

가금티푸스균 감별 동정용 PCR

CAT. NO. NP-FTI-11



1. 제품의 개요

가금티푸스균 감별 동정용 PCR은 감염의심시료에서 가금티푸스균 (*Salmonella gallinarum*) 및 근연관계의 추백리균(*Salmonella pullorum*) 및 가금티푸스 백신용 생균 2종 (9R, SR2-N6) 유전자를 증폭하여 존재여부를 검사할 수 있는 유전자검사시약입니다.

2. 제품의 특징

- 가금티푸스균 감별 동정용 PCR은 유전자증폭에 필요한 Primer, dNTP, Taq polymerase 등의 구성요소가 적절하게 혼합된 Premix로 별도의 시약 준비 없이 바로 검사에 사용 가능합니다.
- 1회 시험 분량으로 소분 및 건조된 상태로 공급되며, 사용 전에 PCR grade water 19 μ l를 첨가한 뒤 시료에서 추출한 유전자 1 μ l을 첨가하여 즉시 PCR 검사를 할 수 있습니다.
- Control DNA가 제공되므로 유전자의 정상적인 증폭을 확인할 수 있습니다.
- PCR 결과물은 전기영동 시 loading dye가 필요 없이 바로 사용할 수 있습니다.

3. 제품의 구성

Reagents	50 Tests
PCR Premix	56T
Control DNA	100 μ l X 1
PCR grade water	1ml X 1
Instruction manual	1부

❖ 본 premix는 8 tests 단위로 개별 진공포장 되어있으며, control 사용 등의 소요 분을 포함하여 실제 56 tests로 구성 되어 있습니다.

4. 검사시료

4.1 검사용 시료의 준비 및 Nucleotides의 추출

- 살모넬라 균주를 한천평판배지에 도말하여 37°C에서 24시간 배양합니다.
- 순수한 집락을 무균적으로 채취하여 100 μ l의 TE (Tris-EDTA) buffer에 현탁시킵니다.
- 상기 현탁액을 100°C에서 5분간 끓인 후 14,000 xg에서 5분간 원심한 후 상층액만 취하여 PCR 검사에 사용합니다.

5. 검사방법

- 건조된 PCR Premix에 PCR grade water 19 μ l를 넣은 후, 추출한 유전자를 1 μ l 넣고, 아래의 PCR program과 같이 PCR을 실시합니다 (Total 20 μ l reaction).
- PCR검사의 유효성을 확인하기 위하여 Control DNA를 동일한 방법으로 첨가합니다. Control DNA는 교차오염의 원인이 될 수 있으므로 아래의 주의사항을 참조합니다.
- PCR cycle이 종료되면 그 중 5 μ l를 EtBr이 첨가된 2.0% 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.

PCR Program

Step	PCR Cycle		
	Temp.	Time	Cycle
Initial Denaturation	94°C	5 min	1 cycle
Denaturation	94°C	30 sec	30 cycles
Annealing	64°C	30 sec	
Extension	72°C	60 sec	
Final Extension	72°C	7 min	1 cycle



주의(Caution): Control DNA의 사용

- 제품에 포함된 Control DNA는 119bp, 174bp, 252bp, 361 bp의 유전자가 동시에 증폭되도록 설계되어 있습니다.
- Control DNA는 유전자 증폭이 이루어지는 여부를 확인하기 위한 대조시약으로, 시료와의 오염을 방지하기 위해 Filter tip을 이용하여 가장 마지막에 첨가해 사용합니다.
- 유전자 증폭 완료 후 전기영동 시에도 가장 마지막에 다루는 것이 좋습니다.

가금티푸스균 감별 동정용 PCR

CAT. NO. NP-FTI-11



6. 결과판정

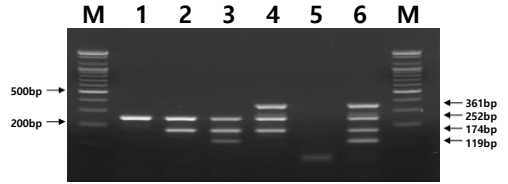
- 1) 본 제품은 SG, SP 양성 모두에 대해 252bp의 특이분획이 공통적으로 확인됩니다.
- 2) 가금티푸스균의 아형은 분획 크기에 아래 표와 같이 판정합니다.

특이 유전자 Size 패턴

Pathogen	Size		
SP	-	-	252bp
SG	-	174bp	252bp
SG-9R	119bp	174bp	252bp
SG-SR2-N6	-	174bp	252bp, 361bp
Control DNA	119bp	174bp	252bp, 361bp

Gel Electrophoresis

가금티푸스 감별 동정용 PCR



2.0% Agarose gel

M: Size Marker

Lane 1 : *Salmonella pullorum*

Lane 2 : *Salmonella gallinarum*

Lane 3 : *Salmonella gallinarum*-9R

Lane 4 : *Samonella gallinarum* SR2-N6

Lane 5 : Negative control

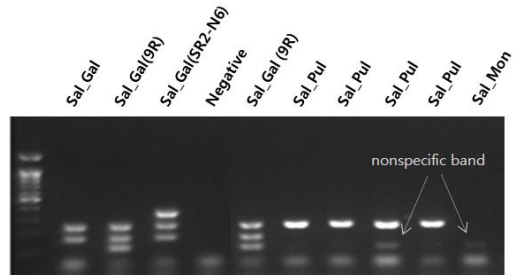
Lane 6 : Control DNA

사용 시 주의사항

1. 제품은 동물용 체외진단용으로만 사용하여야 합니다.
2. 제품은 동물 질병에 대한 병성감정에 필요한 시약으로 일반인 사용을 금하며, 동물병원 또는 병성감정기관 내 해당분야 전문가만이 사용이 가능합니다.
3. 검체를 채취 및 수거 시에는 반드시 개인 보호장비(보호복, 마스크, 장갑, 보안경, 모자 및 신발등) 착용 후 수행합니다.
4. 채취한 검체는 4°C를 유지하여 빠른 시간 내 (24시간 이내)검사소로 송부합니다.
5. 검사 후 남은 의식검체, 오염된 실험재로 및 기구등은 폐기하고자 하는 경우 고압증기멸균 처리등으로 불활성화하여 폐기하며, 작업 테이블 등을 70% 에탄올을 이용하여 10~30분간 소독 처리하여 실험실 내외로 질병이 확산되지 않도록 합니다.
6. 제품과 시약은 -20°C 이하의 냉암소에서 유효기간 내에만 사용합니다.
7. 제조번호가 다른 제품의 시약은 섞거나 함께 사용하지 않습니다.
8. 검사에 사용되는 용액, 가검물 등이 오염되지 않도록 주의합니다.
9. 검사에 사용되는 모든 기구 즉, 피펫, PCR machine, UV transilluminator등의 기능이 정확한지 확인합니다.
10. 샘플의 채취, 보관, 이동 중에 상호 혼합되지 않도록 주의하며 각 샘플마다 피펫팁을 교체하여 사용합니다.
11. 시약의 사용 시 피부와 점막에 닿지 않도록 합니다. 사용된 모든 진단제품 재료들은 폐기를 처리하여 폐기하도록 합니다.
12. 검사에 사용되는 모든 시약은 필요양만 꺼내어 해동하여 사용하고, 해동 후에는 ice batch 혹은 cool rack 에서 작업을 진행합니다. 사용하지 않는 premix는 -20°C 이하의 냉암소에 바로 넣어 보관합니다.
13. Cross 오염을 방지하기 위해 primer mix, control DNA, 검체등을 사용 시에는 반드시 필터피펫팁을 사용하여 실험하며, 특히 control DNA 가 시료에 오염되는 것을 방지하기 위해 시료 주입 시에는 필터팁을 이용하여 가장 마지막에 첨가해 사용합니다.
14. 본 제품은 사용 PCR 장비의 성능(ramp rate, block type)에 따라 반응 감도 차이를 보일 수 있습니다. 사용전에 PCR 장비의 규격을 확인해 주시기 바랍니다.
15. 전기영동 결과는 육안적인 검사 결과로 염색 dye (ETBr or safe red 기타 염색 dye 등)를 판독자에 따라 결과 차이가 발생 할 수 있습니다.
16. UV transilluminator의 조도나 image analyzer 경우 카메라의 성능에 따라 결과에 차이가 있을 수 있습니다.
17. 본 제품의 검사결과는 다른 임상결과나 실험결과와 함께 전문수의사가 종합적으로 판단하여 최종 진단을 내려야 합니다.

주의(Cautions): SG-9R(SNP primer) 판독

SG-9R 경우 119bp/174bp/252bp band 모두가 확인되어야 SG-9R 양성 판정합니다. SG-9R 백신의 특이 PCR product size 인 119bp의 primer의 경우, *SNP* 차이로 고농도의 template 환경에서 아래쪽 그림과 같이 이종의 시료에 대해 비특이밴드(nonspecific band)가 확인될 가능성이 존재합니다. 예상 결과 표 이외의 패턴이 관찰되는 경우 아래 연락처로 기술 문의하여 주시면 감사하겠습니다. 참고로 비특이밴드가 나오는 경우는 template를 DW를 이용해 1/10~1/100 희석한 후 다시 반응하시면 깨끗한 결과를 확인할 수 있습니다.



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
200-883 강원도 춘천시 동내면 순환대로 878
전화 033 244 0100, 팩스 033 244 4634

median@mediandx.com