



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.



Total RNA Prep Kit [Column Type]

MEMO

 Table of Contents.

• 제품 구성품	-----	1
• Know-How	-----	2
• Total RNA Preparation for Plant Tissue	-----	3
• Total RNA Preparation for Animal Tissue	-----	5
• Total RNA Preparation for Bacterium	-----	7
• Total RNA Preparation for Tissue Culture Cell	-----	9
• Option	-----	11
• 주의사항	-----	12

Total RNA Prep Kit Column Type

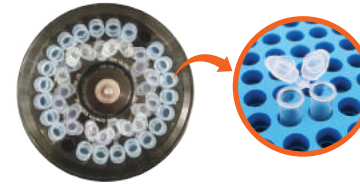
[Cat. No. RP101-050, RP101-100]

☑️ 구성품 용량 (mℓ)

Contents	RP101-050	RP101-100
RB	30 mℓ	60 mℓ
RW	30 mℓ	30 mℓ
RNase free water	20 mℓ	30 mℓ
Proteinase K (10 mg/mℓ)	1 ea	2 ea
Lysozyme (100 mg/mℓ)	1 ea	2 ea
Capsule Column	10 x 5 ea	10 x 10 ea
Collection Tube	50 ea/Bottle	50 ea x 2 ea
Quick Guide	1 매	1 매

☑️ Know-How for Preparation

1. Column type Kit를 이용하여 추출할 경우 Elution 시 Tube의 cap이 깨지지 않도록 하는 방법



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

2. 적정량의 Fresh한 sample로 추출하기를 권장드립니다.

3. Sample 손상을 줄이기 위해 저온에서 Grinding 한 후 실험을 진행하시는 것이 좋습니다. (아래 예시 참조)



액체 질소를 이용하여 막자사발에서 Grinding 저온 Grinding이 가능한 GeneReady Ultracool

4. Kit안의 Enzyme은 D.W(Buffer)로 녹인 후 -20°C에 보관합니다.

5. 유효기한이 지나지 않은 제품을 사용합니다.

6. RB Buffer는 증발에 의해 Lysis(특히, 단단한 조직)에 영향을 미칠 수 있으므로 사용 후 반드시 Cap을 꼭 닫아주세요. Kit의 사용빈도수가 적을 경우에는 소량 떨어져 사용하지길 권장합니다.

7. 기타 High yield를 위한 Know-How는 카달로그의 Q.C data page를 참고하세요.

※ 2-Mercaptoethanol(2-ME), 100% Ethanol은 별도 구매하셔야 합니다.

Total RNA Prep Kit for Plant Tissue

[Cat. No. RP101-050, RP101-100]

✓ Preparation.

1. RB Solution은 반드시 2-mercaptoethanol(2-ME)를 첨가하여 사용해야 하며, 혼합된 RB/2-ME Solution은 4°C에서 보관하고 일주일이상 사용하지 않도록 함
(첨가비율: 10 μl, 2-ME/1 ml, RB Solution, 실험 전 혼합하여 사용하는 것을 권장)
2. RW Bottle에는 반드시 100% Ethanol을 첨가하여 사용
3. Sample
 - Plant Tissue는 < 100 mg 이하로 사용
 - 적당한 용기에서 liquid nitrogen으로 최대한 곱게 갈아주며, RNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 다음 작업 수행

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Sample (< 100 mg) + RB (+ 2-ME) 350 μl
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) 후 60°C, 3 min incubation
※ Tip : High starch, polyphenol/polysaccharide 샘플은 60°C, 5 ~ 10 min incubation
- 2 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube로 이동
(Plant Tissue debris 제거 시 HiFilter를 사용하면 효과적으로 제거 ※ OPTION(11 p.참조))
- 3 : 100% Ethanol 250 μl 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min)

Column Binding

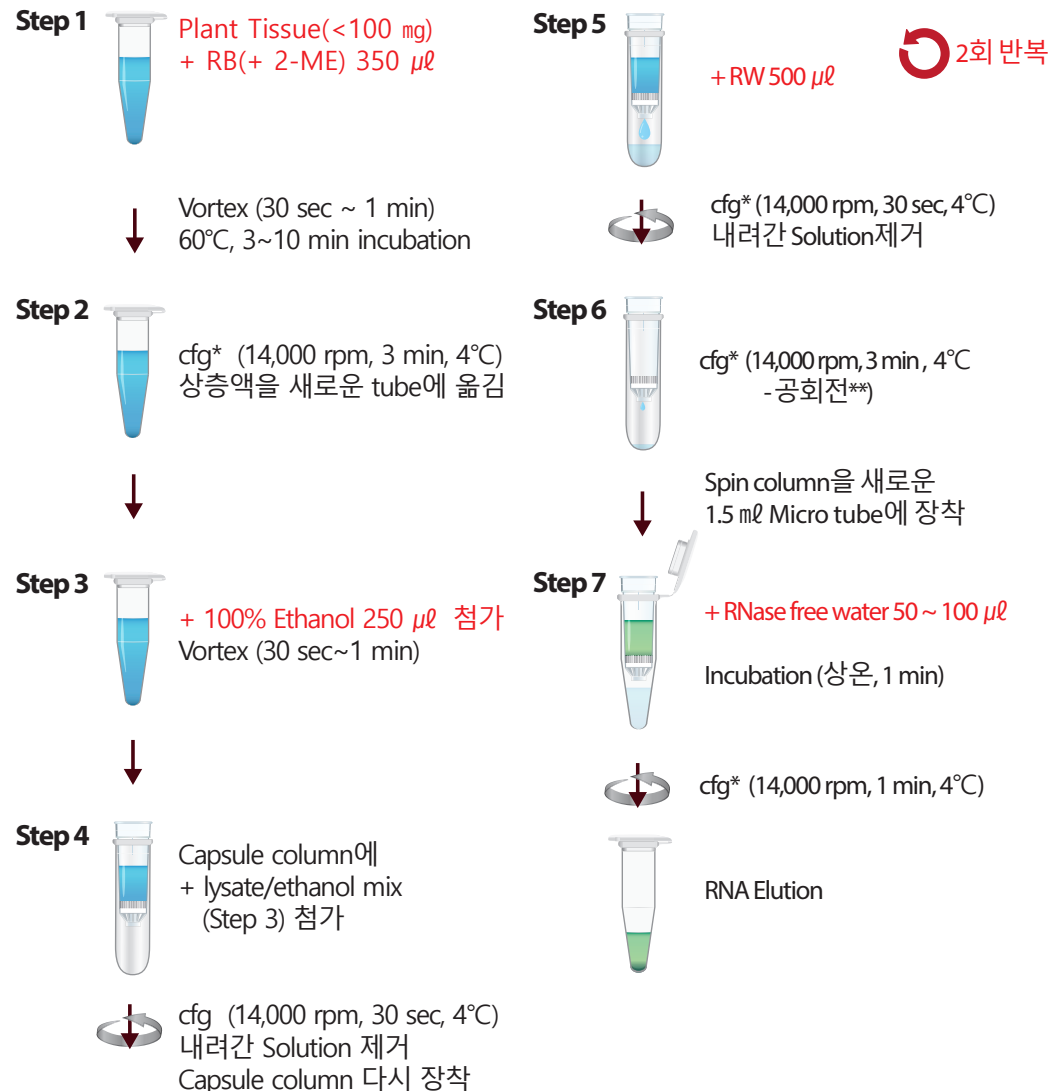
- 4 : Step 3의 lysate/ethanol을 Capsule column에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → Capsule column 다시 장착

Column Washing

- 5 : Capsule column에 RW (RNA washing solution) 500 μl 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 6 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전* : RW를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

RNA Elution

- 7 : RNase free water 50 ~ 100 μl 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → -70°C에서 보관



*cfg: 원심분리
**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Total RNA Prep Kit for Animal Tissue

[Cat. No. RP101-050, RP101-100]

✓ Preparation.

1. RB Solution은 반드시 2-mercaptoethanol(2-ME)를 첨가하여 사용해야 하며, 혼합된 RB/2-ME Solution은 4°C에서 보관하고 일주일 이상 사용하지 않도록 함
(첨가비율: 10 μℓ, 2-ME/1 mL, RB Solution, 실험 전 혼합하여 사용하는 것을 권장)
2. RW Bottle에는 반드시 100% Ethanol을 첨가하여 사용
3. Kit에 포함된 Proteinase K(Dry 상태)에 D.W를 넣어 final 10 mg/mL의 농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 최초 사용 후에는 -20°C에 보관사용
4. Sample
 - Animal Tissue는 < 30 mg 이하로 사용
 - 적당한 용기에서 liquid nitrogen으로 최대한 급게 갈아주며, RNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 다음 작업 수행

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1: Sample (< 30 mg) + RB (+ 2-ME) 350 μℓ + Pro-K(10 mg/mL) 5 μℓ
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) 후 56°C, 10 min incubation
- 2: cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액을 새로운 1.5 mL micro tube로 이동
(Animal Tissue 찌꺼기 제거 시 HiFilter를 사용하면 효과적으로 제거 ※OPTION(11 p)참조)
- 3: 100% Ethanol 250 μℓ 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min)

Column Binding

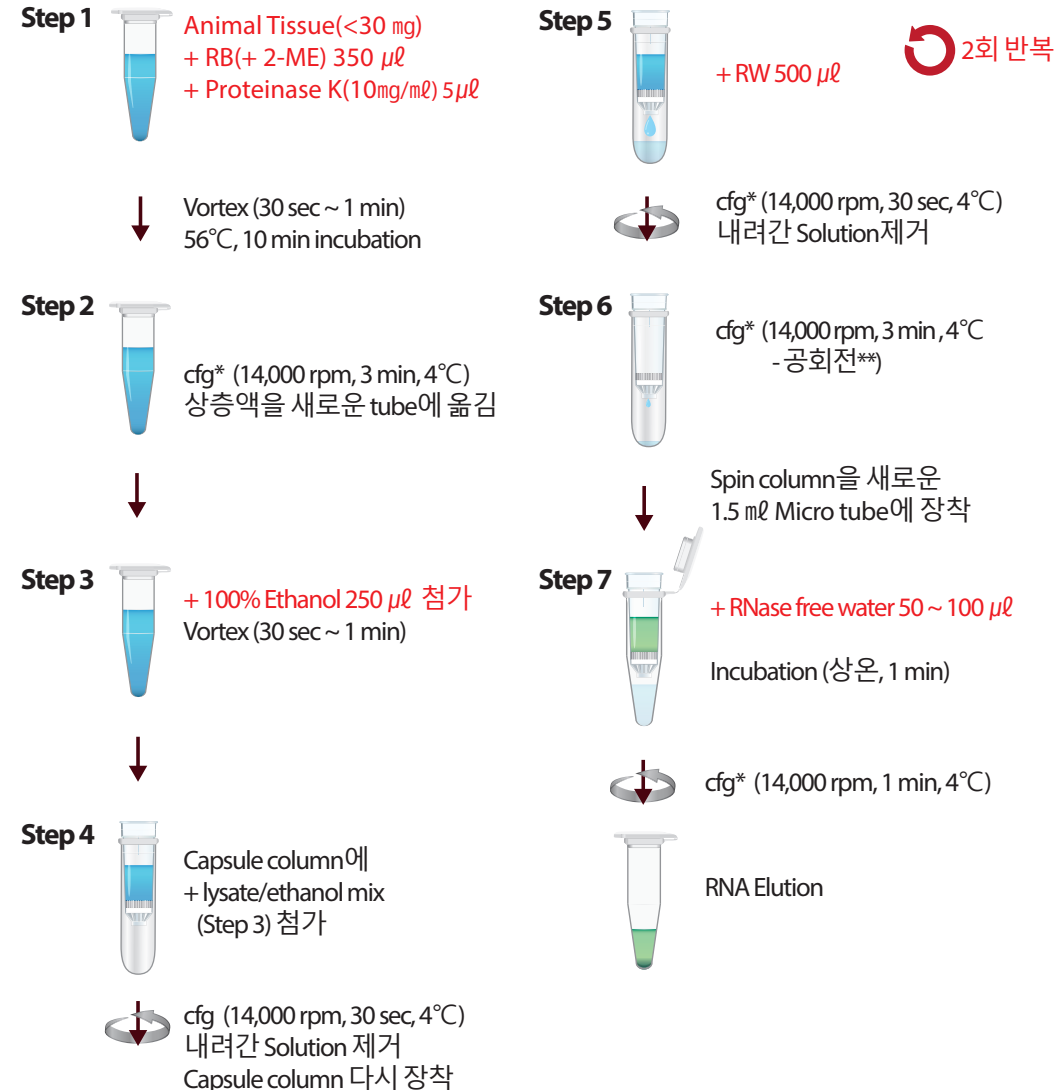
- 4: Step 3의 lysate/ethanol을 Capsule column에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → Capsule column 다시 장착

Column Washing

- 5: Capsule column에 RW (RNA washing solution) 500 μℓ 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 6: cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 mL micro tube에 장착
※ 공회전*: RW를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

RNA Elution

- 7: RNase free water 50 ~ 100 μℓ 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → -70°C에서 보관



*cfg: 원심분리
**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Total RNA Prep Kit for Bacterium

[Cat. No. RP101-050, RP101-100]

✓ Preparation.

1. RB Solution은 반드시 2-mercaptoethanol(2-ME)를 첨가하여 사용해야 하며, 혼합된 RB/2-ME Solution은 4°C에서 보관하고 일주일이상 사용하지 않도록 함
(첨가비율 : 10 μℓ, 2-ME/1 mL, RB Solution, 실험 전 혼합하여 사용하는 것을 권장)
2. RW Bottle에는 반드시 100% Ethanol을 첨가하여 사용
3. Kit에 포함된 Lysozyme (Dry 상태)에 D.W를 넣어 final 100 mg/mL의 농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 최초 사용 후에는 -20°C에 보관사용
 - Gram-Negative Bacteria : ~ 500 μg/mL, • Gram-Positive Bacteria : ~ 3 mg/mL

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Harvest Bacteria (< 1 X 10⁹) + TE buffer 100 μℓ + Lysozyme(100 mg/mL) 2 μℓ
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) → 상온, 3~5 min incubation
• Gram-negative bacteria : 3~5 min , • Gram-positive bacteria : 5~10 min
- 2 : RB (+ 2-ME) 350 μℓ 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min) → cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액을 새로운 1.5 mL micro tube로 이동
- 3 : 100% Ethanol 250 μℓ 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min)

Column Binding

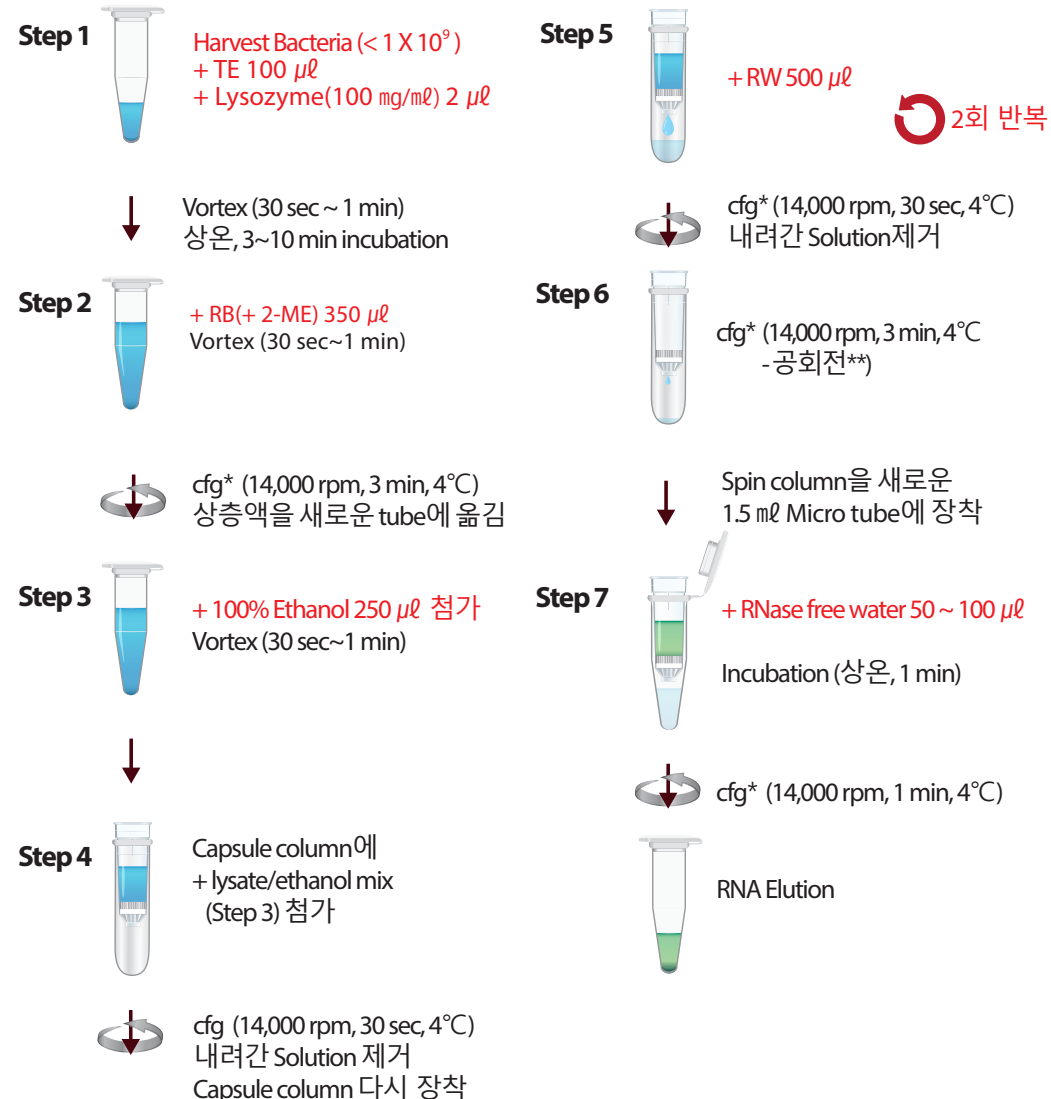
- 4 : Step 3의 lysate/ethanol을 Capsule column에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C) 내려간 Solution 제거 → Capsule column 다시 장착

Column Washing

- 5 : Capsule column에 RW (RNA washing solution) 500 μℓ 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C) 내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착 동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 6 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전*) → Collection tube 제거 Spin column을 새로운 1.5 mL micro tube에 장착
※ 공회전* : RW를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

RNA Elution

- 7 : RNase free water 50 ~ 100 μℓ 첨가 → Incubation (상온, 1 min) cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → column 제거 Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → -70°C에서 보관



* cfg: 원심분리
**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

✓ Preparation.

1. RB Solution은 반드시 2-mercaptoethanol(2-ME)를 첨가하여 사용해야 하며, 혼합된 RB/2-ME Solution은 4°C에서 보관하고 일주일이상 사용하지 않도록 함
(첨가비율 : 10 μl, 2-ME/1 ml, RB Solution, 실험 전 혼합하여 사용하는 것을 권장)
2. RW Bottle에는 반드시 100% Ethanol을 첨가하여 사용
3. Kit에 포함된 Proteinase K (Dry 상태)에 D.W를 넣어 final 10 mg/ml의 농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 최초 사용 후에는 -20°C에 보관사용
4. RNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하며 실험을 진행

✓ Protocol.

Cell Lysis

1 : Harvest cells ($< 1 \times 10^7$) + RB (+ 2-ME) 350 μl + Pro-K(10 mg/ml) 5 μl
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) → 56°C, 10 min incubation

2 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube로 이동

3 : 100% Ethanol 250 μl 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min)

Column Binding

4 : Step 3의 lysate/ethanol을 Capsule column에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → Capsule column 다시 장착

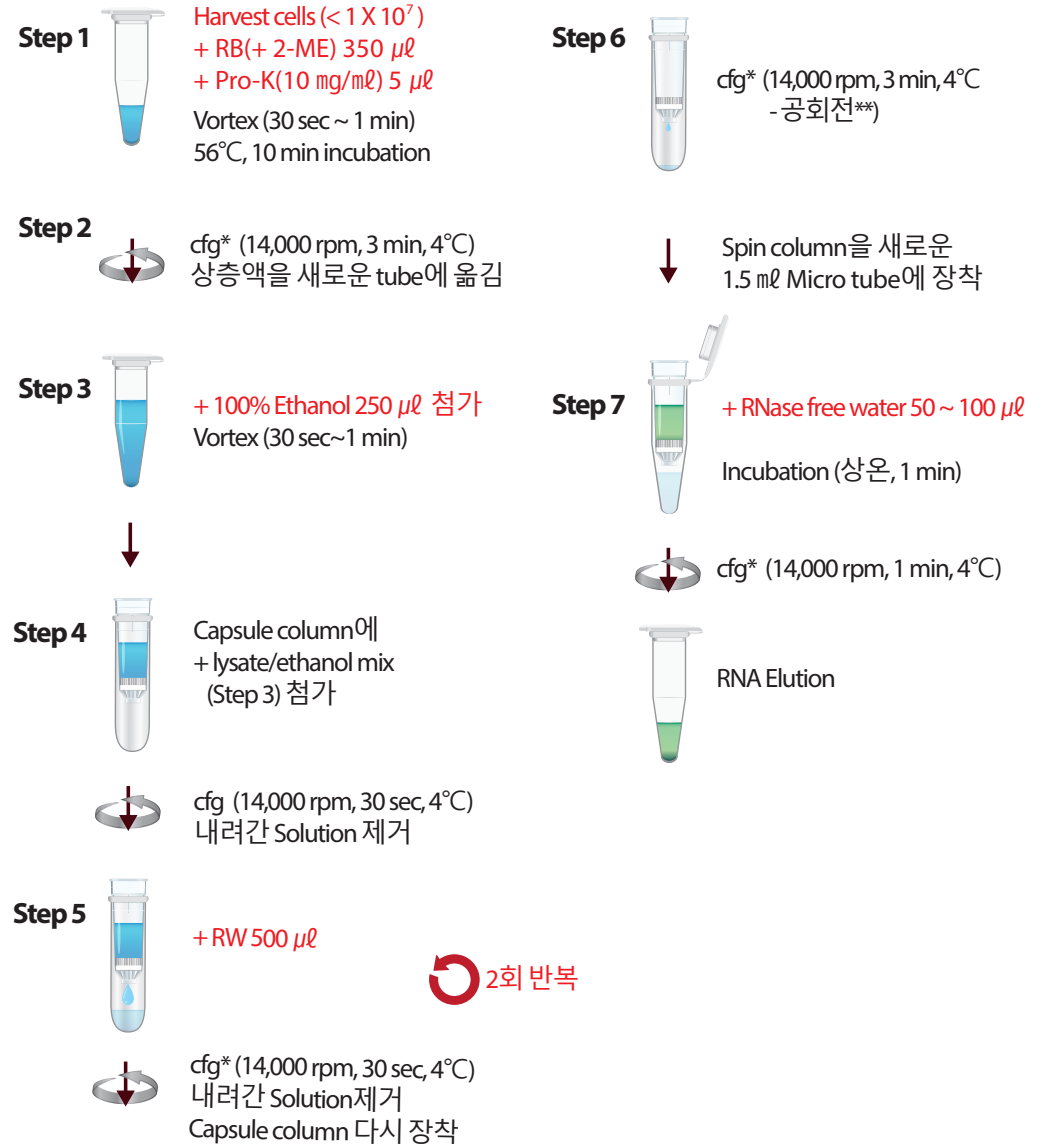
Column Washing

5 : Capsule column에 RW (RNA washing solution) 500 μl 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → Collection tube에 Capsule column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing

6 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전*) → Collection tube 제거
Capsule column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전*: RW를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

RNA Elution

7 : RNase free water 50 ~ 100 μl 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → -70°C에서 보관



* cfg: 원심분리
**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Total RNA Prep Kit

✓ OPTION

DNase I (RNase free) Treatment Step

- 아래와 같이 Reaction Mixture를 제조
Reaction Mixture (Total 100 μl /rxn)
: 10X DNase I Reaction Buffer 10 μl + DNase I 2 μl + RNase free water 88 μl
- RNA 추출 단계 중 해당되는 단계에서 Reaction Mixture를 처리
※별도 구매 가능 : HiGene™ DNase I (RNase-free, Cat. No. RP117-20h)
- Room Temperature, 10 min간 incubation

Remove Cell Lysate

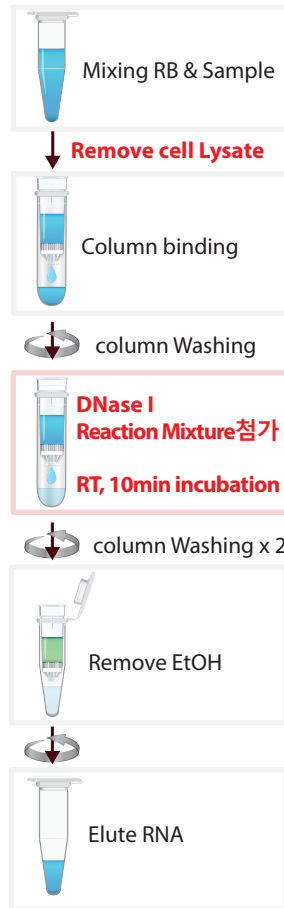


HiFilter
[Cat. No. RP119-100]

- Lysis 과정에서 발생된 Plant/Animal Tissue debris를 제거해 줌으로써 추출 효율을 높일 수 있음.
- Protocol에서 100% Ethanol첨가(Step 2)전에 사용
cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액만 HiFilter에 첨가 후 cfg
14,000 rpm, 30 sec, 4°C → 내려간 Solution을 새로운 1.5 ml micro tube로 이동

HiFilter & Collection Tube의 역할

- Lysis 과정 중 cell debris 제거
- Plant/Animal Tissue에서 capsule column 사용 전단계에서 사용
- Cell debris에 의한 column 막힘을 예방
- 최종 RNA 추출 효율을 높임
- DNA/RNA가 Binding 되지 않는 Filter



✓ 주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항

- 제품의 유효기간은 구입일로부터 **1년6개월**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 / Lysozyme는 1차 사용 후 냉동(냉장)보관하며 사용하도록 한다.
- 냉동 제품을 자주 얼리고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다. 필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작은 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.

