

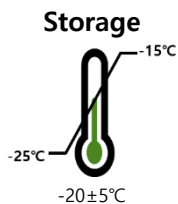
HelixDtec™ 과수화상병 Dual Detection Kit

Kit Contents

HelixDtec™ 과수화상병 Dual Detection Kit	
Cat. NO.	EAD-T100 (100 Tests)
2x Direct qPCR Premix	1.25 ml
EAD OM	0.1 ml
10x Dilution Buffer	1.5 ml
EAD PC	0.05 ml
RNase-free Water	1.5 ml
Instruction for Use	1ea

'HelixDtec™ 과수화상병 Dual Detection Kit' 는 식물유래 세균배양액 또는 colony로부터 ONETUBE 반응으로 과수화상병의 주요 원인균인 *Erwinia amylovora* 감염 여부를 2 가지 프라이머 세트에 의해 진단하는 제품이다.

본 제품은 *Taq* polymerase, dNTP 및 MgCl₂와 식물 조직시료로부터 나오는 다양한 PCR 억제 물질(inhibitor)에 내성을 갖는 buffer가 2x 농도로 혼합된 premix 제품이다. DNA 추출 시약이 함께 포함되어 있어, DNA 추출부터 qPCR까지 한 키트로 모든 검사 과정을 수행할 수 있는 probe 방식의 Fast Real-time PCR 제품이다.



NanoHelix Co., Ltd.

A-dong and B-dong, 43-15, Techno 5-ro, Yuseong-Gu, Daejeon, 34014, South Korea. TEL : 82-42-867-9055, FAX : 82-42-867-9057

E-mail : info@nanohelix.net <www.nanohelix.net www.nanohelix.co.kr/KOR>

검사 방법

1. Template 준비 (시료 전처리)

- 1) 멸균된 증류수로 10x Dilution Buffer를 1x Dilution Buffer로 희석한다.
 - ※ 예 : 멸균 증류수 : 10x Dilution Buffer = 90 μ L : 10 μ L
 - ※ Dilution Buffer는 사용하기 직전에 희석하여 사용한다.
- 2) 1x Dilution Buffer 100 μ L에 시료*를 1 μ L 첨가한 후 vortex하여 혼합한다.
 - * 세균배양액 : 세균배양액 원액을 1 μ L 사용
 - * Colony : Single colony를 멸균증류수 100 μ L에 풀어준 뒤 1 μ L 사용
- 3) Mixture를 vortex하여 혼합한다.
- 4) 실온에서 3 분간 정치시킨 후, PCR template로 사용한다.

2. PCR 시약 혼합

- 1) PCR Master Mix를 아래 표와 같이 준비한다.
 - * 실험 진행 시, 적어도 1개 이상의 Positive Control (EAD PC)와 Negative Control (RNase-Free Water)가 포함되어야 한다.
 - * PCR master mix의 양은 test와 control(Positive + Negative)의 수보다 최소 1~2개 반응수를 더 추가하여 준비한다.

Component	Volume (1 test)
2x Direct qPCR Premix	12.5 μ L
EAD OM	1.0 μ L
RNase-free Water	10.5 μ L
Total volume per reaction	24.0 μ L

- 2) PCR Master Mix 를 5~10초 가량 vortex하여 잘 혼합한 후 spin-down 한다.

3) PCR tube에 준비된 PCR Master Mix를 24μL씩 분주하고, template를 1 μL씩 분주한다.

Component	Volume (1 test)
PCR Master Mix	24 μL
Template	1 μL
Total volume per reaction	25 μL

4) PCR tube의 뚜껑 또는 필름을 닫고 spin-down한다.

3. PCR 조건 및 형광채널 설정

1) Fluorophores 설정

Target	E. amylovora
Fluorescence	FAM, JOE (VIC)

2) PCR 조건

Step	Condition	Cycle(s)
Enzyme activation	95°C for 2 min	1
PCR Amplification	95°C for 10 sec	5
	60°C for 20 sec	
	95°C for 3 sec	38
	60°C for 5 sec	
Collect the fluorescence data		

4. 결과 분석 및 판정

1) Threshold and Baseline setting

장비	Threshold	Baseline
CFX 96	All target : 300	Auto

2) 결과 분석

① Positive control (EAD PC)

* 아래 Ct값은 참고용으로, 사용자 및 장비, 시약의 냉·해동 횟수에 따라 달라질 수 있다.

Material	Copies/μl	EA(FAM)	EA(JOE)
EAD PC 원액	약 2 x 10 ⁵	21±2	21±2

② 시료 결과 판정

* 기준 Ct 인 35 이후에 증폭 시그널이 관찰될 경우 재검을 권장한다.

Fluorescence	Ct value	Result
FAM	≤ 35	Positive (+)
	> 35 or N/A	Negative (-)
JOE (VIC)	≤ 35	Positive (+)
	> 35 or N/A	Negative (-)

Case	FAM	JOE (VIC)	Interpretation	Comment
1	+	+	과수화상병 양성	- 결과 유효
2	+	-	재검 권장	- 미결정
3	-	+	재검 권장	- 재검에서도 동일한 결과일 경우, 시료 채취부터 재검사 진행 권장
4	-	-	과수화상병 음성	- 결과 유효

Products

Cat. No.	Products	Size
EAD-T100	HelixDtec™ 과수화상병 Dual Detection Kit	100 Tests

NanoHelix Co., Ltd.

A-dong and B-dong, 43-15, Techno 5-ro, Yuseong-Gu, Daejeon, 34014, South Korea. TEL : 82-42-867-9055, FAX : 82-42-867-9057

E-mail : info@nanohelix.net <www.nanohelix.net www.nanohelix.co.kr/KOR>