

# Prime-Q PRRSV / PCV2 Detection Kit

(Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus NA, EU type / Porcine Circovirus type 2)  
(for One-step qRT-PCR)

Products Name	Cat. No.	Volume
Prime-Q PRRSV / PCV2 Detection Kit	ADP-1113Q2	50 tests

### Components:

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

### Description:

Prime-Q PRRSV / PCV2 Detection Kit는 돼지 생식기호흡기증후군을 유발하는 Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV)의 서브타입인 북미형과 유럽형의 유전자와 돼지 썩코바이러스 병을 유발하는 원인 바이러스인 Porcine Circovirus type 2 (PCV2)의 유전자를 동시에 신속하고 정확하게 검출할 수 있는 One-step qRT-PCR 키트입니다.

### Standard reaction protocols

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

PCR 반응액을 균질화한 후 spin-down하여 PCR 반응을 준비한다.

### 표 1. Mixing Condition:

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

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

### 표 2. PCR Condition:

Step	Temperature	Time	Cycle
cDNA Synthesis	50 $^{\circ}$ C	20 min	1
Pre-denaturation	95 $^{\circ}$ C	10 min	1
Denaturation	95 $^{\circ}$ C	10 sec	40
Annealing/Extension	60 $^{\circ}$ C	30 sec	

### Results

#### 1. 양성 판정 조건 (Cut-off Value)

음성 대조군에서 PCR 증폭이 일어나지 않고, 양성 대조군에서 증폭이 일어났을 때, 대상 시료에서 PCR 증폭이 15~38 Ct에서 나타났을 경우, 시료는 해당 바이러스 유전자가 검출된 것으로 판정한다.

※ ABI 7500 series의 경우 Ct값 35 이내, Delta Rn 값 0.1 이상

※※ Bio-Rad CFX96 series의 경우 Ct값 35 이내, Delta RFU 값 50 이상

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

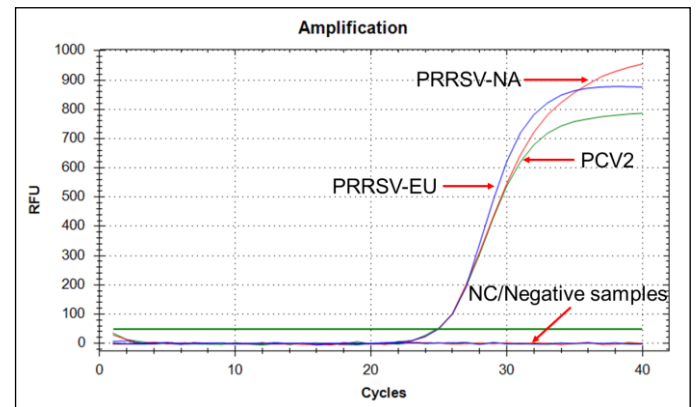
Fluorophore	Target
※ CY5	PRRSV-EU
※※ FAM	PRRSV-NA
※※※ VIC	PCV2
ROX	Passive reference

※ ABI 7500 series: CY5=None, Bio-Rad CFX96: CY5로 설정

※※ ABI 7500 series: FAM=None, Bio-Rad CFX96: FAM으로 설정

※※※ ABI 7500 series: VIC=None, Bio-Rad CFX96: VIC로 설정

### 그림 1. 결과 예시



■ Research Use Only

■ Store at -20 $^{\circ}$ C