### 기술지원 및 문의

유효기간 내 제품은 고객센터기준에 의하여 제품교환이나 기술지원을 요청하실 수 있습니다.

문의처: (주) 메디안디노스틱 품질보증본부  
 200-883 강원도 춘천시 동내면 순환대로 878  
 전화 033 244 0100, 팩스 033 244 4634

[median@mediandx.com](mailto:median@mediandx.com)