

VDx[®] PRRSV ORF7 RT-PCR

VDx[®] PRRSV NA/EU Typing Nested PCR

CAT. NO. NS-PRR-11, NS-PRR-12



1. 제품의 개요

VDx[®] PRRSV ORF7 RT-PCR / Nested PCR 감염의심시료에서 PRRSV 바이러스의 존재여부를 검사할 수 있는 유전자 검사 시약입니다.

VDx[®] PRRSV ORF7 RT-PCR은 PRRSV의 복미형 및 유럽형 ORF7 유전자를 동시에 증폭합니다. PRRSV NA/EU typing Nested PCR은 정액 및 혈액 등의 가검물에서 소량의 바이러스 유전자를 검사할 때 사용할 수 있도록 제작된 유전자 검사시약입니다.

2. 제품의 특징

- 1) VDx[®] PRRSV ORF7 RT-PCR/ Nested PCR은 Primer, dNTP 및 Reverse transcriptase, Taq polymerase 등 RNA 혹은 DNA로부터 One-step으로 유전자를 증폭할 수 있는 구성 요소가 적절하게 혼합된 Premix로 별도의 시약 준비 없이 바로 검사에 사용 가능합니다.
- 2) 1회 시험 분량으로 소분 및 건조된 상태로 공급되며, 사용 전에 primer mix를 첨가한 뒤 추출 유전자 혹은 PCR product를 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	ORF7 RT- PCR	Nested PCR
RT-PCR Premix(PRRSV)	50T	-
PCR Premix(PRRSV nested)	-	50T
Control DNA	100 μ l X 1	-
PRRSV Primer mix	400 μ l X 2	-
PRRSV nested Primer mix	-	500 μ l X 2
Instruction manual	1부	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 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 저해할 수 있습니다. 그런 경우 마지막 elution 단계에서 PCR grade water(RNase-free water)로 진행하여 주십시오.

5. 검사방법

❖ PRRSV ORF7 RT-PCR (#NS-PRR-11)

- 1) 건조된 PRRSV ORF7 RT-PCR Premix에 PRRSV primer mix 15 μ l를 넣은 후, 추출한 유전자를 5 μ l 넣고, 아래의 PCR program과 같이 PCR을 실시합니다 (Total 20 μ l reaction).
- 2) RT-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).
- 4) 양성으로 의심되는 시료는 정확한 확인 검사를 위해 PRRSV NA/EU typing Nested PCR (#3026)를 사용하여 검사합니다.

❖ PRRSV NA/EU Typing Nested PCR (#NS-PRR-12)

- 1) PRRSV NA/EU typing Nested PCR (3026) Premix 에 PRRSV Nested primer mix 19 μ l를 넣은 후 PRRSV ORF7 RT-PCR에서 증폭된 유전자 1 μ l를 첨가하고 아래의 PCR Program과 같이 PCR을 실시합니다. (20 μ l reaction)
- 2) PCR cycle이 종료되면, 그 중 5 μ l를 EtBr이 첨가된 1.5% agarose gel에서 통상적인 방법으로 전기영동하고 특이유전자의 존재여부를 확인합니다.

PCR Program

Step	RT-PCR (#NS-PRR-11)			Nested PCR (#NS-PRR-12)		
	Temp	Time	Cycle	Temp	Time	Cycle
cDNA synthesis	50°C	30 min	1 cycle			
Initial inactivation	95°C	15 min	1 cycle	94°C	3 min	1 cycle
Denaturation	94°C	20 sec	35 cycles	94°C	20 sec	25 cycles
Annealing	55°C	30 Sec		55°C	20 sec	
Extension	72°C	40 sec		72°C	30 sec	
Final Extension	72°C	5 min	1 cycle	72°C	5 min	1 cycle



주의(CAUTION): Control DNA의 사용

- 1) 제품에 포함된 Control DNA는 756bp의 유전자가 증폭되도록 설계되어 있습니다.
- 2) 시료에서 756bp의 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.

VDx[®] PRRSV ORF7 RT-PCR

VDx[®] PRRSV NA/EU Typing Nested PCR

CAT. NO. NS-PRR-11, NS-PRR-12



6. 결과판정

- 1) Control DNA는 756bp의 증폭산물을 확인할 수 있습니다.
- 2) 시료에서 아래 크기의 분획이 확인되면 양성으로 판정합니다.

Virus별 특이 유전자 Size

Product	Virus	Target gene	Size
PRRSV ORF7	PRRSV 북미형	ORF7	433 bp
RT-PCR	PRRSV 유럽형	ORF7	398 bp
PRRSV Nested	PRRSV 북미형	ORF7	287bp
PCR	PRRSV 유럽형	ORF7	184bp

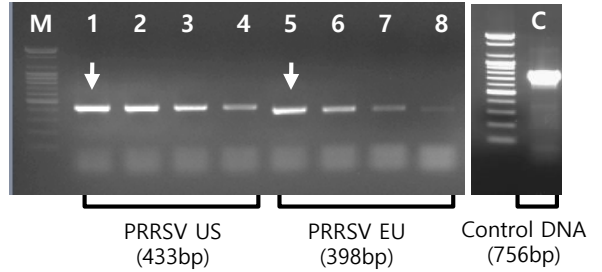


사용 시 주의사항

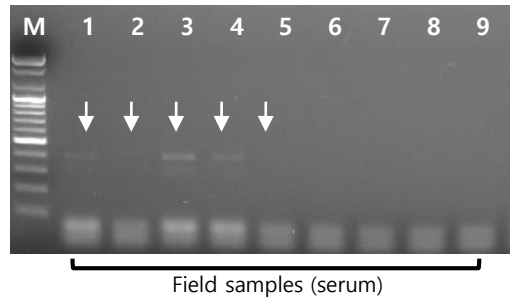
- (1) 제품은 동물용 체외진단용으로만 사용하여야 합니다.
- (2) 제품은 동물 질병에 대한 병성 감정에 필요한 시약으로 일반인 사용을 금하며, 동물병원 또는 병성감정기관 내 해당분야 전문가만이 사용이 가능합니다.
- (3) 검체는 돼지에서 유래된 부검 조직, 혈액, 정액 및 세포 배양액 등을 사용합니다.
- (4) 검체를 채취 및 수거 시에는 반드시 개인 보호 장비 (보호복, 마스크, 장갑, 보안경, 모자 및 신발 등) 착용 후, 수행 합니다.
- (5) 채취한 검체는 4°C를 유지하여 빠른 시간 내 (24시간 이내) 검사소로 송부합니다.
- (6) 검사 후 남은 의심 검체, 오염된 실험 재료 및 기구 등을 폐기하고자 하는 경우, 고압증기멸균 처리 등으로 불활성화 하여 폐기하여야 하며, 작업 테이블 등을 70% 에탄올을 이용하여 10~30분간 소독 처리하여 실험실 내외로 질병이 확산 되지 않도록 합니다.
- (7) 제품과 시약은 -20°C 이하의 냉암소에서 유효기간 내에만 사용합니다.
- (8) 제조 번호가 다른 제품의 시약은 섞거나 함께 사용하지 않습니다.
- (9) 검사에 사용되는 용액, 가검물 등이 오염되지 않도록 주의 합니다.
- (10) 검사에 사용되는 모든 기구 즉, 피펫, PCR machine, UV transilluminator 등의 기능이 정확한지 확인합니다.
- (11) 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의하며 각 샘플 마다 피펫팁을 교체하여 사용합니다.
- (12) 시약의 사용 시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단 제품&재료들은 폐기물로 취급하여 처리 하도록 합니다.
- (13) 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.
- (14) 교차 오염을 방지하기 위해 primer mix, control DNA, 검체 등을 사용 할 경우에는 반드시 필터 피펫팁을 사용하여 실험 하며, 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 transilluminator의 조도나 image analyzer 경우 카메라의 성능에 따라 결과에 차이가 있을 수 있습니다.
- (18) 본 제품의 검사결과는 다른 임상 결과 및 실험 결과와 함께 전문수의사가 종합적으로 판단하여 최종 진단을 내려야 합니다

Gel Electrophoresis (1.5% Agarose)

PRRSV ORF7 RT-PCR (Cat# NS-PRR-11)

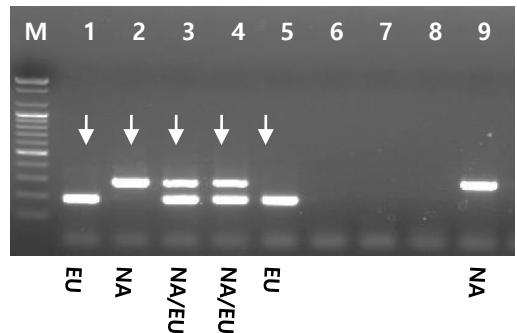


PRRSV ORF7 RT-PCR (Cat# NS-PRR-11)



↓
**Nested
PCR**

PRRSV NA/EU typing Nested PCR(Cat# NS-PRR-12)



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
243-99 강원도 춘천시 동내면 순환대로 878
전화 033 244 0100, 팩스 033 244 4634
median@mediandx.com