



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.



HiGene™ Genomic DNA Prep Kit For Soil

[Grinding Bead & Column Type]

Table of Contents.

• 제품 구성품	1
• Know-How	2
• Preparation & Protocol	4
• QC DATA	6
• Troubleshooting	7
• 주의사항	8

MEMO

☑ 주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항



- 제품의 유효기간은 구입일로부터 1년 6개월이다.
- 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 씻는다.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받는다.
- 피부에 접촉했을 때 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻는다.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받는다.
- 동상의 위험이 있으니 반드시 장갑 착용 후 사용할 것.

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- 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.

☑ 구성품 용량

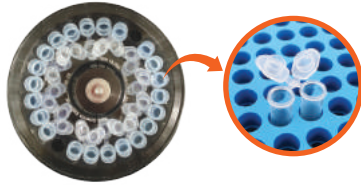
Contents	GD105-100
SL	60 ml
SB	50 ml
SW1	50 ml
SW2(100% Ethanol 첨가하여 사용요망)	20 ml
P1(Grinding Bead)	100ea
HelpB	20 ml
Elution Buffer	10 ml
Spin Column & Collection Tube	100 Preps(50 ea X 2 bottle)
Collection Tube	100 ea(50 ea X 2 pack)
Quick Guide	1매



(주)바이오팩트
본사/공장 : 대전광역시 유성구 테크노8로 70

✓ Know-How for Preparation

- 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.

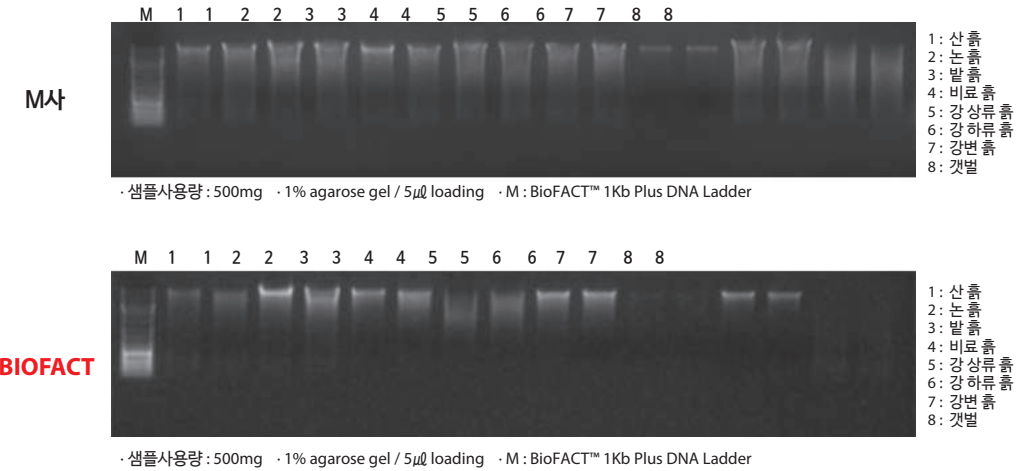
- 500mg 이하의 샘플로 추출하기를 권장드립니다.
- SW2는 실험 시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다.
- SB는 주변온도가 낮아지면 결정이 생길 수 있습니다.
이런 경우에 전자레인지 또는 Dry oven에서 heating시켜 녹인 후 사용합니다.
- 유효기간이 지나지 않은 제품을 사용합니다.
- 시료를 Grinding 시킬 때 고강도 또는 장시간 파쇄할 경우 DNA가 degradation될 수 있으므로 주의합니다.
- 시료의 색소 또는 Elution 후 색소 용출이 심한 경우, SB첨가 후 원심분리 추가 진행합니다.
- Elution Buffer 사용 전에 column을 공회전하여 EtOH를 완전히 제거합니다.
- DNA elution 시 Elution Buffer를 50°C에서 10분정도 pre-heating 시킨 후 elution하면 효율이 높아집니다.
(특히, Large DNA fragment의 경우 효율이 높아집니다.)
- 기타 문의사항은 ㈜바이오팩트 학술서비스팀 (☎ 1670-5695)로 연락주세요.

✓ Troubleshooting

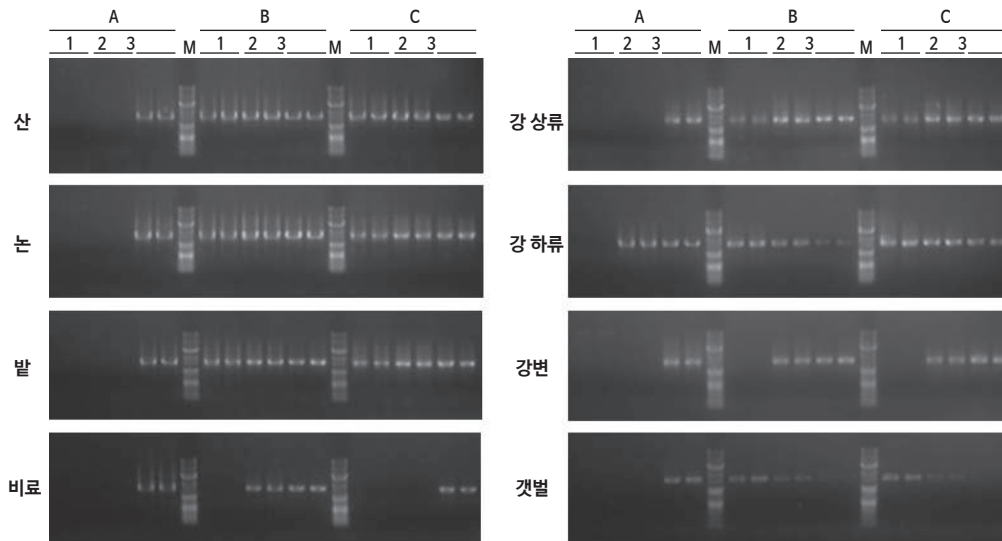
Trouble	Check List
Low Yield DNA	<p>01. Washing buffer 를 만든지 오래된 것은 아닌가요? SW2(80% Ethanol)를 만든지 오래 되었을 경우 evaporation으로 인해 Ethanol의 농도가 낮아져 yield가 떨어지게 됩니다. SW2를 새로 만들어 사용해 보세요.</p> <p>02. SW2에 Ethanol을 첨가 하셨나요? Washing Buffer에는 사용 전 반드시 protocol에 기재된 용량만큼 96 - 100% Ethanol을 첨가하셔야 합니다.</p> <p>03. SB Buffer 첨가 후 오랜 시간 방치 하셨나요? SB Buffer 첨가 후, 오랜 시간 방치되면 genomic DNA 추출효율이 떨어질 수 있습니다. SB buffer 첨가 후 5분 이내에 실험하실 것을 권장합니다.</p> <p>04. Column 사용 전 HelpB Buffer 처리를 하셨나요? HelpB Buffer는 column filter에 DNA가 좀 더 잘binding될 수 있도록 도와주는buffer입니다. 간단한 step으로 정제효율을 높이실 수 있습니다.</p>
Nicked DNA Degraded DNA	<p>01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요? Plasticware나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고, plasticware는 사용 전 autoclave 하여 사용하세요.</p> <p>02. Grinding 강도 또는 시간이 적절하신가요? 너무 강한 Bead beating이나 오랜 시간의 grinding은 degraded DNA를 유발해 smear 될 수 있습니다. 보유중인 장비로 grinding 조건 setup후 사용하세요.</p>
Low Quality DNA	<p>01. Washing 단계 후 공회전을 하셨나요? Elution된 DNA에 EtOH이 포함되어 있을 경우 다음 단계의 실험 진행에 문제가 발생할 수 있습니다. 이를 해결하기 위해 washing 단계 후 공회전을 3min 이상 수행한 후 elution 하면 됩니다.</p>

QC DATA

1. 토양별 Genomic DNA 추출 결과

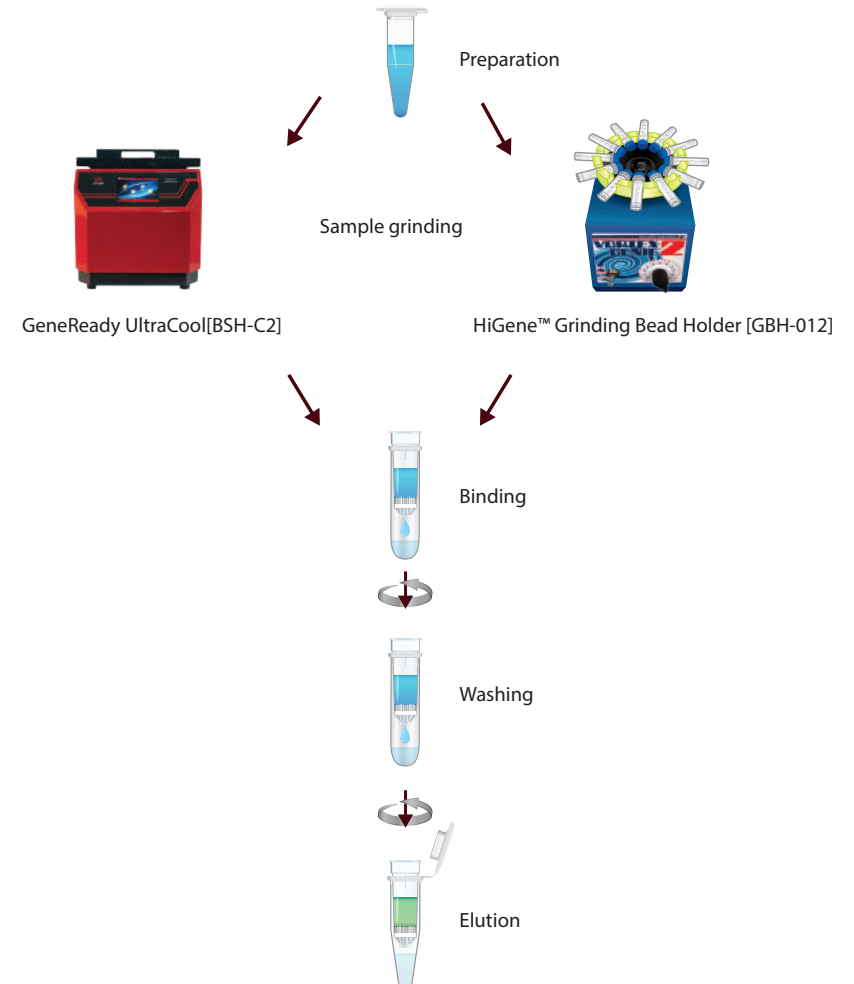


2. 토양별 PCR 증폭 결과



A : Msa B : BIOFACT (GeneReady 5m/s 40sec) C : BIOFACT (Genie 2 vortex 최대강도 5min)
 · Genomic DNA 농도별 : 1 : 5⁰ 2 : 5¹ 3 : 5² · Target Gene (size): 16s rRNA (1.5kb) · M : BioFACT™ 1Kb Plus DNA Ladder
 ※ PCR 증폭시 타사 제품에 비해 Inhibition의 영향이 적어 원액 fold부터 증폭된 것을 확인 할 수 있습니다.

DNA Extraction Procedure



[GD105-100] HiGene™ Genomic DNA Prep Kit For Soil
 gDNA 1ea prep 시간
 : 약 30분 내외

✓ Preparation.

1. SW2 Bottle에는 반드시 100% Ethanol 80 μl (100 prep 기준)을 넣어 사용합니다.
2. SB 시약은 15°C 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고, 석출이 일어나면 37°C Water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선 피해 보관합니다.
* SB 시약은 특성상 Light yellow (or Light pink) color를 띠 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다.
3. Soil 시료 500mg 이하로 사용 권장드립니다.
* Soil 시료의 경우 샘플간의 Variation이 있을 수 있습니다.
4. Grinding 조건 (자사 제품 기준)
GeneReady (Grinding Machine) 5m/s 40sec 권장
Genie2 (Vortex Bead Beater) 최대속도로 5min 권장
* 보유중인 장비와 Soil 종류에 따라 적정 조건이 달라질 수 있습니다.

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Sample(< 500mg) + SL 600 μl 첨가
- 2 : Grinding* 진행
* GeneReady (Grinding Machine) 5 m/s 40 sec 권장 (자사 제품 기준)
* Genie2 (Vortex Bead Beater) 최대속도로 5 min 권장 (자사 제품 기준)
* Soil 종류에 따라 보유중인 장비로 grinding 조건을 setup후 사용하세요.
- 3 : cfg. (13,000 rpm, 3 min) 진행
- 4 : 상층액 300 μl를 새로운 1.5 ml Micro tube에 옮긴 후 SB 500 μl 첨가, 10 ~ 20회 Inverting
※ 색소가 보이는 샘플의 경우 추가로 cfg (13,000 rpm, 1 min) 진행

Column Preparation

- 5 : Spin column을 2 ml Collection tube 에 장착
→ Help B buffer 200 μl 첨가 → cfg. (13,000 rpm, 30 sec) → 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

Column Binding

- 6 : Step 4의 반응액 750 μl Spin column에 첨가 → cfg. (7,000 rpm, 1 min)
→ 내려간 Solution은 Collection tube와 함께 제거 → Spin column을 새로운 2 ml Collection tube에 장착

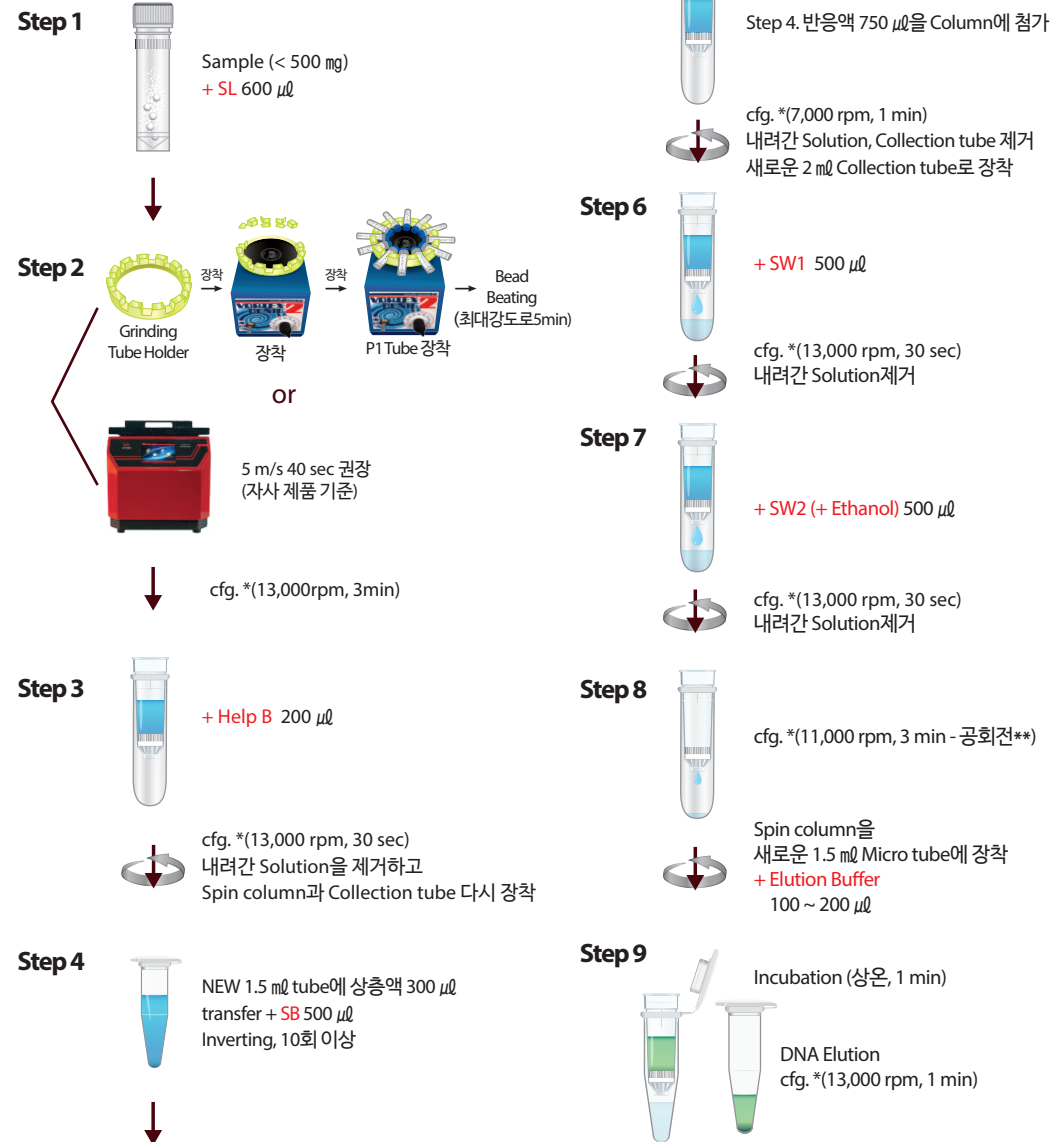
Column Washing & Dry

- 7 : Spin column에 SW1 500 μl 첨가 후 cfg. (13,000 rpm, 30 sec) → 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 8 : Spin column에 SW2 (+ Ethanol) 500 μl 첨가 후 cfg. (13,000 rpm, 30 sec)
→ 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착 column 다시 장착
- 9 : cfg. (13,000 rpm, 3 min - 공회전**) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml Micro tube에 장착
※ 공회전** : Washing buffer를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin column을 원심분리 수행

DNA Elution

- 10 : Elution buffer 100 μl 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

✓ Work Flow



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