

[Cat. No.] **K-2925**

**개요**

AccuPower® Shrimp Disease Real-Time PCR Kit는 새우에 감염되는 주요 질병(White syndrome disease, Yellow head disease, Taura syndrome, Infectious myonecrosis)의 원인체인 WSSV, YHV-1, TSV, IMNV를 실시간 중합효소 연쇄반응(Real-time PCR)을 통해 동시에 검출할 수 있는 제품입니다. 해당 질병의 임상 징후로는 식욕부진, 표피에 흰 반점, 머리에 연한 노란색을 띄며 단단해지는 등의 증상을 일으킵니다. 또한 심각한 개체의 근육에 흰 병변이 생겨 사망에 이르기기도 합니다. 베트남, 태국, 인도네시아뿐만 아니라 에콰도르, 칠레 등 새우 양식이 행해지는 여러 국가에서 발생하고 있는 질병입니다.

본 제품은 병원체 4종에 특이적인 Real-time PCR 에 필요한 모든 요소(RTase, DNA Polymerase, primers, dNTPs, reaction buffer)가 포함되어 있어, 사용자는 주형 DNA/RNA, internal positive control (IPC), DEPC-D.W.만 첨가하면 손쉽게 반응용액을 준비할 수 있습니다.

**사용 목적**

- Multiplex Real-time PCR 을 통한 WSSV, YHV-1, TSV, IMNV 병원체의 정성분석(Internal Positive Control (IPC) 포함).

**제품 구성**

제품 구성	제공량
PreMix	8-strips x 12 ea
Positive Control (2x10 <sup>7</sup> copies/μl)	50 μl
Internal Positive Control (1x10 <sup>5</sup> copies/μl)	100 μl
Sealing film	1 ea
DEPC-D.W.	1.3 ml

\* Note: 본 키트는 연구용 제품이며, 진단용으로 사용할 수 없습니다.

**제품 조성**

제품 조성	50 μl 반응
PreMix	
RocketScript™ Reverse transcriptase	1 U
Taq DNA Polymerase	6 U
dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP)	각 300 μM
Reaction buffer with 2 mM MgCl <sub>2</sub>	1X
Oligo	
WSSV Forward primer	0.4 μM
WSSV Reverse primer	0.4 μM
WSSV Probe (TAMRA)	0.4 μM
YHV-1 Forward primer	0.2 μM
YHV-1 Reverse primer	0.2 μM
YHV-1 Probe (TET)	0.2 μM
TSV Forward primer	0.2 μM
TSV Reverse primer	0.2 μM

TSV Probe (FAM)	0.2 μM
IMNV Forward primer	0.3 μM
IMNV Reverse primer	0.3 μM
IMNV Probe (Texas Red)	0.3 μM
IPC Forward primer	0.3 μM
IPC Reverse primer	0.3 μM
IPC Probe (Cy5)	0.3 μM

\* Note: WSSV 검출용 primer 는 Durand S.V. and Lightner D.V (2002), TSV 검출용 primer 는 Tang K.F.J et al., (2004), IMNV 검출용 primer 는 Andrade T.P.D et al., (2007)방법을 사용하였습니다.

**제품 사양**

Taq DNA Polymerase	
5'→3' exonuclease activity	Yes
3'→5' exonuclease activity	No
3'-A overhang	Yes

**보관법**

AccuPower® Shrimp Disease Real-Time PCR Kit 는 -20°C에서 보관해야 하며, 표시된 유통기한까지 안정합니다.

**온라인 정보**



추가적인 정보를 위해 제품 페이지를 방문하세요

**주문 정보**

제품	Cat. No.
AccuPower® Shrimp Disease Real-Time PCR Kit, Exicycler 8-well strips / 96 tubes	K-2925




**고지**

제품, 서비스, 사양, 설명 등 제공된 모든 정보는 사전 예고 없이 절차에 따라 변경될 수 있습니다.

**기호 설명**

Batch Code	Biological Risks	Catalog Number	Caution
Consult Instructions For Use	Contains Sufficient for <n> tests	Do not Re-use	Manufacturer
Research Use Only	Temperature Limitation	Use-by Date	

**실험방법**

단계		세부 절차																																			
1	 <b>반응용액 준비</b>	1. AccuPower® Shrimp Disease Real-Time PCR Kit, 주형 DNA/RNA, internal positive control DNA 와 DEPC-DW 를 준비합니다.																																			
2	 <b>반응용액 조성</b>	2. AccuPower® Shrimp Disease Real-Time PCR Kit 튜브에 아래와 같은 조성으로 반응용액들을 넣어줍니다. (1 테스트 기준) <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 60%;">구성</th> <th style="width: 40%;">용량 (μl)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Internal Positive Control DNA</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>주형 DNA/RNA (Positive Control)</td> <td>1~5</td> </tr> <tr> <td>DEPC-D.W.</td> <td>최종 용량에 맞춰 첨가</td> </tr> <tr> <td>최종 부피</td> <td>50</td> </tr> </tbody> </table> 3. Sealing 후, 반응용액을 vortex 하여 PreMix 를 완전히 녹인 다음 Spin down 합니다.	구성	용량 (μl)	Internal Positive Control DNA	1	주형 DNA/RNA (Positive Control)	1~5	DEPC-D.W.	최종 용량에 맞춰 첨가	최종 부피	50																									
구성	용량 (μl)																																				
Internal Positive Control DNA	1																																				
주형 DNA/RNA (Positive Control)	1~5																																				
DEPC-D.W.	최종 용량에 맞춰 첨가																																				
최종 부피	50																																				
3	 <b>Real-time PCR</b>	4. PCR 튜브를 real-time quantitative thermal cycler ( <i>Exicycler</i> )에 장착합니다. 5. 다음과 같이 반응조건을 설정합니다. <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">과정</th> <th style="width: 25%;">온도</th> <th style="width: 25%;">시간</th> <th style="width: 25%;">반복수</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Reverse Transcription</td> <td>50°C</td> <td>15 분</td> <td>1 cycle</td> </tr> <tr> <td>Pre-denaturation</td> <td>95°C</td> <td>5 분</td> <td>1 cycle</td> </tr> <tr> <td>Denaturation</td> <td>95°C</td> <td>10 초</td> <td rowspan="2">45 cycles</td> </tr> <tr> <td>Annealing &amp; Extension</td> <td>55°C</td> <td>20 초</td> </tr> <tr> <td colspan="4">Scan</td> </tr> </tbody> </table> * <b>Note:</b> 상기 조건을 권장하나 사용자의 Thermal cycler 에 따라 변경이 가능합니다. <ul style="list-style-type: none"> <li>아래와 같이 총 5 종의 형광을 선택하여 real-time PCR을 수행합니다.</li> </ul> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 50%;">Target</th> <th style="width: 50%;">Dye</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>WSSV</td> <td>TAMRA</td> </tr> <tr> <td>YHV-1</td> <td>TET</td> </tr> <tr> <td>TSV</td> <td>FAM</td> </tr> <tr> <td>IMNV</td> <td>Texas Rd</td> </tr> <tr> <td>Internal Positive control</td> <td>Cy5</td> </tr> </tbody> </table> 6. Real-time PCR 이 종료된 후, 결과를 분석합니다.	과정	온도	시간	반복수	Reverse Transcription	50°C	15 분	1 cycle	Pre-denaturation	95°C	5 분	1 cycle	Denaturation	95°C	10 초	45 cycles	Annealing & Extension	55°C	20 초	Scan				Target	Dye	WSSV	TAMRA	YHV-1	TET	TSV	FAM	IMNV	Texas Rd	Internal Positive control	Cy5
과정	온도	시간	반복수																																		
Reverse Transcription	50°C	15 분	1 cycle																																		
Pre-denaturation	95°C	5 분	1 cycle																																		
Denaturation	95°C	10 초	45 cycles																																		
Annealing & Extension	55°C	20 초																																			
Scan																																					
Target	Dye																																				
WSSV	TAMRA																																				
YHV-1	TET																																				
TSV	FAM																																				
IMNV	Texas Rd																																				
Internal Positive control	Cy5																																				