

## Prime-Q PRRSV Detection Kit

- **Target: Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus NA, EU type**
- **Reagent type: qRT-PCR**
- **Recommended Real-time PCR thermal cycler:**
  - Bio-Rad CFX96 Real-time PCR System (96-well)

Products Name	Cat. No.	Volume
Prime-Q PRRSV Detection Kit	ADP-1000Q	50 tests

### Components:

- |                            |                            |
|----------------------------|----------------------------|
| 1. One-step qRT-PCR Premix | 500 $\mu\text{l}$ x 1 tube |
| 2. Primer/Probe Mixture    | 250 $\mu\text{l}$ x 1 tube |
| 3. Positive Control        | 100 $\mu\text{l}$ x 1 tube |
| 4. Negative Control        | 100 $\mu\text{l}$ x 1 tube |

### Description:

Prime-Q PRRSV Detection Kit는 돼지 생식기호흡기증후군을 유발하는 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)의 서브타입인 북미형과 유럽형의 유전자를 동시에 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 One-step qRT-PCR 키트입니다.

### Standard reaction protocols

- Template 준비:** 각 실험실에서 사용하는 추출방법에 따라 시료에서 template를 추출하여 준비한다.
- 제품의 개봉 및 해동:** 시약은 spin-down한 후 ice 또는 lap-top cooler 상에서 해동한다. 해동된 시약은 vortexing한 후 spin-down하여 사용한다.
- PCR 반응액 준비:** 아래의 표 1을 참고하여 PCR 반응액의 총 부피가 20  $\mu\text{l}$ 가 되도록 제조한다.
  - Primer/Probe Mixture와 Template 양은 각 5  $\mu\text{l}$ 를 넣어 제조한다.
  - Template 양이 5  $\mu\text{l}$ 가 되지 않을 경우 DEPC DW를 첨가하여 5  $\mu\text{l}$ 가 되도록 넣어준다.
  - 실험 대조군은 제공된 Positive Control과 Negative Control을 template로 사용하며, 각 5  $\mu\text{l}$ 를 넣어 준비한다.
  - PCR 반응액을 균질화한 후 spin-down하여 PCR 반응을 준비한다.

### 표 1. Mixing Condition:

Components	Volume
One-step qRT-PCR Premix (2X)	10 $\mu\text{l}$
Primer/Probe Mixture	5 $\mu\text{l}$
Template (Sample RNA, PC, NC)	5 $\mu\text{l}$
Total reaction volume	20 $\mu\text{l}$

- Real-time PCR Run:** 표 2의 PCR 조건에 따라 PCR 장비를 설정하고 PCR 반응을 수행한다.

### 표 2. Set up and run the real-time PCR instrument:

Step	Temperature	Time	Cycle
cDNA Synthesis	50 °C	20 min	1
Pre-denaturation	95 °C	10 min	1
Denaturation	95 °C	10 sec	40
Annealing/Extension	60 °C	30 sec	

### Criterion of Interpretation of test results:

Reaction type	value	Interpretation
Positive control	< 25 Ct	reagents are no problem
NTC	no signal	reagents are no problem
Viral DNA sample	10 ~ 38 Ct RFU 50이상	PRRSV Positive
	no signal	PRRSV Negative
	38 ~ 40 Ct RFU 50이하	Suspected result <sup>1)</sup>

1) Repeat the real-time RT-PCR with 1, 2.5, 5  $\mu\text{l}$  of extracted DNA from step 3.

### 1. 양성 판정 조건 (Cut-off Value)

음성 대조군에서 PCR 증폭이 일어나지 않고, 양성 대조군에서 증폭이 일어났을 때, 대상 시료에서 PCR 증폭이 **10~38 Ct, RFU값 50이상 (threshold value: 50)**에서 나타났을 경우, 시료는 해당 바이러스 유전자가 검출된 것으로 판정한다.

2. Positive control에서 증폭이 일어나지 않았을 경우에는 재분석을 실시한다.

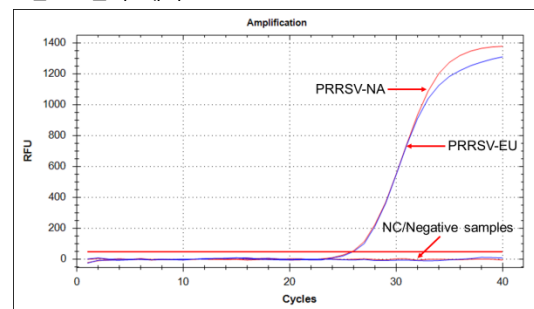
3. Negative control에서 증폭이 일어났을 경우 "오염"으로 간주하고 재분석을 실시한다.

4. Target의 fluorescent dye는 표 3과 같다.

### 표 3. Fluorescent Dye type of Targets

Fluorophore	Target
FAM	PRRSV-NA
CY5	PRRSV-EU

그림 1. 결과 예시



● For Veterinary Use Only

● Store at -20°C