

Confirmation of correspondence between PCR methods: Boiling method and Non boiling method

Dear our valued customer,

We, Seegene Inc., hereby inform that the new extraction-free method which excludes 98 °C heating step for 3 min is compatible with the current extraction-free method.

In addition, while performing PCR, film can be used as an alternative of caps for PCR plates.

As shown below table, the new method leads to save hands-on time caused by boiling and chilling steps, and moreover it enhances Ct vales comparing to current method.

Therefore, the new extraction-free method is considered to be a way of increasing the efficiency of COVID test, in the situation where the demand of testing for COVID-19 has increased dramatically.



Eugene Kim, Ph. D

Managing Director of Marketing Strategy Department

Seegene Inc.

[Appendix] Method and Result

Current method	New method
1)Aliquot 45ul of Nuclease-free water into PCR tubes 2)Add 15ul of each sample into the tube containing aliquot of the Nuclease-free water 3)Close the cap, quick vortex and briefly centrifuge 4)Incubate at 98℃ for 3 min and Chill at 4℃ for 5 min 5)Prepare the Reaction Mastermix: use 5ul Sample's nucleic acid	1)Aliquot 45ul of Nuclease-free water into PCR tubes 2)Add 15ul of each sample into the tube containing aliquot of the Nuclease-free water 3)Prepare the Reaction Mastermix: use 5ul Sample's nucleic acid

Center	Positive concordance	positive thermolysis / Negative NO thermolysis	Negative thermolysis / positive NO thermolysis	Negative concordance	Total
#1	3	0	4	1	8
#2	61	1	0	11	73
#3	53	4	6	103	166
#4	35	1	11	47	94
#5	32	1	4	35	79
#6	15	0	3	28	46
#7	52	3	19	65	139
#8	53	2	3	66	124
#9	95	0	5	0	100
Total	399*	12**	55***	356	829

* Ct NO thermolysis < between 2~5 cycles versus thermolysis

** thermolysis Ct > 37~38

*** NO thermolysis Ct < 34~35

Les Ulis, le 26 Mars 2021

NOUVELLE METHODE SANS EXTRACTION

Confirmation de la correspondance entre deux méthodes de PCR : Méthode d'ébullition et méthode de non ébullition

Chère Cliente, Cher Client,

Comme indiqué dans le courrier de Seegene Inc., daté du 18 Mars 2021, nous vous informons par la présente que la nouvelle méthode sans extraction pour le kit de référence RV10248X, Allplex™ SARS CoV2 Assay, qui exclut l'étape de chauffage 98°C pendant 3 minutes est compatible avec la méthode sans extraction actuelle.

Comme le montre le tableau ci-dessous, la nouvelle méthode permet de gagner du temps grâce aux étapes d'ébullition et de refroidissement et, d'améliorer les valeurs Ct par rapport à la méthode actuelle.

Par conséquent, la nouvelle méthode sans extraction est considérée comme un moyen d'accroître l'efficacité du test de dépistage de la COVID-19, dans la situation où la demande de dépistage de la COVID-19 a considérablement augmenté.

De plus, lors de la PCR, le film peut être utilisé comme alternative aux bouchons pour plaques PCR.

Le service Marketing
Eurobio Scientific

[Annexe] Méthode et Résultats

Méthode actuelle	Nouvelle méthode
1) Ajouter 45 µl d'aliquot d'eau sans nucléase dans chaque tube de PCR 2) Ajouter 15 µl de chaque échantillon dans le tube contenant l'aliquot d'eau sans nucléase. 3) Fermer le bouchon, vortexer de manière rapide et centrifuger brièvement 4) Incuber à 98°C pendant 3 min et refroidir à 4°C pendant 5 min 5) Préparer le mélange Reaction Mastermix: utiliser 5µl de l'échantillon d'acide nucléique	1) Ajouter 45 µl d'aliquot d'eau sans nucléase dans chaque tube de PCR 2) Ajouter 15 µl de chaque échantillon dans le tube contenant l'aliquot d'eau sans nucléase. 3) Préparer le mélange Reaction Mastermix: utiliser 5µl de l'échantillon d'acide nucléique

Centre	Positifs concordants	Thermolyse positive/ négatif pas de thermolyse	Thermolyse négative/ positif pas de thermolyse	Négatifs concordants	Total
#1	3	0	4	1	8
#2	61	1	0	11	73
#3	53	4	6	103	166
#4	35	1	11	47	94
#5	32	1	4	35	79
#6	15	0	3	28	46
#7	52	3	19	65	139
#8	53	2	3	66	124
#9	95	0	5	0	100
Total	399*	12**	5***	356	829

* Ct sans lyse thermique < entre 2 ~ 5 cycles par rapport aux Ct avec lyse thermique

** Avec lyse thermique : Ct > 37~38

*** Sans lyse thermique : Ct < 34~35