



Please contact us,
if you have any question and need help.



T)1670-5695



www.bio-ft.com



info@bio-ft.com

Quick Guide

Beyond the PCR technology,
BIOFACT promises the progress for your research.



• Upgrade • Gel&PCR Purification System
[For Column, FB Plate]

MEMO

Table of Contents.

• 제품 구성품	-----	1
• Know-How	-----	2
• Gel & PCR Purification System for Column [Dimer Removal Condition]	-----	3
• Gel & PCR Purification System for Column [High Yield Condition]	-----	7
• Gel & PCR Purification System for Multi-well DNA Binding Plate [Vacuum]	-----	11
• Gel & PCR Purification System for Multi-well DNA Binding Plate [Centrifuge]	---	13
• Troubleshooting	-----	15
• 주의사항	-----	16

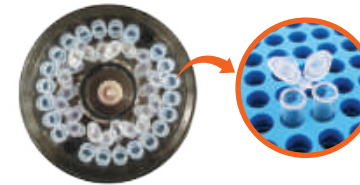
☑ 구성품 용량

	GP104-100	GP104-200	GP314-48h
Prep	100	200	4,800
UB	150 mℓ	300 mℓ	1,500 mℓ
EB	25 mℓ	25 mℓ	200 mℓ
HelpB	50 mℓ	50 mℓ	-
NWB	100 mℓ	200 mℓ	(*)WB Bottle 1 ea
Spin Column	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea	-
Collection Tube	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea	-
FB plate	-	-	-
Collection plate	-	-	-
Sealing Film	-	-	-
Quick Guide	1 매	1 매	1 매

※ FB plate, Collection plate, Sealing Film은 별도 구매 가능 합니다.

☑ Know-How for Preparation

1. Column type Kit를 이용하여 추출할 경우 elution 시 tube cap이 깨지지 않도록 하는 방법



* Centrifuge 시 1.5 mℓ tube cap을 교차하여 꽂아주시면 cap이 깨지는 것을 최소화 할 수 있습니다.

- WB(80% EtOH)는 실험시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다. (*)
- PCR Product에 UB 첨가 후 충분히 혼합해 주셔야 합니다.
 - UB가 완전히 반응할 때까지 섞어주지 않을 경우 정제 효율이 낮아질수 있습니다.
 - Buffer 첨가 후 4 ~ 5회정도 부드럽게 pipetting하여 buffer와 샘플을 충분히 혼합합니다.
- EB 사용전에 column을 공회전하여 EtOH을 충분히 제거합니다. (*)
- PCR Product 정제 목적에 따라 Dimer Removal Condition, High Yield Condition, Gel Extraction 방법을 선택합니다. (Gel Extraction은 High Yield 방법으로 진행)
- Gel Extraction 시 효율을 높이기 위해서는
 - High quality agarose를 사용합니다.
 - UB에 gel block을 넣고 50 ~ 65°C에서 완전히 녹인 후 column에 첨가합니다.
 - %가 높은 agarose gel에서 정제 시 UB를 6배 이상 넣어서 완전히 녹여줍니다.
- DNA column binding전 HelpB를 이용하여 column을 washing하면 더 높은 yield의 DNA를 얻을 수 있습니다.
- UB는 주변 온도가 낮아지면 결정이 생길 수 있습니다. 이런 경우에는 전자렌지 또는 Dry oven에서 heating시켜 녹인 후 사용합니다.
- DNA elution 시 EB를 50°C에서 10분정도 pre-heating 시킨 후 elution하면 효율이 높아집니다. (특히, Large DNA fragment의 경우)
- 기타 High yield를 위한 Know-How는 카달로그의 Q.C data page를 참고하세요.

(*) 80% EtOH로 WB 사용할 경우만 해당

※ Washing Buffer : **NWB**로 사용할 경우

✓ Preparation.

1. Sample
 - Size에 상관없이 PCR 산물에 primer dimer가 있는 경우
 - Cloning, Sequencing을 위해 purification을 진행하는 경우

✓ Protocol.

- 1 : PCR Sample + Sample의 5배 Volume의 UB 혼합
(예 : PCR sample 50 μ l + UB 250 μ l)

Column Binding

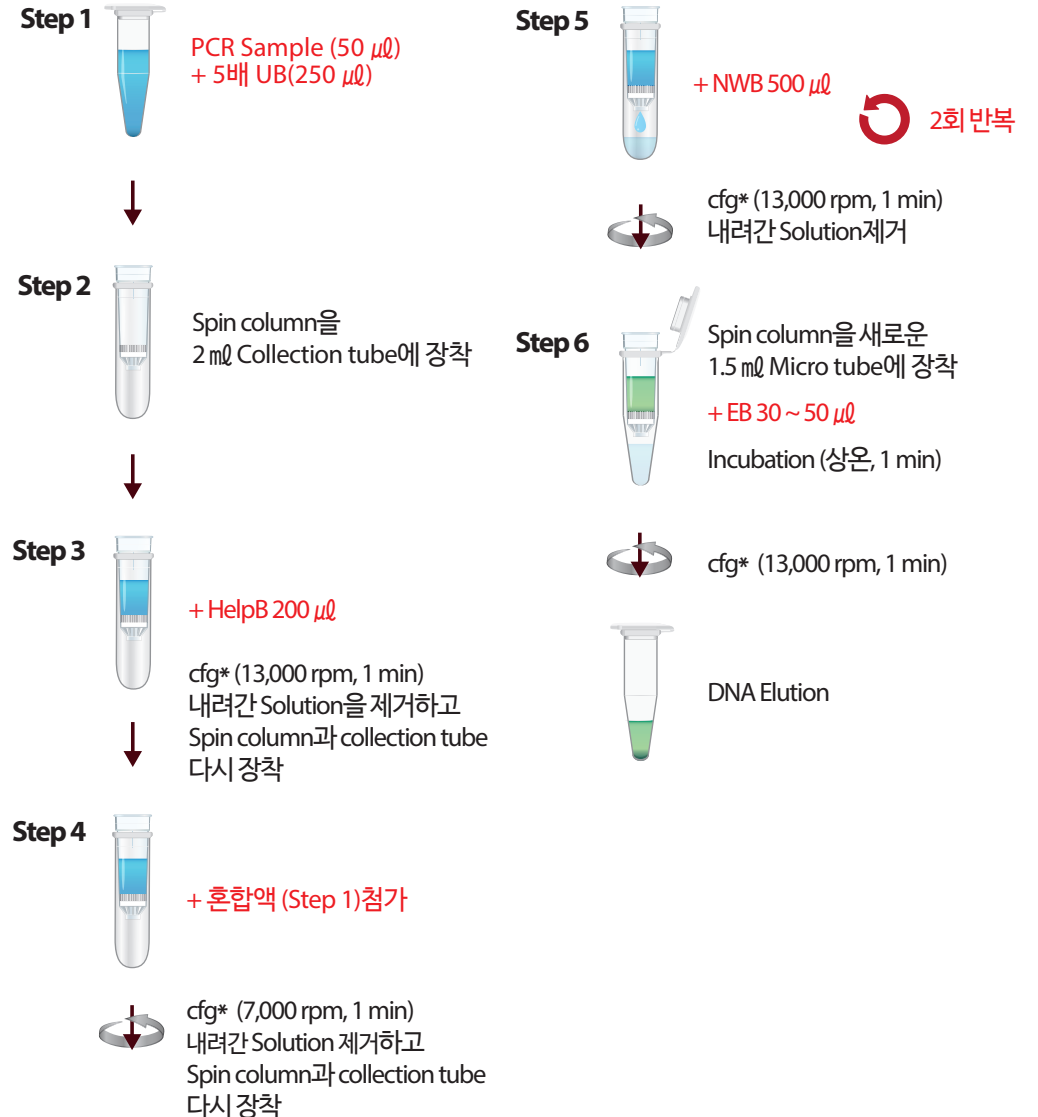
- 2 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
- 3 : HelpB 200 μ l 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 4 : Step 1의 혼합액을 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

Column Washing

- 5 : Spin column에 NWB 500 μ l 첨가
cfg (13,000 rpm, 1 min) → 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing

DNA Elution

- 6 : Spin column을 새로운 1.5 ml Micro tube에 장착
EB 30 ~ 50 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min) → cfg (13,000 rpm, 1 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



* cfg : 원심분리

※ Washing Buffer : WB (80% EtOH)로 사용할 경우

[Cat. No. GP104-100, GP104-200]

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. Sample
 - Size에 상관없이 PCR 산물에 primer dimer가 있는 경우
 - Cloning, Sequencing을 위해 purification을 진행하는 경우

✓ Protocol.

- 1 : PCR Sample + Sample의 5배 Volume의 UB 혼합
(예 : PCR sample 50 μ l + UB 250 μ l)

Column Binding

- 2 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
- 3 : HelpB 200 μ l 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 4 : Step 1의 혼합액을 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

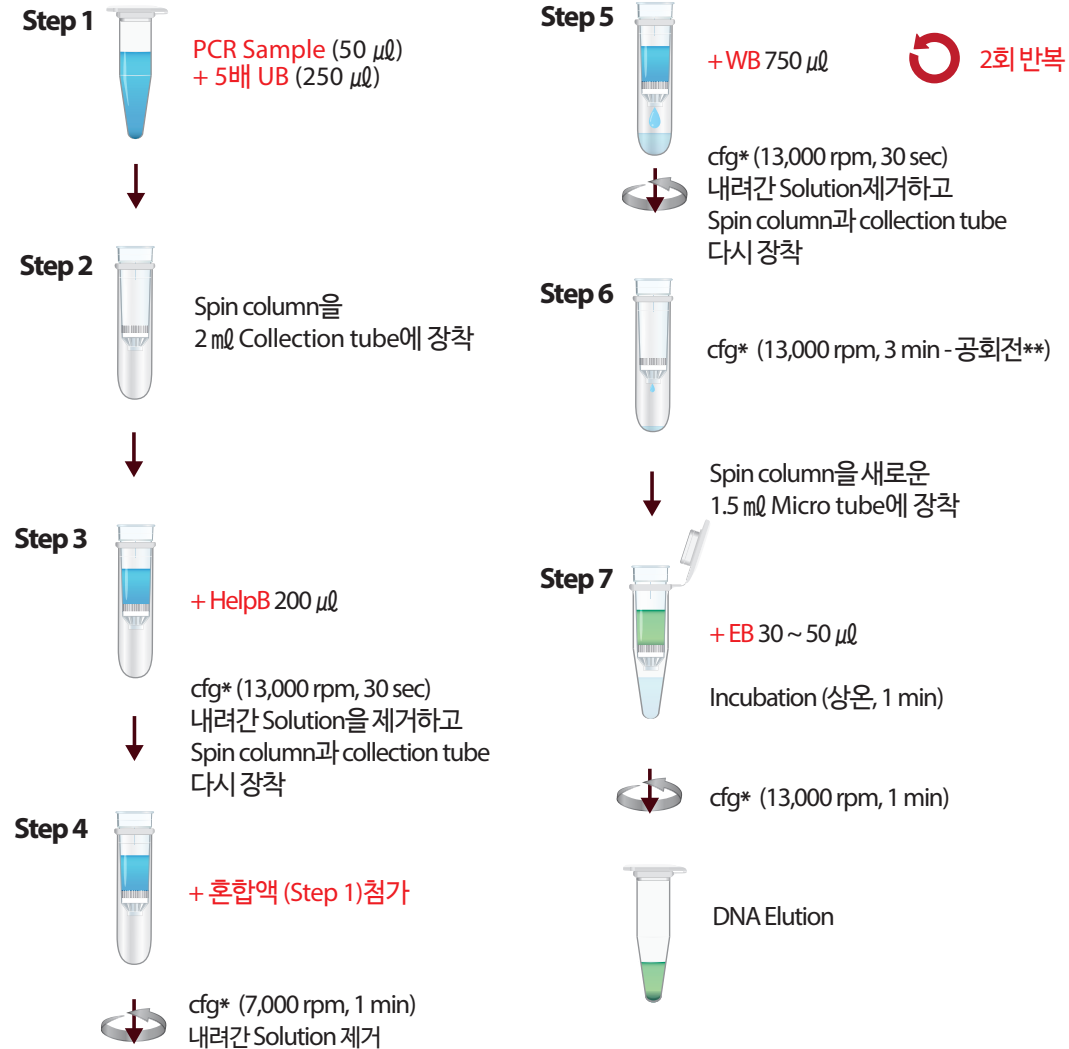
Column Washing

- 5 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 750 μ l 첨가
cfg (13,000 rpm, 30 sec) → 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 6 : cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml Micro tube에 장착

※ 공회전* : WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin column을 원심분리 수행

DNA Elution

- 7 : EB 30 ~ 50 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
→ cfg (13,000 rpm, 1 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



* cfg : 원심분리

**공회전 : Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Gel&PCR Purification System

※ Washing Buffer : **NWB**로 사용할 경우

[Cat. No. GP104-100, GP104-200]

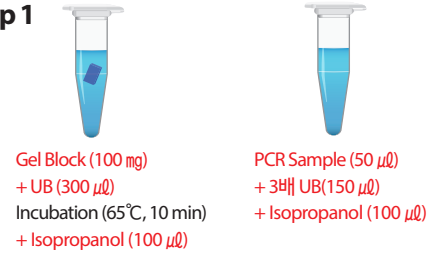
✓ Preparation.

1. High Yield Condition 이용 시, Isopropanol 준비
2. Sample
 - 정제하려는 PCR 산물의 Size가 100 bp 이하인 경우
 - Primer dimer에 상관없이 높은 회수율을 얻고자 하는 경우
 - Background band로 target band만 회수하고자 하는 경우 (Gel Extraction)

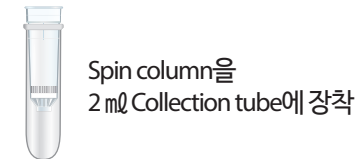
✓ Protocol.

- 1-1 : PCR Sample + Sample의 3배 Volume의 UB 혼합 + 2배 Volume Isopropanol 혼합
(예 : PCR sample 50 μ l + UB 150 μ l + Isopropanol 100 μ l)
- 1-2 : 정제할 DNA를 포함한 Gel 부분을 자르고, Gel Block을 1.5 ml Micro tube로 옮긴 후 무게 측정 → Gel Block의 3배 volume UB 첨가 → Incubation (65°C, 10 min 이상) → Gel Block과 동량의 Isopropanol 첨가
(예 : Gel Block 100 mg (약 100 μ l 해당) + UB 300 μ l + incubation 후, Isopropanol 100 μ l 첨가)
2% 이상의 Gel 사용시 6배 volume의 UB 첨가
- 2 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
- 3 : HelpB 200 μ l 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 4 : Step 1의 혼합액을 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 5 : Spin column에 NWB 500 μ l 첨가
cfg (13,000 rpm, 1min) → 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 6 : Spin column을 새로운 1.5 ml Micro tube에 장착
EB 30 ~ 50 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
→ cfg (13,000 rpm, 1 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

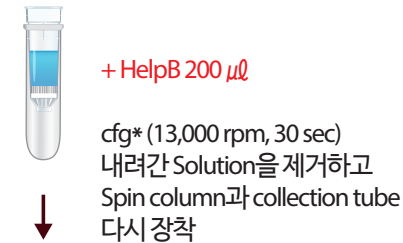
Step 1



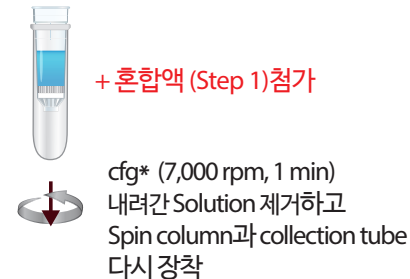
Step 2



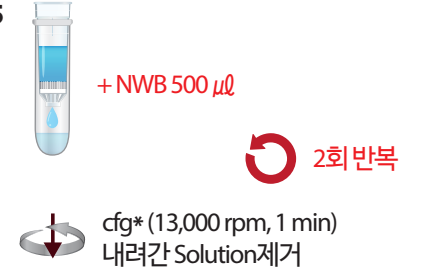
Step 3



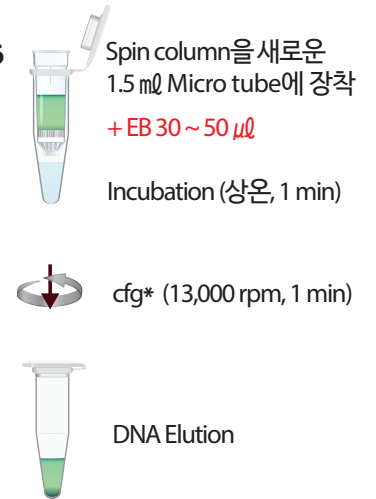
Step 4



Step 5



Step 6



* cfg : 원심분리

Gel&PCR Purification System

※ Washing Buffer : WB (80% EtOH)로 사용할 경우

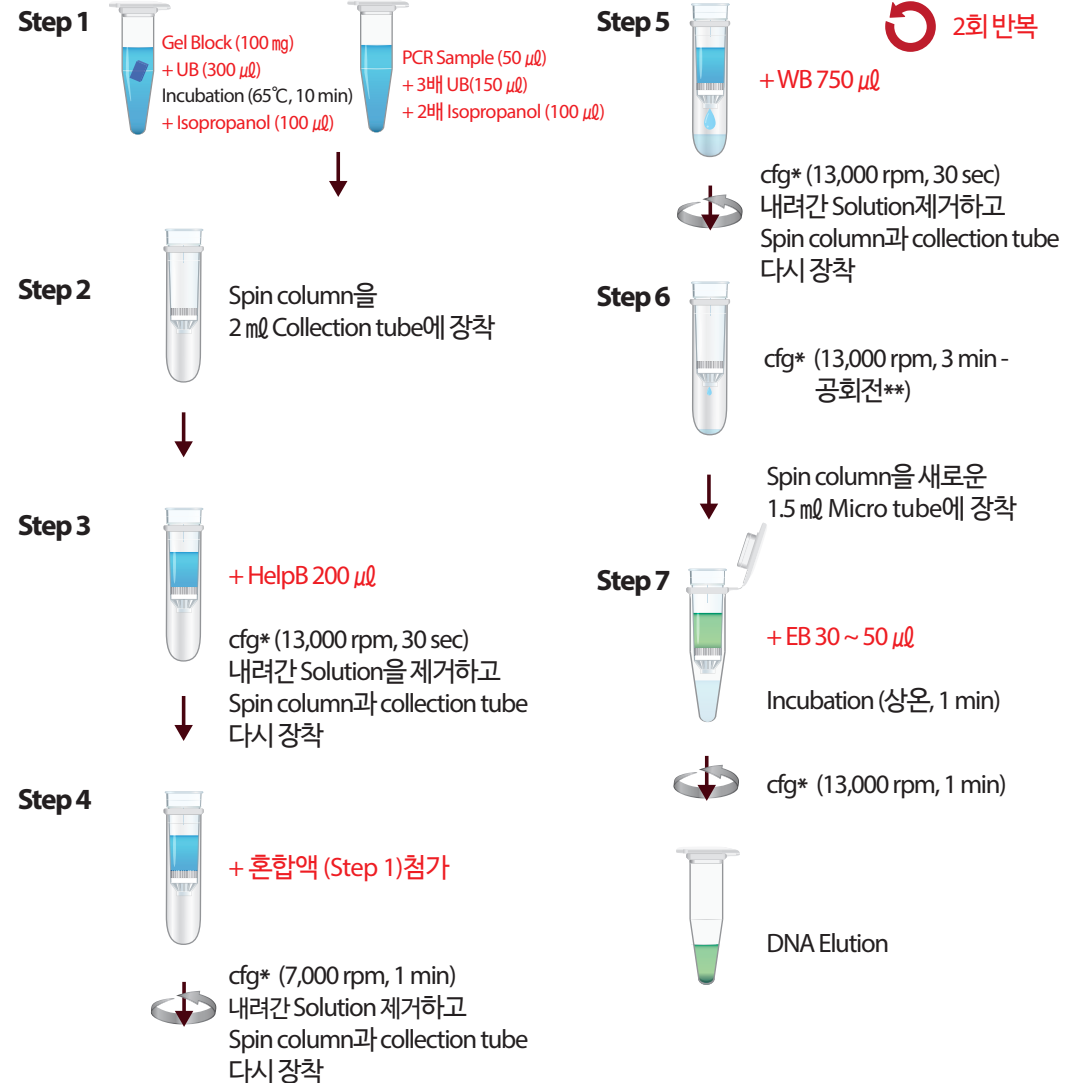
[Cat. No. GP104-100, GP104-200]

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. High Yield Condition 이용 시, Isopropanol 준비
3. Sample
 - 정제하려는 PCR 산물의 Size가 100 bp 이하인 경우
 - Primer dimer에 상관없이 높은 회수율을 얻고자 하는 경우
 - Background band로 target band만 회수하고자 하는 경우 (Gel Extraction)

✓ Protocol.

- 1-1 : PCR Sample + Sample의 3배 Volume의 UB 혼합 + 2배 Volume Isopropanol 혼합
(예 : PCR sample 50 μ l + UB 150 μ l + Isopropanol 100 μ l)
 - 1-2 : 정제할 DNA를 포함한 Gel 부분을 자르고, Gel Block을 1.5 ml Micro tube로 옮긴 후 무게 측정 → Gel Block의 3배 volume UB 첨가 → Incubation (65°C, 10 min 이상) → Gel Block과 동량의 Isopropanol 첨가
(예 : Gel Block 100 mg (약 100 μ l 해당) + UB 300 μ l + Incubation 후 Isopropanol 100 μ l 첨가)
2% 이상의 Gel 사용시 6배 volume의 UB 첨가
 - 2: Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
 - 3: HelpB 200 μ l 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec) 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
 - 4: Step 1의 혼합액을 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min) 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
 - 5: Spin column에 WB (80% Ethanol) 750 μ l 첨가
cfg (13,000 rpm, 30 sec) → 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
 - 6: cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml Micro tube에 장착
- ※ 공회전* : WB를 완전히 제거하기 위해 Spin column에 아무것도 넣지 않고 원심분리 수행
- 7: EB 30 ~ 50 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
→ cfg (13,000 rpm, 1 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



* cfg: 원심분리

**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(혹은 Vacuum (EtOH제거))

※ Washing Buffer : 80% EtOH로 사용할 경우

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. High Yield Condition 이용 시, Isopropanol 준비
3. Sample

[Dimer Removal Condition]

- Size에 상관없이 PCR 산물에 primer dimer가 있는 경우
- Cloning, Sequencing을 위해 purification을 진행하는 경우

[High Yield Condition/ Gel Extraction]

- 정제하려는 PCR 산물의 Size가 100 bp 이하인 경우
- Primer dimer에 상관없이 높은 회수율을 얻고자 하는 경우
- Background band로 target band만 회수하고자 하는 경우 (Gel Extraction)

✓ Protocol.

- 1 : PCR Product + UB 혼합
(정제하고자 하는 방법에 따라 선택하여 진행, ([Column정제 페이지 p. 3-6] 참조))
- 2 : FB Plate에 Step1의 혼합액을 넣은 후 96 well vacuum manifold 위에 장착,
Vacuum (3 min)
(예 : 혼합한 용액이 300 μ l일 경우, 150 μ l을 넣고 vacuum, 동일과정 반복)
- 3 : WB (80% Ethanol) 200 μ l를 FB Plate에 첨가 → Vacuum (1 min)
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 4 : Vacuum (5 min - 공회전*) → FB Plate 건조 (Dry oven, 5~10 min)
(Option : 3,000 rpm, 10 min 원심분리할 경우 더 효과적으로 WB를 제거)
※ 공회전* : WB를 완전히 제거하기 위해 아무것도 넣지 않고 vacuum(원심분리) 수행
- 5 : FB plate의 membrane 중앙에 Buffer EB 30 ~ 50 μ l 또는 멸균된 증류수 첨가
Incubation (상온, 1 min)
→ FB plate – 96 well vacuum manifold – New Collection plate 순서로 장착
→ Vacuum (5 min) , Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

Step 1

Method 1.

PCR Sample (50 μ l)
+ 5배 UB (250 μ l)

Method 2.

PCR Sample (50 μ l)
+ 3배 UB (150 μ l)
+ 2배 Isopropanol (100 μ l)

Method 3.

Deep well plate
Gel block을 녹이면 편하게 진행 가능
Incubation (65°C, 30 min)

Gel Block (100 mg) + UB (300 μ l)
Incubation (65°C, 10 min)
+ Isopropanol 100 μ l

Step 2

FB plate
Vacuum manifold

FB plate를 Vacuum Manifold에 장착
혼합액(Step 1) 첨가

Vacuum 3 min

Step 3

FB plate
Vacuum manifold

WB 200 μ l
Vacuum 2 min
2회 반복

Step 4

FB plate
Vacuum manifold
Collection plate (New)

Vacuum 5 min (공회전**)
Dry oven 5 ~ 10 min

+ EB 30 ~ 50 μ l
Incubation (상온, 1 min)
Vacuum manifold 안에
NEW collection plate 장착

Step 5

DNA Elution

Vacuum 5 min

* c/g : 원심분리
**공회전 : Column에 아무것도 넣지않고 원심분리 (혹은 Vacuum (EtOH제거))

※ Washing Buffer : 80% EtOH로 사용할 경우

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. High Yield Condition 이용 시, Isopropanol 준비
3. Sample

[Dimer Removal Condition]

- Size에 상관없이 PCR 산물에 primer dimer가 있는 경우
- Cloning, Sequencing을 위해 purification을 진행하는 경우

[High Yield Condition/ Gel Extraction]

- 정제하려는 PCR 산물의 Size가 100 bp 이하인 경우
- Primer dimer에 상관없이 높은 회수율을 얻고자 하는 경우
- Background band로 target band만 회수하고자 하는 경우 (Gel Extraction)

✓ Protocol.

- 1: PCR Product + UB 혼합
(정제하고자 하는 방법에 따라 선택하여 진행, ((Column정제 페이지 p. 3-6) 참조)
- 2: FB plate에 Step1의 혼합액을 첨가
FB plate – Adaptor - Collection plate 순서로 장착 → cfg (2,000 rpm, 3 min)
Collection plate에 내려간 Solution 제거 → FB plate 다시 장착
(예 : 혼합한 용액이 300 μl일 경우, 150 μl을 넣고 Centrifuge, 동일과정 반복)
- 3: WB (80% Ethanol) 200 μl를 FB plate에 첨가 → cfg (2,000 rpm, 3 min)
Collection plate로 내려간 Solution 제거 후 동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 4: cfg (3,600 rpm, 10 min - 공회전*) → FB plate 건조 (Dry oven, 5~10 min)
(Option : 원심분리 후 FB plate 하단의 column이 하얗게 변하지 않고 젖어있을 경우 5 min 더 원심분리)
※ 공회전* : WB를 완전히 제거하기 위해 아무것도 넣지 않고 vacuum(원심분리) 수행
- 5 : FB plate의 membrane 중앙에 Buffer EB 30 ~ 50 μl 또는 멸균된 증류수 첨가
Incubation (상온, 1 min) → FB plate – Adaptor - New Collection plate 순서로 장착
→ cfg (3,600 rpm, 5 ~ 10 min), Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인
→ 4°C 또는 -20°C에서 보관

Step 1

Method 1.

PCR Sample (50 μl)
+ 5배 UB (250 μl)

Method 2.

PCR Sample (50 μl)
+ 3배 UB (150 μl)
+ 2배 Isopropanol (100 μl)

Method 3.

Deep well plate
Gel Block (100 mg) + UB (300 μl)
+ Isopropanol 100 μl
Incubation (65°C, 10 min)

deep well plate를 이용하여 Gel Block을 녹이면 편하게 진행 가능
Incubation (65°C, 30 min)

Step 2

Clean up plate, Adaptor, FB plate, Adaptor, Collection plate 순서로 장착
혼합액 (Step 1) 첨가

Step 3

cfg* (2,000 rpm, 3 min)
내려간 Solution 제거

WB 200 μl
cfg* (2,000 rpm, 3 min)
내려간 Solution 제거

2회 반복

Step 4

cfg* (3,600 rpm, 10 min-공회전**)
Dry oven 5~10 min

+ EB 30 ~ 50 μl
Incubation (상온, 1 min)
FB plate, Adaptor, New Collection plate 순서로 장착
cfg* (3,600 rpm, 5 ~ 10 min)

Step 5

DNA Elution

* cfg: 원심분리
**공회전: Column에 아무것도 넣지 않고 원심분리 (혹은 Vacuum (EtOH제거))

✔ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	<p>01. Washing buffer를 만든지 오래 된 것은 아닌가요? (*)</p> <p>Washing buffer (80% Ethanol)을 만든지 오래 되었을 경우 evaporation으로 인해 Ethanol의 농도가 낮아져 yield가 떨어지게 됩니다. Washing buffer를 새로 만들어 사용해 보세요.</p>
	<p>02. PCR Product에 UB 첨가 후 잘 섞어주셨나요?</p> <p>UB (Isopropanol) 첨가 후 충분히 섞어주지 않았을 경우 정제효율이 떨어질 수 있습니다. Buffer 첨가 후 부드럽게 4~5회 Pipetting하거나 Vortexing하여 Buffer와 샘플을 충분히 섞어줍니다.</p>
	<p>03. Column에 solution을 넣고 원심분리 시 rpm을 너무 높게 돌린 것은 아닌가요?</p> <p>Column에 binding시킬 solution을 넣고 7,000 rpm보다 높게 돌려도 되나 천천히 원심분리하면 column filter에 DNA가 binding 할 수 있는 기회가 많아져 yield가 높아지게 됩니다.</p>
	<p>04. EB를 Column 벽면으로 분주하셨나요?</p> <p>Column Type의 경우 filter에 DNA가 결합해 있습니다. 따라서 filter를 충분히 적실 수 있도록 column 중앙부분(filter 부분)에 EB를 넣어서 사용해 보세요.</p>
	<p>05. Gel extraction 수행 시 gel을 완벽하게 녹이셨나요?</p> <p>Gel extraction 시 gel block을 완벽하게 녹이지 않을 경우 gel 속의 DNA가 완벽하게 정제되지 않거나, 녹지 않은 gel이 membrane을 막아 정제효율이 떨어질 수 있습니다. 만약 gel block이 너무 두꺼울 경우 UB buffer를 좀더 첨가하거나, 5분 정도 추가로 incubation하여 완벽하게 녹이십시오.</p>
	<p>06. Column 사용 전 HelpB 처리를 하셨나요?</p> <p>HelpB는 column filter에 DNA가 좀 더 잘 binding될 수 있도록 도와주는 Buffer입니다. 간단한 step으로 정제효율을 높일 수 있습니다.</p>
Low Quality DNA	<p>01. Washing 단계 후 공회전을 하셨나요? (*)</p> <p>Elution된 DNA에 EtOH이 포함되어 있을 경우 다음 단계의 실험 진행에 문제가 발생할 수 있습니다. 이를 해결하기 위해 Washing 단계 후 공회전을 3 min 이상 한 후 elution 하면 됩니다.</p>

(*) 80% EtOH로 WB 사용할 경우만 해당

✔ 주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항



- 제품의 유효기간은 구입일로부터 **1년 6개월**이다. (단, PM311-48h는 **2년 3개월**이다.)
- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 제품의 품질을 보증한다.
- 실험자의 잘못된 사용이나 부주의로 인해 문제가 발생하였을 경우에는 교환이 되지 않는다.

안전경고 및 응급조치 요령



- 눈, 호흡기, 피부 접촉을 피한다.
- 눈에 들어갔을 때 : 흐르는 물로 눈을 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것
- 피부에 접촉했을 때 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 동상의 위험이 있으니 반드시 장갑 착용 후 사용할 것.

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- Proteinase K / Lysozyme / Lyticase / RNase A는 1차 사용 후 냉동(냉장)보관하며 사용하도록 한다. (장기간 사용하지 않을 경우, 반드시 냉동보관 하도록 한다.)
- 냉동 제품을 자주 열리고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다. 필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조직은 정해진 순서에 따라 정확히 하여야 하며, 키트는 개봉 후 즉시 사용한다.
- 분리된 검체 DNA / RNA 상태에 따라 상이한 결과를 보일 수 있다.
- 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의한다.

