



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.



*Da*Bead™ Genomic DNA Prep Kit Animal Tissue Ⓐ

[For Magnetic Bead]

Magnetic Pipettor

- 96well type

- 16well type

Magnetic Stand

- 1.5/2.0 mL stand

Genomic DNA Prep Kit For Animal Tissue

[Cat. No. GD704-100 (A)]

MEMO

 **Table of Contents.**

• 구성품 용량	-----	1
• Know-How	-----	2
• Troubleshooting	-----	3
• Preparation For 96 well Magnetic Bead Pipettor	-----	5
• Preparation For 16 well Magnetic Bead Pipettor	-----	7
• Preparation For 1.5 / 2.0 ml Magnetic Separation Stand	-----	9
• 주의사항	-----	11
• Equipment and Reagent to Be supplied by User	-----	12

Genomic DNA Prep Kit For Animal Tissue

[Cat. No. GD704-100 (A)]

☑ 구성품 용량 (mL)

Contents	GD704-100 (A)
MAT1	25 mL
MAT2	25 mL
MW1	16 mL
MW2	-
ME	30 mL
MW1 Additive	1 mL
RNase A (4 mg/mL)	3 ea
Proteinase K (20 mg/mL)	4 ea
Magnetic Bead	1 mL x 8 ea
Quick Guide	1 매

☑ Know-How for Preparation

1. Washing Buffer (MW1)는 실험 시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다.
2. DNA Elution 전에 Dry oven, Heat block을 이용하여 EtOH을 충분히 제거합니다.
3. Sample 준비 시 fresh한 시료를 최대한 곱게 갈아 사용하도록 합니다.
4. MAT1 Buffer 첨가 후 65°C incubation 단계에서 중간중간 vortexing을 진행하면 Genomic DNA 추출 효율이 높아집니다.
5. MAT1, MAT2 Buffer는 주변 온도가 낮아지면 결정이 생길 수 있습니다.
이런 경우에 전자레인지 또는 Dry oven에서 heating시켜 녹인 후 사용합니다.
6. HiSol™ Magnetic Separation Stand는 Aluminum 재질로 열전도율이 높아 EtOH 건조 단계에서 dry oven에 장시간 방치하거나 dryer을 사용할 시 온도가 높아질 수 있으므로 유의합니다.
7. ME Buffer 첨가 후 elution 시 60°C, 2~5 분 incubation하면 더 높은 yield의 DNA를 회수하실 수 있습니다.
8. Elution volume은 DNA yield에 따라 감소/증가하여 사용하도록 합니다.
(DNA 수율이 높아 Elution 시 점성이 생기는 경우 Elution volume을 증가시켜주는 것이 좋음)
9. Elution 마지막 단계에서 Magnetic Bead 분리가 완벽하게 되지 않을 경우, suspension 시간을 늘리고, Magnetic Bead Stand나 Pipettor에 1회 더 binding합니다.
10. Suspension 단계에서 Shaking이나 Pipetting의 시간과 횟수를 늘릴수록 높은 수율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다.
11. Elution한 DNA의 yield가 300 ng/μL 이상일 경우, 전기영동 시 정확한 확인이 어려울 수 있으므로 dilution하여 loading합니다.
12. 완전히 제거되지 않은 ethanol은 다음 단계 실험에 영향을 미칠 수 있으므로 Heat block (Dry oven)을 이용하여 완전히 제거합니다.
13. Protocol의 suspension은 shaker에 pipettor, deepwell plate 나 collection plate를 장착하여 shaking (~1분) (Figure.1) 이나 pipetting (~10회)을 권장합니다.



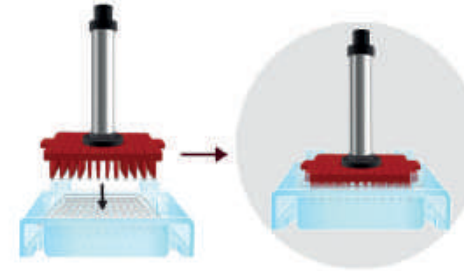
(Figure.1)

14. 모든 Magnetic Bead 제품군은 scale-up이 가능합니다.
15. 기타 문의사항은 (주)바이오팩트 학술서비스팀 (☎ 1670-5695)로 연락주세요.

✓ **Troubleshooting**

Trouble	Check List
Low Yield DNA	<p>01. Washing buffer 를 만든지 오래 된 것은 아닌가요? MW1 buffer (80% Ethanol) 를 만든지 오래 되었을 경우 evaporation으로 인해 ethanol의 농도가 낮아져 yield가 떨어지게 됩니다. MW1 buffer를 새로 만들어 사용해 보세요.</p> <p>02. MW1, MW2 Buffer에 ethanol을 첨가 하셨나요? MW1, MW2 buffer에는 사용 전 반드시 protocol에 기재된 용량만큼 96 ~ 100% ethanol을 첨가하셔야 합니다.</p> <p>03. Isopropanol 첨가 후 오랜 시간 방치 하셨나요? Isopropanol 첨가 후, 오랜 시간 동안 방치되면 Magnetic Bead끼리 뭉쳐 마지막 elution 수율이 떨어질 수 있습니다. Isopropanol 첨가 후 5분 이내에 실험하실 것을 권장합니다.</p>
	<p>04. Enzyme(RNase A, Proteinase K, Lysozyme) 은 어디에 보관하셨나요? Prep에 사용되는 enzyme들의 경우, dry 상태에서는 상온 보관이 가능하지만 D.W로 녹이거나 Buffer를 첨가한 이후에는 냉장 또는 냉동 보관하셔야 합니다. 그렇지 않을 경우 enzyme activity가 떨어져 prep yield에 영향을 줄 수 있습니다.</p> <p>05. Washing step에서 Magnetic bead가 소실되지 않았나요? Magnetic Bead가 Magnetic Separation Stand나 Magnetic Bead Pipettor에 완전히 부착되도록 장착 후 30sec ~ 1min 정도 충분한 binding 시간을 갖습니다. 또한 실험 진행 중 stand가 움직여 Bead가 소실될 수 있기 때문에 stand와 plate를 완벽히 부착한 후 실험합니다.</p> <p>06. Buffer를 충분히 섞어주셨나요? Buffer나 Magnetic bead 를 넣고 suspension을 많이 할수록 높은 수율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다. Suspension은 shaking이나 pipetting하는 것을 권장합니다.</p>
	<p>01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요? Plasticware나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고, plasticware는 사용 전 autoclave하여 사용하세요.</p>
	<p>01. Pro-K/RNase A 첨가 후 incubation은 충분히 하셨나요? Pro-K/RNase A는 D.W에 녹인 후 냉장(냉동) 보관하여 사용하며, 사용 시 protocol에 기재된 반응 온도와 시간을 지키도록 합니다.</p>
	<p>01. Washing 단계 후 Ethanol을 완전히 건조 하셨나요? Eluted DNA에 ethanol이 포함되어 있을 경우 다음 단계의 실험 진행에 문제가 발생할 수 있습니다. 이를 해결하기 위해 washing단계 후 ethanol을 완전히 건조한 후 elution합니다. Stand는 10분 이상 충분히 건조하며, pipettor는 dry oven이나 heat block을 이용하여 건조할 시에 bead가 pipettor에서 떨어질 우려가 있어 실온에서 2~3분 정도 건조합니다.</p>
	<p>01. 96 Well Magnetic Bead Pipettor Pipettor에 adaptor plate 장착 후, transfer plate에 넣거나 뺄 때, pipettor의 magnetic bar를 plate hole 가운데에 정확히 맞추도록 합니다. Transfer plate입구에 Magnetic Bead가 닿지 않도록 하고, washing단계에서 adaptor plate를 손으로 tapping할 때 너무 세게 칠 경우 샘플간 혼합될 수 있으므로 주의합니다.</p>

✓ **Pipettor + Adaptor plate 장착 시 주의점**



- 각 STEP에서 adaptor plate를 Magnetic pipettor에 장착 시 함께 제공해드리는 Acryl rack을 이용하여 장착 (▼ 표시 단계)
- Buffer가 분주된 plate에서 바로 Magnetic pipettor를 장착할 경우 샘플간 contamination 위험

※Magnetic Pipettor + adaptor plate 장착 방법은 4페이지를 참고해 주세요.

※Shaking속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.

Workflow에 있는 속도는 바이오팩트 제품 사용 시 속도단계입니다.

※자사에서 제공하는 shaker 사용 시 실리코네판드를 바닥에 놓고 plate를 고정하여 사용하세요.

[Cat. No. GD704-100 ㉠]

✓ Preparation.

- MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 64 mL** (100 prep 기준)을 넣어 사용
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후, 80% EtOH, (10 mL)에 MW1 Additive (55 μL) 첨가하여 사용
- MW2 Bottle은 빈 bottle로 제공되므로, **100% Ethanol**을 넣어 사용
- Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 4°C (or -20°C)에 보관
- Suspension은 충분히 진행 (pipetting ~10회, shaking ~1 min)
- Shaker 속도 : Shaker 속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.
Workflow에 있는 속도는 바이오팩트 제품 사용 시 속도 단계입니다.

✓ Protocol.

Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

- Sample (< 25 mg) + MAT1 100 μL + Proteinase K (20 mg/mL) 10 μL + RNase A (4 mg/mL) 2 μL**
→ vortex (10 sec), Incubation (65°C, 15 min) → **+ MAT2 100 μL** → Vortex (10 sec) → cfg. (13,000rpm, 1 min)

※조직이 완전히 녹았으면 생략

- 상층액을 deepwell plate에 옮긴 후, **Isopropanol 100 μL + Magnetic Bead 35 μL** 첨가 후 shaking (3단계, 1 min)
- 96well Magnetic Bead Pipettor에 adaptor plate 장착 후 pipettor가 deepwell plate에 장착된 상태로 shaking (2 ~ 2.5단계, 1 min) → Shaking 하면서 binding된 bead 회수

Magnetic Bead Washing & Dry

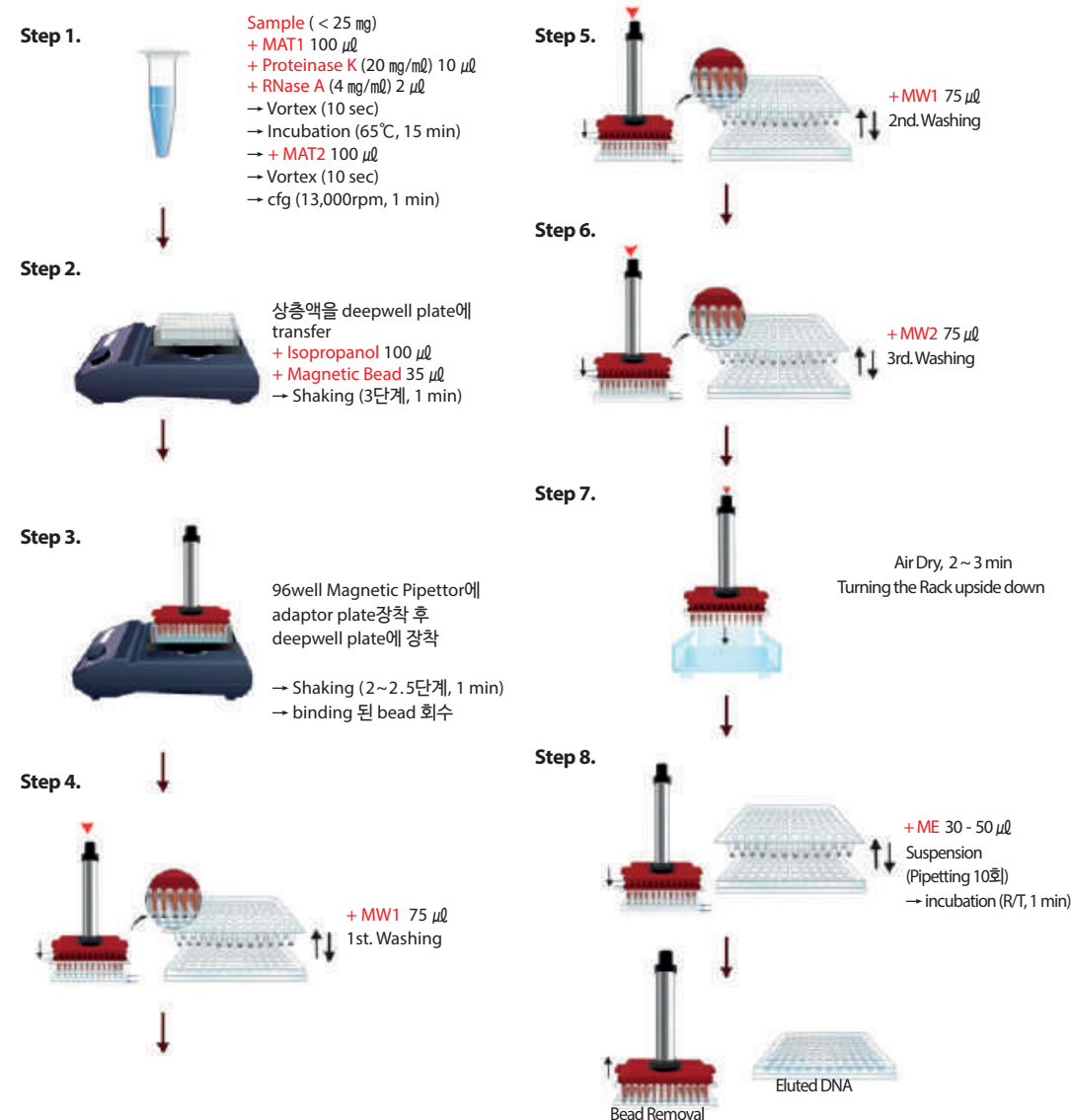
- Collection plate에 **MW1 75 μL** 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 adaptor plate 분리
→ Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (1st. washing)
- New collection plate에 **MW1 75 μL** 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 adaptor plate 분리
→ Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (2nd. washing)
- New collection plate에 **MW2 75 μL** 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 adaptor plate 분리
→ Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (3rd. washing)
- Air dry, 2~3 min (RT)

DNA Elution

- New collection plate에 **ME**를 30 - 50 μL 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 adaptor plate 분리
Tapping 후 pipetting (10회) → Incubation (RT, 1 min)
→ Magnetic pipettor에 adaptor plate를 장착 후 bead 회수
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/10로 희석하여 1 μL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

✓ Work Flow



※Magnetic Pipettor+ adaptor plate 장착방법은 4페이지를 참고해주세요.

※Shaking속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.
Workflow에 있는 속도는 바이오팩트 제품 사용 시 속도 단계입니다.

※자사에서 제공하는 shaker 사용 시 실리콘패드를 바닥에 놓고 plate를 고정하여 사용하세요.

Preparation.

- MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 64 mL** (200 prep 기준)을 넣어 사용
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후, 80% EtOH, (10 mL)에 MW1 Additive (55 μL) 첨가하여 사용
- MW2 Bottle은 빈 bottle로 제공되므로, **100% Ethanol**을 넣어 사용
- Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 4°C (or -20°C)에 보관
- Suspension은 충분히 진행 (pipetting ~10회, shaking ~1 min)
- 각 열에 해당 buffer를 미리 분주하여 사용
(2/8열: MW1- 350 μL, 3/9열: MW1- 350 μL, 4/10열 : MW2- 350 μL)
- Shaker 속도 : Shaker 속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.
Workflow에 있는 속도는 바이오팩트 제품 사용 시 속도 단계입니다.

Protocol.

Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

- Sample (< 25 mg) + MAT1 100 μL + Proteinase K (20 mg/mL) 10 μL + RNase A (4 mg/mL) 2 μL**
→ Vortex (10 sec), Incubation (65°C, 15 min) → + **MAT2 100 μL** → Vortex (10 sec) → cfg. (13,000rpm, 1 min)
- ※ 조직이 완전히 녹았으면 생략

- 상층액을 deepwell plate 1/7 열로 옮긴 후, **Isopropanol 100 μL + Magnetic Bead 35 μL** 첨가 후 shaking (3 ~ 4 단계, 1 min)
- 16Well Magnetic Bead Pipettor에 adaptor 8-strip 장착 후 pipettor가 deepwell plate에 장착된 상태로 shaking (2 ~ 2.5단계, 1 min) → Shaking하면서 binding된 bead 회수

Magnetic Bead Washing & Dry

- MW1이 분주된 deepwell plate 2/8열에 bead가 부착된 pipettor에서 adaptor 8-strip 분리
→ Tapping 후 shaking (3단계, 1 min) → Adaptor 8-strip을 pipettor에 다시 장착 후 bead회수 (1st. washing)
- MW1이 분주된 deepwell plate 3/9열에 bead가 부착된 pipettor에서 adaptor 8-strip 분리
→ Tapping → Adaptor 8-strip을 pipettor에 다시 장착 후 bead회수 (2nd. washing)
- MW2가 분주된 deepwell plate 4/10열에 bead가 부착된 pipettor에서 adaptor 8-strip 분리
→ Tapping → Adaptor 8-strip을 pipettor에 다시 장착 후 bead회수 (3rd. washing)
- Air dry, 2~3 min (RT)

DNA Elution

- Immuno 8-strip을 deepwell plate 6/12열에 장착하고 **ME**를 30 - 50 μL 분주
→ Bead가 부착된 pipettor에서 adaptor 8-strip 분리
→ Tapping 후 pipetting 10회 → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead회수
→ Eluted DNA를 agarose gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/10로 희석하여 1 μL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

Work Flow

Step 1.



Sample (< 25 mg)
+ MAT1, 100 μL
+ Proteinase K (20 mg/mL) 10 μL
+ RNase A (4 mg/mL) 2 μL

Vortexing, 10 sec
Incubation (65°C, 15 min)
→ + MAT2, 100 μL
→ vortex (10 sec)
→ cfg. (13,000rpm, 1 min)

Step 2.



상층액을 deepwell plate 1/7열로 transfer
→ Isopropanol 100 μL
+ Magnetic Bead 35 μL
→ shaking (3 ~ 4단계, 1 min)

Step 3.



16well Magnetic Pipettor에 adaptor 8-strip장착 후 deepwell plate에 장착
→ Shaking (2 ~ 2.5단계, 1 min)
→ binding된 bead 회수

Step 4.



2/8열 MW1 washing
→ Adaptor 8-strip을 분리하여 tapping
→ 다시 pipettor를 장착한 후 shaking (3단계, 1 min)

Step 5.



3/9열 MW1 washing
→ Adaptor 8-strip을 분리하여 tapping
→ 다시 pipettor를 장착한 후 shaking (3단계, 1 min)

Step 6.



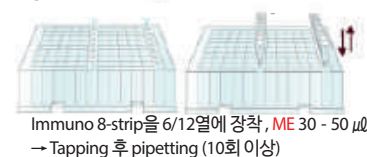
4/10열 MW2 washing
→ Adaptor 8-strip을 분리하여 tapping
→ 다시 pipettor를 장착한 후 shaking (3단계, 1 min)

Step 7.



Air Dry, 2~3 min

Step 8.



Immuno 8-strip을 6/12열에 장착, ME 30 - 50 μL 분주
→ Tapping 후 pipetting (10회 이상)



Bead Removal



Eluted DNA

✓ Preparation.

- MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 64 mL** (100 prep 기준)을 넣어 사용
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후, 80% EtOH, (10 mL)에 MW1 Additive (55 µL) 첨가하여 사용
- Kit에 포함된 Enzyme (freezing dry 상태)은 D.W에 녹여 사용하시고 4 °C (or -20 °C) 에 보관
- Sample
 - Animal Tissue는 Fresh 한 상태의 시료 < 25 mg 사용
 - 적당한 용기에서 Liquid nitrogen으로 Fresh-Freeze tissues를 최대한 곱게 갈아주며, DNase 활성에 의한 DNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 다음 작업 수행

✓ Protocol.

Cell Lysis

- Sample (< 25 mg) + MAT1 200 µL** 첨가 + **Proteinase K (20 mg/mL) 20 µL + RNase A (4 mg/mL) 5 µL**
→ Vortex (10 sec) → Incubation (65°C, 15 min)
※ Tip: Incubation 중간중간 vortexing을 진행하면 효율이 증가합니다.
- MAT2 200 µL** 첨가 → Vortex (10 sec) → Cfg. (13,000 rpm, 1 min).
※ Tip: 조직이 완전히 녹았을 경우, 원심분리 하지 않아도 됨.
- 새로운 tube에 상층액과 **100% Isopropanol 200 µL** 첨가 → Vortex (10 sec)

Magnetic Bead Binding

- Magnetic bead 75 µL** 첨가 후 vortex (10 sec)
1.5 mL tube를 Magnetic separation stand에 장착 (30 sec ~ 1 min간 binding)
→ Stand에 tube가 장착된 상태로 5회 앞뒤로 inverting하여 tube cap의 bead 흡수
→ 1 min 후 stand에 장착된 상태로 solution 제거 (Pipetting하여 제거 권장)

Magnetic Bead Washing & Dry

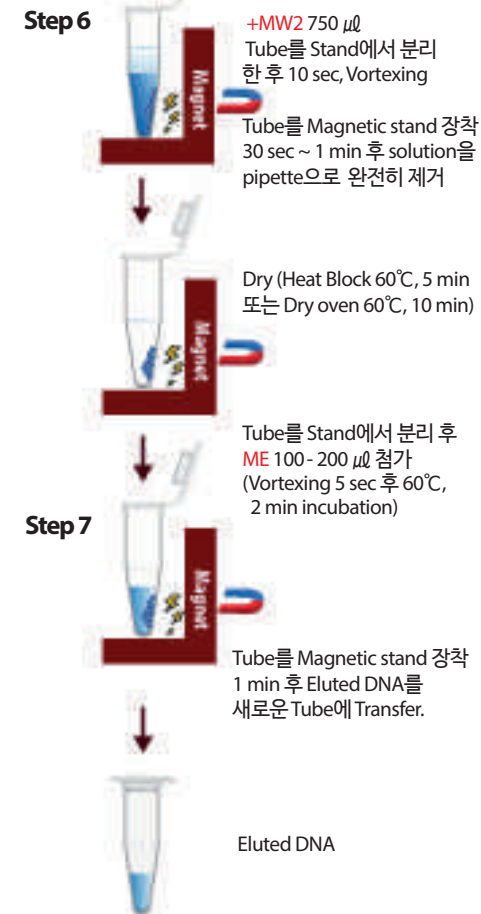
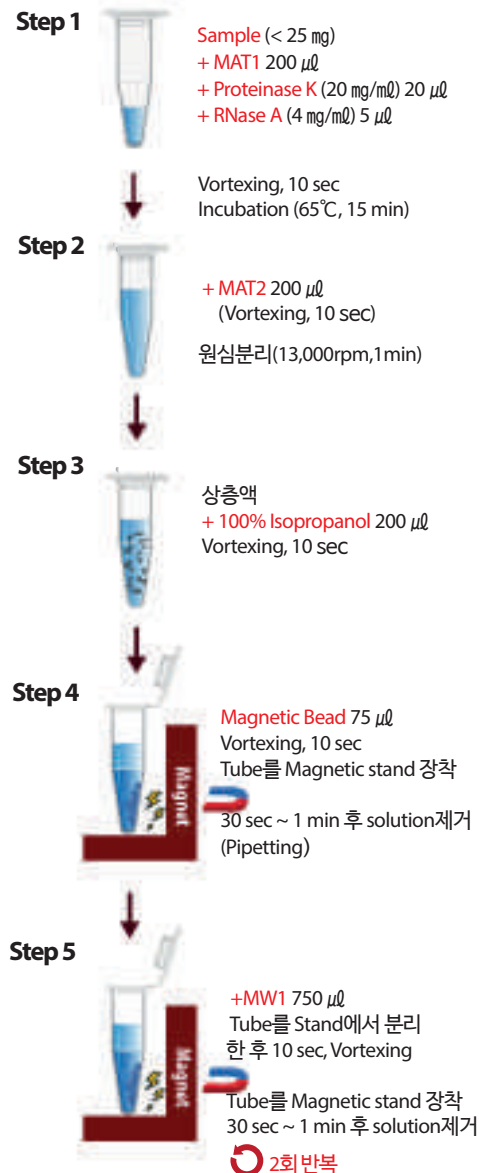
- MW1 (80% Ethanol) 750 µL** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 제거 **동일한 방법으로 한번 더 washing (총 2회)**
- MW2 (100% Ethanol) 750 µL** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 을 Pipette으로 완전히 제거
→ 건조 (Dry oven (60 °C) 10 min / Heat Block (60 °C) 5 min / Dryer 3 min)
※ Dryer를 사용할 경우, Contamination방지를 위해 1.5 mL tube 옆면을 heating해주세요.
Dry oven에 건조 시 오염방지를 위해 aluminium foil을 덮어 건조해 주세요.

DNA Elution

- Stand에서 1.5mL tube를 분리 후 Buffer **ME**를 **100 - 200 µL** 첨가
Vortexing (5 sec) or Tapping → Incubation (60 °C, 2 min)
→ Magnetic bead를 stand에 장착 후 1 min 뒤 eluted DNA를 새로운 1.5mL tube에 옮김
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4 °C 또는 -20 °C에서 보관

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/10로 희석하여 1 µL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

✓ Work Flow



Genomic DNA Prep Kit For Animal Tissue

[Cat. No. GD704-100 (A)]

☑ 주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항



- 제품의 유효기간은 구입일로부터 **1년 6개월**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.
- Magnetic Separation Stand, 96well Magnetic Stand, 96well Magnetic Pipettor를 dry oven이나 heat gun에 장시간 노출할 경우 화상 주의

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- RNase A는 1차 사용 후 냉동(냉장)보관하며 사용하도록 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.




☑ Equipment and Reagent to Be supplied by User

	Cat.No	제품명	사진
Instrument	SJ1-MBP96 / SJ1-MBP16	96well Magnetic Bead Pipettor / 16well Magnetic Bead Pipettor + 2.0 mm 육각봉렌치	
	SJ1-MSS96 / SJ1-MSS11	Magnetic Separation Stand(96well, 8-strip) / Magnetic Separation Stand (1.5 ml, 50 ml)	
	SL-8220	SCIOLOGEX MX-M Microplate Mixer	
	기타	Heat Block / Dry Oven	
Labware	PW681-050	Adaptor plate (0.2 ml standard profile PCR 96well plate-Non-skirted)	
	K58001	Adaptor 8-strip (Tear-off 0.2 ml Thin-Wall 8-Tube Strip)	
	38696	Immunoplate Strip Single Well	
	PU-961h	Collection plate	
	DP-9640	96well Deep-well Plate (U-bottom) -1.6 ml	
	EMT-1530pk	1.5ml Micro tube, Blue	
	기타	Pipette & Tips / Reservoir / Ethanol / Isopropanol	

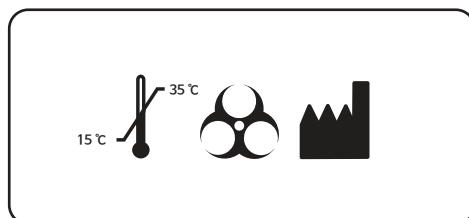


Please contact us,
if you have any question and need help.

 T)1670-5695

 www.bio-ft.com

 info@bio-ft.com



Quick Guide

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



*Da*Bead™ Genomic DNA Prep Kit For Animal Tissue (A)

[Magnetic Bead Type]

Press Pipettor
- 96well type

✓ Contents

MAT1 Buffer (25 mL), MAT2 Buffer (25 mL), Magnetic Bead Plate (1ea), Binding Buffer Plate (1ea), Washing Buffer 1 Plate (1ea), Washing Buffer 2 Plate (1ea), Washing Buffer 3 Plate (1ea), Elution Buffer Plate (1ea), RNase A (4 mg/mL) (2ea), Proteinase K (20 mg/mL) (4ea), Adaptor (8 x 12) tip (1ea), Quick Guide (1매)

✓ Preparation

1. Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 4°C (or -20°C)에 보관
2. MAT1/MAT2 Buffer는 Prep 당 각각 200 µL 사용 기준이며, 그 이상 사용시 별도 구매
3. Sample
 - Animal Tissue는 fresh한 상태의 시료 < 25 mg 사용
 - 적당한 용기에서 파쇄기 또는 Liquid nitrogen으로 Fresh-Freeze tissues를 최대한 곱게 갈아주며, DNase 활성에 의한 DNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 작업수행
4. Press Pipettor (DaBead™ 96well Magnetic Press Pipettor) 사용
5. 각 단계에서 magnetic Bead가 magnet에 완전히 붙을 수 있도록 30 sec 이상 충분히 binding.

✓ Protocol.

Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

- 1 : 1.5 mL tube에 sample (< 25 mg) + MAT1 Buffer 200 µL → RNase A (4 mg/mL) 5 µL + Proteinase K (20 mg/mL) 20 µL 첨가 후 파쇄
→ Vortex (10 sec) → Incubation (65°C, 15 min) → MAT2 Buffer 200 µL → Vortex (10 sec) → 원심분리 (13,000 rpm, 1 min)
※ Tip : Incubation 중간중간 vortexing을 진행하면 효율이 증가
- 2 : 상층액 모두를 Binding Buffer Plate에 transfer
※ Tip : 조작이 완전히 녹았을 경우, 원심 분리하지 않아도 됨.
- 3 : Press Pipettor에 Adaptor (8 x 12) tip 장착 후 Magnetic Bead Plate에서 bead 회수
- 4 : 상층액이 포함된 Binding Buffer Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리
→ Tapping (30회 이상) → Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수

Magnetic Bead Washing & Dry

- 5 : Washing Buffer 1 (MW1) Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리 → Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (1st. washing)
- 6 : Washing Buffer 2 (MW2) Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리 → Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (2nd. washing)
- 7 : Washing Buffer 3 (MW3) Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리 → Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (3rd. washing)
- 8 : Air dry, 2-3 min (RT)

DNA Elution

- 9 : Elution Buffer Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리 → Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수
[샘플에 따라 elution 전 tapping 횟수를 더 늘리거나 긴 tip을 사용하는 multipipettor로 pipetting 하시면 더 높은 효율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다.]

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/10로 희석하여 1 µL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

Step 1.



sample (< 25 mg)
+ MAT1 Buffer 200 µL
+ RNase A (4 mg/mL) 5 µL
+ Proteinase K (20 mg/mL) 20 µL 첨가
→ 파쇄
→ Incubation (65°C, 15 min)
+ MAT2 Buffer 200 µL

Cfg. 13,000 rpm, 1 min

Step 2.



상층액 모두를
Binding Buffer Plate에
transfer

Step 3.



Press pipettor에
Adaptor (8 x 12) tip 장착



Magnetic Bead Plate에서
bead 회수

Step 4.



Binding Buffer Plate에
Adaptor (8 x 12) tip을 분리후
Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을
Press Pipettor에 다시 장착 후
bead 회수

Step 5.



Washing Buffer 1 (MW1) Plate에
→ Adaptor (8 x 12) tip을 분리.
→ Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에
다시 장착 후 bead 회수

Step 6.



Washing Buffer 2 (MW2) Plate에
→ Adaptor (8 x 12) tip을 분리.
→ Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에
다시 장착 후 bead 회수

Step 7~8.



Washing Buffer 3 (MW3) Plate에
→ Adaptor (8 x 12) tip을 분리.
→ Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에
다시 장착 후 bead 회수
→ Air dry, 2-3 min (RT)

Step 9.




Elution Buffer Plate에
→ Adaptor (8 x 12) tip을 분리.
→ Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에
다시 장착 후 bead 회수
→ Eluted DNA를 transfer





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.



*Da*Bead™ Genomic DNA Prep Kit Animal Tissue ⑥

[For Magnetic Bead]

Magnetic Pipettor

- 96well type

- 16well type

Magnetic Stand

- 1.5/2.0 mL stand

MEMO

✓ **Table of Contents.**

• 구성품 용량	1
• Know-How	2
• Troubleshooting	3
• Preparation For 96 well Magnetic Bead Pipettor	5
• Preparation For 16 well Magnetic Bead Pipettor	7
• Preparation For 1.5 / 2.0 ml Magnetic Separation Stand	9
• 주의사항	11
• Equipment and Reagent to Be supplied by User	12

✓ **구성품 용량 (mL)**

Contents	GD704-100 B
Lysis Buffer	50 mL
MW1	20 mL x 2 EA
MW2	빈 Bottle 제공
ME	20 mL
RNase A (4 mg/mL)	2 EA
Proteinase K (20 mg/mL)	4 EA
Magnetic Bead	1 mL x 8 EA
Quick Guide	1 매

✓ **Know-How for Preparation**

1. Washing Buffer (MW1)는 실험 시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다.
2. DNA Elution 전에 Dry oven, Heat block을 이용하여 EtOH을 충분히 제거합니다.
3. Sample 준비 시 fresh한 시료를 최대한 곱게 갈아 사용하도록 합니다.
4. Lysis Buffer 첨가 후 65°C incubation 단계에서 중간중간 vortexing을 진행하면 Genomic DNA 추출 효율이 높아집니다.
5. Lysis Buffer는 주변 온도가 낮아지면 결정이 생길 수 있습니다.
이런 경우에 전자레인지 또는 Dry oven에서 heating시켜 녹인 후 사용합니다.
6. HiSol™ Magnetic Separation Stand는 Aluminum 재질로 열전도율이 높아 EtOH 건조 단계에서 dry oven에 장시간 방치하거나 dryer을 사용할 시 온도가 높아질 수 있으므로 유의합니다.
7. ME Buffer 첨가 후 elution 시 60°C, 2~5 분 incubation하면 더 높은 yield의 DNA를 회수하실 수 있습니다.
8. Elution volume은 DNA yield에 따라 감소/증가하여 사용하도록 합니다.
(DNA 수율이 높아 Elution 시 점성이 생기는 경우 Elution volume을 증가시켜주는 것이 좋음.)
9. Elution 마지막 단계에서 Magnetic Bead 분리가 완벽하게 되지 않을 경우, suspension 시간을 늘리고, Magnetic Bead Stand나 Pipettor에 1회 더 binding합니다.
10. Suspension 단계에서 Shaking이나 Pipetting의 시간과 횟수를 늘릴수록 높은 수율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다.
11. Elution한 DNA의 yield가 300 ng/μL 이상일 경우, 전기영동시 정확한 확인이 어려울 수 있으므로 dilution하여 loading합니다.
12. 완전히 제거되지 않은 ethanol은 다음 단계 실험에 영향을 미칠 수 있으므로 Heat block (Dry oven)을 이용하여 완전히 제거합니다.
13. Protocol의 suspension은 shaker에 pipettor, deepwell plate 나 collection plate를 장착하여 shaking (~1분) (Figure.1) 이나 pipetting (~10회)을 권장합니다.



(Figure.1)

14. 모든 Magnetic Bead 제품군은 scale-up이 가능합니다.
15. 기타 문의사항은 (주)바이오팩트 학술서비스팀 (☎ 1670-5695)로 연락주세요.

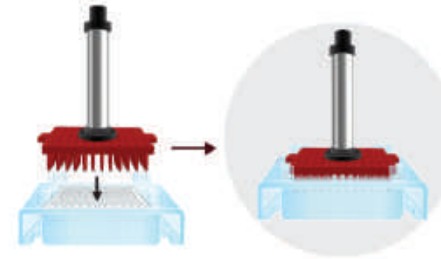
Genomic DNA Prep Kit For Animal Tissue

[Cat. No. GD704-100 ⑥]

✓ Troubleshooting

Trouble	Check List	
Low Yield DNA	<p>01. Washing buffer 를 만든지 오래 된 것은 아닌가요? MW1 buffer (80% Ethanol) 를 만든지 오래 되었을 경우 evaporation으로 인해 ethanol의 농도가 낮아져 yield가 떨어지게 됩니다. MW1 buffer를 새로 만들어 사용해 보세요.</p> <p>02. MW1, MW2 Buffer에 ethanol을 첨가 하셨나요? MW1, MW2 buffer에는 사용 전 반드시 protocol에 기재된 용량만큼 96 ~ 100% ethanol을 첨가하여야 합니다.</p> <p>03. Isopropanol 첨가 후 오랜 시간 방치 하셨나요? Isopropanol 첨가 후, 오랜 시간 동안 방치되면 Magnetic Bead끼리 뭉쳐 마지막 elution 수율이 떨어질 수 있습니다. Isopropanol 첨가 후 5분 이내에 실험하실 것을 권장합니다.</p> <p>04. Enzyme(RNase A, Proteinase K, Lysozyme) 은 어디에 보관하셨나요? Prep에 사용되는 enzyme들의 경우, dry 상태에서는 상온 보관이 가능하지만 D.W로 녹이거나 Buffer를 첨가한 이후에는 냉장 또는 냉동 보관하여야 합니다. 그렇지 않을 경우 enzyme activity가 떨어져 prep yield에 영향을 줄 수 있습니다.</p> <p>05. Washing step에서 Magnetic bead가 소실되지 않았나요? Magnetic Bead가 Magnetic Separation Stand나 Magnetic Bead Pipettor에 완전히 부착되도록 장착 후 30sec ~ 1min 정도 충분한 binding 시간을 갖습니다. 또한 실험 진행 중 stand가 움직여 Bead가 소실될 수 있기 때문에 stand와 plate를 완벽히 부착한 후 실험합니다.</p> <p>06. Buffer를 충분히 섞어주셨나요? Buffer나 Magnetic bead 를 넣고 suspension을 많이 할수록 높은 수율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다. Suspension은 shaking이나 pipetting하는 것을 권장합니다.</p>	
	Nicked DNA Degraded DNA	<p>01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요? Plasticware나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고, plasticware는 사용 전 autoclave하여 사용하세요.</p>
	Eluted RNA	<p>01. Pro-K/RNase A 첨가 후 incubation은 충분히 하셨나요? Pro-K/RNase A는 D.W에 녹인 후 냉장(냉동) 보관하여 사용하며, 사용 시 protocol에 기재된 반응 온도와 시간을 지키도록 합니다.</p>
	Low Quality DNA	<p>01. Washing 단계 후 Ethanol을 완전히 건조 하셨나요? Eluted DNA에 ethanol이 포함되어 있을 경우 다음 단계의 실험 진행에 문제가 발생할 수 있습니다. 이를 해결하기 위해 washing단계 후 ethanol을 완전히 건조한 후 elution합니다. Stand는 10분 이상 충분히 건조하며, pipettor는 dry oven이나 heat block을 이용하여 건조할 시에 bead가 pipettor에서 떨어질 우려가 있어 실온에서 2~3분 정도 건조합니다.</p>
	Mixed several samples	<p>01. 96 Well Magnetic Bead Pipettor Pipettor에 adaptor plate 장착 후, transfer plate에 넣거나 뺄 때, pipettor의 magnetic bar를 plate hole 가운데에 정확히 맞추도록 합니다. Transfer plate입구에 Magnetic Bead가 닿지 않도록 하고, washing단계에서 adaptor plate를 손으로 tapping할 때 너무 세게 칠 경우 샘플간 혼합될 수 있으므로 주의합니다.</p>

✓ Pipettor + Adaptor plate 장착 시 주의점



- 각 STEP에서 adaptor plate를 Magnetic pipettor에 장착 시 함께 제공해드리는 Acryl rack을 이용하여 장착 (▼ 표시 단계)
- Buffer가 분주된 plate에서 바로 Magnetic pipettor를 장착할 경우 샘플간 contamination 위험

※Magnetic Pipettor + adaptor plate 장착 방법은 4페이지를 참고해 주세요.

※Shaking속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.

Workflow에 있는 속도는 바이오팩트 제품 사용 시 속도단계입니다.

※자사에서 제공하는 shaker 사용 시 실리콘 패드를 바닥에 놓고 plate를 고정하여 사용하세요.

[Cat. No. GD704-100 ⑥]

✓ Preparation.

- MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 64 mL** (100 prep 기준)을 넣어 사용
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후, 80% EtOH, (10 mL)에 MW1 Additive (55 μL) 첨가하여 사용
- MW2 Bottle은 빈 bottle로 제공되므로, **100% Ethanol**을 넣어 사용
- Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 4°C (or -20°C)에 보관
- Suspension은 충분히 진행 (pipetting ~10회, shaking ~1 min)
- Shaker 속도 : Shaker 속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.
Workflow에 있는 속도는 바이오팩트 제품 사용 시 속도 단계입니다.

✓ Protocol.

Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

- Sample (< 25 mg) + Lysis buffer 100 μL + Proteinase K (20 mg/mL) 10 μL + RNase A (4 mg/mL) 2 μL**
→ Vortex (10 sec), Incubation (65°C, 15 min) → cfg. 13,000rpm, 1 min
- 상층액을 Deepwell plate에 옮긴 후 **Isopropanol 100 μL + Magnetic Bead 35 μL** 첨가 후 shaking (3단계, 1 min)
- 96well Magnetic Bead Pipettor에 adaptor plate 장착 후 pipettor가 deepwell plate에 장착된 상태로 shaking (2~2.5단계, 1min) → Shaking 하면서 binding된 bead 회수

Magnetic Bead Washing & Dry

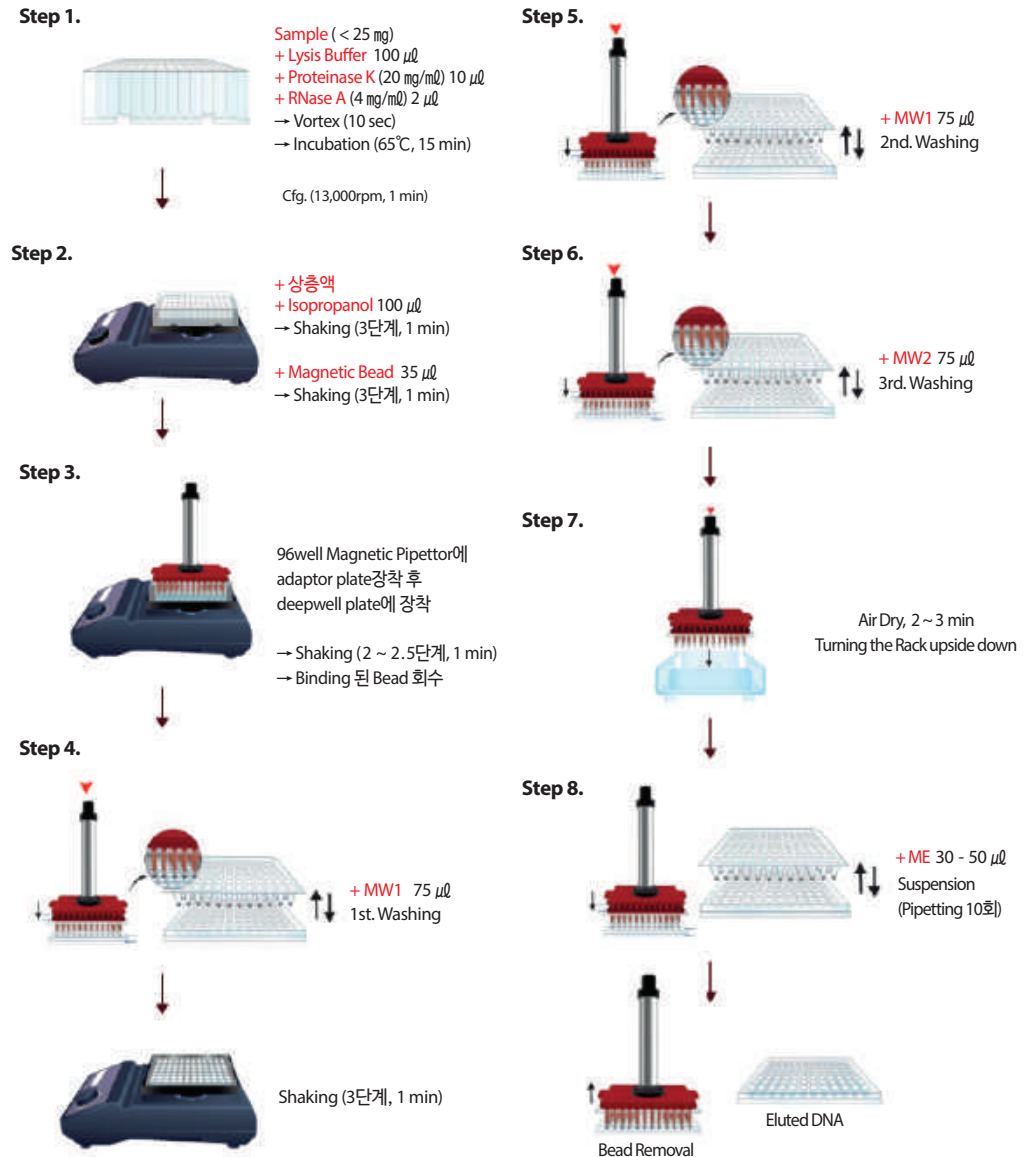
- Collection plate에 **MW1 75 μL** 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 adaptor plate 분리
→ Tapping 후 1min간 shaking (3단계, 1 min)
→ Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (1st. washing)
- New collection plate에 **MW1 75 μL** 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 adaptor plate 분리
→ Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (2nd. washing)
- New collection plate에 **MW2 75 μL** 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 adaptor plate 분리
→ Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (3rd. washing)
- Air dry, 2~3 min (RT)

DNA Elution

- New collection plate에 **ME**를 30 - 50 μL 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 adaptor plate 분리
Tapping 후 pipetting (10회) → Incubation (RT, 1 min)
→ Magnetic pipettor에 adaptor plate를 장착 후 bead 회수
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/10로 희석하여 1 μL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

✓ Work Flow



※Magnetic Pipettor+adaptor plate장착방법은4페이지를참고해주세요

※Shaking속도는 shaker 종류에따라속도가달라질수있습니다.

Workflow에있는속도는바이오팩트제품사용시속도단계입니다.

※자사에서제공하는 shaker 사용시 실리콘패드를바닥에놓고 plate를 고정하여사용하세요.

[Cat. No. GD704-100 ⑥]

✓ Preparation.

- MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 64 mL** (200 prep 기준)을 넣어 사용
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후, 80% EtOH, (10 mL)에 MW1 Additive (55 μL) 첨가하여 사용
- MW2 Bottle은 빈 bottle로 제공되므로, **100% Ethanol**을 넣어 사용
- Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 4°C (or -20°C) 에 보관
- Suspension은 충분히 진행 (pipetting ~10회, shaking ~1 min)
- 각 열에 해당 buffer를 미리 분주하여 사용
(2/8열 : MW1 350 μL, 3/9열 : MW1 350 μL, 4/10열 : MW2 350 μL)
- Shaker 속도 : Shaker 속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.
Workflow에 있는 속도는 바이오팩트 제품 사용 시 속도 단계입니다.

✓ Protocol.

Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

- Sample** (< 25 mg)을 1.5 mL Micro tube에 준비하고, 아래와 같이 혼합
Lysis Buffer 100 μL + Proteinase K (20 mg/mL) 10 μL + RNase A (4 mg/mL) 2 μL 혼합
→ vortex (10 sec), Incubation (65°C, 15 min) → 원심분리 (13,000 rpm, 1 min)
※ **Tip** : 조직이 완전히 녹았을 경우, 원심분리 하지않아도됨.
- 상층액을 deepwell plate 1/7 열로 옮긴 후 **Isopropanol 100 μL + Magnetic Bead 35 μL** 분주 → shaking (3 ~ 4단계, 1 min)
- 16 Well Magnetic Bead Pipettor에 adaptor 8-strip 장착 후 pipettor가 deepwell plate에 장착된 상태로 shaking (2 ~ 2.5단계, 1 min) → Shaking하면서 binding된 bead 회수

Magnetic Bead Washing & Dry

- MW1이 분주된 deepwell plate 2/8열**에 bead가 부착된 pipettor에서 adaptor 8-strip 분리
→ Tapping 후 shaking (3단계, 1 min) → Adaptor 8-strip을 pipettor에 다시 장착 후 bead회수 (1st. washing)
- MW1이 분주된 deepwell plate 3/9열**에 bead가 부착된 pipettor에서 adaptor 8-strip 분리
→ Tapping → Adaptor 8-strip을 pipettor에 다시 장착 후 bead회수 (2nd. washing)
- MW2가 분주된 deepwell plate 4/10열**에 bead가 부착된 pipettor에서 adaptor 8-strip 분리
→ Tapping → Adaptor 8-strip을 pipettor에 다시 장착 후 bead회수 (3rd. washing)
- Air dry, 2 ~ 3 min (RT)

DNA Elution

- Immuno 8-strip을 deepwell plate 6/12열에 장착하고 **ME**를 30-50 μL 분주
→ Bead가 부착된 pipettor에서 adaptor 8-strip 분리
→ Tapping 후 pipetting 10회 → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead회수
→ Eluted DNA를 agarose gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/10로 희석하여 1 μL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

✓ Work Flow

Step 1.



Sample (< 25 mg)
+ Lysis Buffer 100 μL
+ Proteinase K (20 mg/mL) 10 μL
+ RNase A (4 mg/mL) 2 μL

Vortexing, 10 sec
Incubation (65°C, 15 min)
Cfg. (13,000rpm, 1 min)

Step 2.



상층액을 deepwell plate
1/7열로 transfer
+ Isopropanol 100 μL
+ Magnetic Bead 35 μL
→ shaking (3 ~ 4단계, 1 min)

Step 3.



16well Magnetic Pipettor에
adaptor 8-strip장착 후
deepwell plate에 장착
→ Shaking (2 ~ 2.5단계, 1 min)
→ binding된 bead 회수

Step 4.



2/8열 MW1 washing
→ Adaptor 8-strip을 분리하여 tapping
→ 다시 pipettor를 장착한 후 shaking (3단계, 1 min)

Step 5.



3/9열 MW1 washing
→ Adaptor 8-strip을 분리하여 tapping
→ 다시 pipettor를 장착한 후 shaking (3단계, 1 min)

Step 6.



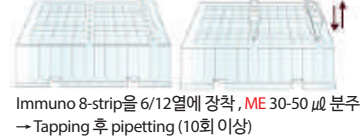
4/10열 MPW2 washing
→ Adaptor 8-strip을 분리하여 tapping
→ 다시 pipettor를 장착한 후 shaking (3단계, 1 min)

Step 7.



Air Dry, 2~3 min

Step 8.



Immuno 8-strip을 6/12열에 장착, ME 30-50 μL 분주
→ Tapping 후 pipetting (10회 이상)



Bead Removal



Eluted DNA

✓ Preparation.

- MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 80 mL** (50 prep 기준)을 넣어 사용
- Kit에 포함된 Enzyme (freezing dry 상태)은 D.W에 녹여 사용하시고 4°C (or -20°C) 에 보관
- Sample
 - Animal Tissue는 Fresh 한 상태의 시료 < 25 mg 사용
 - 적당한 용기에서 Liquid nitrogen으로 Fresh-Freeze tissues를 최대한 곱게 갈아주며, DNase 활성에 의한 DNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 다음 작업 수행

✓ Protocol.

Cell Lysis

- Sample (< 25 mg) + Lysis Buffer 400 µL** 첨가 + **Proteinase K (20 mg/mL) 20 µL + RNase A (4 mg/mL) 5 µL**
→ Vortex (10 sec) → Incubation (65°C, 15 min)
※ Tip: Incubation 중간중간 vortexing을 진행하면 효율이 증가합니다.
- 원심분리 (13,000 rpm, 1 min)
※ Tip: 조직이 완전히 녹았을 경우, 원심분리 하지않아도됨.
- 새로운 tube에 상층액과 **100% Isopropanol 200 µL** 첨가 → Vortex (10 sec)

Magnetic Bead Binding

- Magnetic bead 75 µL** 첨가 후 vortex (10 sec)
1.5 mL tube를 Magnetic separation stand에 장착 (30 sec ~ 1 min간 binding)
→ Stand에 tube가 장착된 상태로 5회 앞뒤로 inverting하여 tube cap의 bead 회수
→ 1 min 후 stand에 장착된 상태로 solution 제거. (Pipetting하여 제거 권장)

Magnetic Bead Washing & Dry

- MW1 (80% Ethanol) 750 µL** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 제거 **동일한 방법으로 한번 더 washing (총 2회)**
- MW2 (100% Ethanol) 750 µL** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 을 Pipette으로 완전히 제거
→ 건조 (Dry oven (60°C) 10 min / Heat Block (60°C) 5 min / Dryer 3 min)
※ Dryer를 사용할 경우, Contamination방지를 위해 1.5 mL tube 옆면을 heating해주세요.
Dry oven에 건조 시 오염 방지를 위해 aluminium foil을 덮어 건조해 주세요.

DNA Elution

- Stand에서 1.5 mL tube를 분리 후 Buffer **ME**를 **100-200 µL** 첨가
Vortexing (5 sec) or Tapping → Incubation (60°C, 2 min)
→ Magnetic Bead를 stand에 장착 후 1 min 뒤 eluted DNA를 새로운 1.5 mL tube에 옮김
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관
[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/10로 희석하여 1 µL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

✓ Work Flow

Step 1

Sample (< 25 mg)
+ Lysis Buffer 400 µL
+ Proteinase K (20 mg/mL) 20 µL
+ RNase A (4 mg/mL) 5 µL

Vortexing, 10 sec
Incubation (65°C, 15 min)

Step 2

원심분리 (13,000rpm, 1 min)
- 조직이 완전히 녹았을 경우,
원심분리하지 않아도 됨.

Step 3

새로운 tube에 상층액과
+ 100% Isopropanol 200 µL
Vortexing, 10 sec

Step 4

Magnetic Bead 75 µL
Vortexing, 10 sec
Tube를 Magnetic stand 장착
30 sec ~ 1 min 후 solution제거
(Pipetting)

Step 5

+MW1 750 µL
Tube를 Stand에서 분리
한 후 10 sec, Vortexing
Tube를 Magnetic stand 장착
30 sec ~ 1 min 후 solution제거

Step 6

+MW2 750 µL
Tube를 Stand에서 분리
한 후 10 sec, Vortexing
Tube를 Magnetic stand 장착
30 sec ~ 1 min 후 solution을
pipette으로 완전히 제거

Dry (Heat Block 60°C, 5 min 또는
Dry oven 60°C, 10 min)

Step 7

Tube를 Stand에서 분리 후
ME 100-200 µL 첨가
(Vortexing 5 sec 후 60°C, 2 min incubation)
Tube를 Magnetic stand 장착
1 min 후 Eluted DNA를
새로운 Tube에 Transfer.

Eluted DNA

②회반복

Genomic DNA Prep Kit For Animal Tissue

[Cat. No. GD704-100®]

☑ 주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항



- 제품의 유효기간은 구입일로부터 **1년 6개월**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.
- Magnetic Separation Stand, 96well Magnetic Stand, 96well Magnetic Pipettor를 dry oven이나 heat gun에 장시간 노출할 경우 화상 주의

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- RNase A는 1차 사용 후 냉동(냉장)보관하며 사용하도록 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.




☑ Equipment and Reagent to Be supplied by User


	Cat.No	제품명	사진
Instrument	SJ1-MBP96 / SJ1-MBP16	96well Magnetic Bead Pipettor / 16well Magnetic Bead Pipettor + 2.0 mm 육각봉렌치	
	SJ1-MSS96 / SJ1-MSS11	Magnetic Separation Stand(96well, 8-strip) / Magnetic Separation Stand (1.5 ml, 50 ml)	
	SL-8220	SCIOGEX MX-M Microplate Mixer	
	기타	Heat Block / Dry Oven	
Labware	PW681-050	Adaptor plate (0.2 ml standard profile PCR 96well plate-Non-skirted)	
	K58001	Adaptor 8-strip (Tear-off 0.2 ml Thin-Wall 8-Tube Strip)	
	38696	Immunoplate Strip Single Well	
	PU-961h	Collection plate	
	DP-9640	96well Deep-well Plate (U-bottom) -1.6 ml	
	EMT-1530pk	1.5ml Micro tube, Blue	
	기타	Pipette & Tips / Reservoir / Ethanol / Isopropanol	

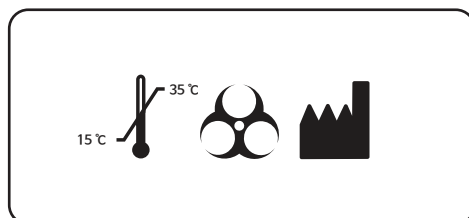


Please contact us,
if you have any question and need help.

 T)1670-5695

 www.bio-ft.com

 info@bio-ft.com



Quick Guide

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



*Da*Bead™ Genomic DNA Prep Kit For Animal Tissue (B)

[Magnetic Bead Type]

Press Pipettor
- 96well type

✓ Contents

- Lysis Buffer (40 mL), Magnetic Bead Plate (1ea), Binding Buffer Plate (1ea), Washing Buffer 1 Plate (1ea), Washing Buffer 2 Plate (1ea), Washing Buffer 3 Plate (1ea), Elution Buffer Plate (1ea), RNase A (4 mg/mL) (2ea), Proteinase K (20 mg/mL) (4ea), Adaptor (8 x 12) tip (1ea), Quick Guide (1매)

✓ Preparation

1. Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 4°C (or -20°C)에 보관
2. Lysis Buffer는 Prep 당 400 µL 사용 기준이며, 그 이상 사용시 별도 구매
3. Sample
 - Animal Tissue는 fresh한 상태의 시료 < 25 mg 사용
 - 적당한 용기에서 파쇄기 또는 Liquid nitrogen으로 Fresh-Freeze tissues를 최대한 곱게 갈아주며, DNase 활성에 의한 DNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 작업수행
4. Press Pipettor (DaBead™ 96well Magnetic Press Pipettor) 사용
5. 각 단계에서 magnetic Bead가 magnet에 완전히 붙을 수 있도록 30 sec 이상 충분히 binding.

✓ Protocol.

Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

- 1 : 1.5 mL tube에 sample (< 25 mg) + Lysis Buffer 400 µL → RNase A (4 mg/mL) 5 µL + Proteinase K (20 mg/mL) 20 µL 첨가 후 파쇄
 - Vortex (10 sec) → Incubation (65°C, 15 min) → 원심분리 (13,000 rpm, 1 min)
 - ※ Tip : Incubation 중간중간 vortexing을 진행하면 효율이 증가
- 2 : 상층액 모두를 Binding Buffer Plate에 transfer
 - ※ Tip : 조적이 완전히 녹았을 경우, 원심분리하지 않아도 됨.
- 3 : Press Pipettor에 Adaptor (8 x 12) tip 장착 후 Magnetic Bead Plate에서 bead 회수
- 4 : 상층액이 포함된 Binding Buffer Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리
 - Tapping (30회 이상) → Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수

Magnetic Bead Washing & Dry

- 5 : Washing Buffer 1 (MW1) Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리 → Tapping (30회 이상)
 - Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (1st. washing)
- 6 : Washing Buffer 2 (MW1) Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리 → Tapping (30회 이상)
 - Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (2nd. washing)
- 7 : Washing Buffer 3 (MW2) Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리 → Tapping (30회 이상)
 - Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (3rd. washing)
- 8 : Air dry, 2-3 min (RT)

DNA Elution

- 9 : Elution Buffer Plate에 bead가 부착된 Adaptor (8 x 12) tip을 분리 → Tapping (30회 이상)
 - Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에 다시 장착 후 bead 회수
 - [샘플에 따라 elution 전 tapping 횟수를 더 늘리거나 긴 tip을 사용하는 multipipettor로 pipetting 하시면 더 높은 효율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다.]

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/10로 희석하여 1 µL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

Step 1.



sample (< 25 mg)
+ Lysis Buffer 400 µL
+ RNase A (4 mg/mL) 5 µL
+ Proteinase K (20 mg/mL) 20 µL 첨가
→ 파쇄
→ Incubation (65°C, 15 min)

↓ Cfg. 13,000 rpm, 1 min

Step 2.



상층액 모두를
Binding Buffer Plate에
transfer

Step 3.



Press pipettor에
Adaptor (8 x 12) tip 장착



Magnetic Bead Plate에서
bead 회수

Step 4.



Binding Buffer Plate에
Adaptor (8 x 12) tip을 분리후
Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을
Press Pipettor에 다시 장착 후
bead 회수

Step 5.



Washing Buffer 1 (MW1) Plate에
→ Adaptor (8 x 12) tip을 분리.
→ Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에
다시 장착 후 bead 회수

Step 6.



Washing Buffer 2 (MW1) Plate에
→ Adaptor (8 x 12) tip을 분리.
→ Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에
다시 장착 후 bead 회수

Step 7~8.



Washing Buffer 3 (MW2) Plate에
→ Adaptor (8 x 12) tip을 분리.
→ Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에
다시 장착 후 bead 회수
→ Air dry, 2-3 min (RT)

Step 9.



Elution Buffer Plate에
→ Adaptor (8 x 12) tip을 분리.
→ Tapping (30회 이상)
→ Adaptor (8 x 12) tip을 Press Pipettor에
다시 장착 후 bead 회수
→ Eluted DNA를 transfer

Tip 장착



Tapping

