

Quick Guide

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



BioFACT™ 5X Band Helper™

[Cat. No. BB741-10k]

| Contents | BB741-10k |
|--------------------------|--------------|
| BioFACT™ 5X Band Helper™ | 1 ml x 10 ea |

제품 특징 (Feature)

- PCR 조건 set-up용 additives
- High G+C contents 또는 secondary structure 구조를 지닌 template의 증폭에 매우 효과적

Application

- High G+C contents 또는 secondary structure 구조로 PCR 증폭이 어려운 경우
- Non-Specific band이 형성되는 경우
- 기타 PCR set-up이 되지 않는 경우

Protocol

Total Reaction volume Final concentration이 0 X ~ 2.0 X가 되도록 5X Band Helper™ 를 첨가해 주세요.

[5X Band Helper™ 사용 예]

| Reaction mixture (conc. of 5X Band Helper™) | Mix I (0X) | Mix II (0.5X) | Mix III (1X) |
|---|------------|---------------|--------------|
| BioFACT™ S-Taq (5 U/μl) | 0.25 μl | 0.25 μl | 0.25 μl |
| Primer F (10 pmole/μl) | 2 μl | 2 μl | 2 μl |
| Primer R (10 pmole/μl) | 2 μl | 2 μl | 2 μl |
| Template DNA | - μl | - μl | - μl |
| 10X S-Taq Reaction Buffer | 5 μl | 5 μl | 5 μl |
| each 10 mM dNTP mix | 1 μl | 1 μl | 1 μl |
| 5X Band Helper™ | 0 μl | 5 μl | 10 μl |
| Add D.W to | 50 μl | 50 μl | 50 μl |

Reaction vol. 50 μl

Tip.

- 3' → 5' exonuclease activity (fidelity)
- T4 DNA Ligase activity is inhibited significantly by NaCl or KCl at 200 mM or a higher concentration.
- The addition of PEG 4000 (final concentration, 5%) can increase significantly ligation efficiency for blunt-end DNA.

Expiration Date : -20 ± 5°C 보관 시 2년 3개월



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

T)1670-5695

www.bio-ft.com

info@bio-ft.com



2016.04.01 (설명서 개정일)

주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항

- 제품의 유효기간은 구입일로부터 **2년 3개월**이다.
- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 모든 제품의 결과를 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 접촉시 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 동상의 위험이 있으니 반드시 감각 회복 후 사용할 것.

사용자 유의사항

- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- 냉동 제품을 자주 열리고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작성 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.

알림.

- Genomic DNA / Plasmid DNA / Total RNA는 사용하는 Primer의 종류에 따라 다양한 농도로 사용할 수 있다.
- NTC (Non-Template Control)을 이용하여 실험 환경내의 오염을 확인하도록 한다.
* 실험의 마지막 단계에서 적정량의 DNA / RNA template를 넣어 준다 . NTC에는 template대신 RNase / DNase free water를 넣어 Negative control로 사용한다 .

참고사항.

Template 종류에 따른 사용량 (PCR Cycles)

- Animal genomic DNA : 50 ng ~ 200 ng (30 ~ 35 cycles)
10 ng ~ 50 ng (30 ~ 40 cycles)
- Bacterial genomic DNA : 10 ng ~ 50 ng (30 ~ 35 cycles)
1 ng ~ 5 ng (30 ~ 40 cycles)
- Plasmid and Lambda DNA : 1 ng ~ 5 ng (30 ~ 40 cycles)



Troubleshooting Guide

(주) 바이오팩트 사용시 먼저 check해 주세요.

dNTP 농도 Check: (주) 바이오팩트 dNTP Mix의 농도는 each 10mM입니다 .

Reaction Vol. 50μl 기준 dNTP (each 10mM) 1μl 를 사용합니다 .

Enzyme 농도 Check: Reaction Vol. 50μl 기준 1.25 Unit을 사용합니다 .

Band Helper™ 농도 조절 : DNA 구조적인 문제 시 Final 0X~2X로 조절하여 사용합니다 .

Low yield or No Band

- 농도 check**
 - 01. dNTP 농도 check
적정량보다 초과 사용 시 substrate inhibition 작용으로 인해 target DNA를 생성하는 데 문제가 발생할 수 있습니다 .
 - 02. Band Helper™

- 온도/시간 check**
 - 01. Annealing Temperature(AT) check
 $T_m = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$, $AT = T_m - (4-6^\circ C)$ 이 산출법으로 설정 후 에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다 .
 - 02. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)
 - 03. Extension time Check
일반적으로 0.5~1 min/kb로 설정 . 단, μ 는 1~2 min/kb

- template Primer Check**
 - 01. Primer degradation check
Primer dilution 후 4°C에서 경기간 보관 시 분해되어 PCR에 영향을 줄 수 있습니다. 새로 dilution하거나 제작하여 사용합니다.
 - 02. Starting template check
보관상태가 불량하거나 농도가 낮은 경우, quality가 낮은 경우 문제가 발생할 수 있습니다 . 새로 prep하거나 사용량을 늘립니다 .

Smear Band

- 농도 check**
 - 01. Enzyme 농도 check
Reaction Vol. 50 μl 기준 1.25 Unit을 사용하며 , 계속 smear될 경우 Enzyme 양을 줄여가며 reaction합니다 .
 - 02. dNTP 농도 check
Long PCR일 경우 적게 사용 시 smear될 수 있습니다 .
 - 03. Template 농도 check
Template를 dilution하여 사용합니다 .

- PCR condition check**
 - 01. Extension time Check
Extension time이 적정시간보다 길 경우 , target size보다 긴 단편들이 형성되어 smear될 수 있습니다 .
 - 02. Cycle number check
cycle 수를 줄여서 PCR합니다 .

- 온도/시간 check**
 - 01. Annealing Temperature(AT) check
 $T_m = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$, $AT = T_m - (4-6^\circ C)$ 이 산출법으로 설정 후 에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다 .
 - 02. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)

Non-Specific Band

- TRY**
 - 01. Annealing Temperature(AT)를 높여 PCR한다 .
 - 02. Band Helper™를 첨가한다 .
 - 03. Hot Start Enzyme를 사용하여 PCR을 진행한다 .

