



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 Plant [Rice]

[For 96Well Magnetic Bead Pipettor]

MEMO

Table of Contents.

• 구성품 용량	-----	1
• Know-How	-----	2
• Extract Genomic DNA from Rice	-----	3
• Troubleshooting	-----	5
• Equipment and Reagent to Be supplied by User	-----	6
• 주의사항	-----	7

☑ 구성품 용량

Contents	GD707-480	GD707-10h
Lysis Buffer	160 ml X 2 EA	220 ml X 3 EA
Binding Buffer	80 ml X 1 EA	160 ml X 1 EA
Washing Buffer 1	22.5ml X 1 EA	22.5ml X 2 EA
Washing Buffer 2	빈 bottle로 제공	빈 bottle로 제공
Elution Buffer	60 ml X 1 EA	120 ml X 1 EA
RNase A (4 mg/ml)	1 EA	2 EA
Proteinase K(20 mg/ml)	5 EA	10 EA
Magnetic Bead	9 ml X 1 EA	18 ml X 1 EA
Quick Guide	1 매	1 매

☑ Know-How for Preparation

- [Washing Buffer 1]는 실험 시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다.
- Sample 준비 시 fresh한 시료를 최대한 곱게 갈아 사용하도록 합니다.
- Lysis 후 원심분리된 상층액은 plate를 한쪽으로 기울여 debris가 떨어져나오도록 조심스럽게 취하도록 합니다.
- Binding Buffer는 휘발성 시약이므로 사용하기 직전 분주하여 사용합니다.
- Cell Lysis Buffer는 주변 온도가 낮아지면 결정이 생길 수 있습니다. 이런 경우에 전자레인지 또는 dry oven에서 heating시켜 녹인 후 사용합니다.
- Elution한 DNA의 yield가 300 ng/μl 이상일 경우, 전기영동 시 정확한 확인이 어려울 수 있으므로 dilution하여 loading합니다.
- Shaker에 plate를 장착하여 shaking 진행 시 well 밖으로 샘플이 넘칠 수 있으므로 낮은 rpm에서 서서히 올려 샘플이 넘치지 않도록 주의합니다.
- Elution 마지막 단계에서 Magnetic Bead 분리가 완벽하게 되지 않을 경우, suspension 시간을 늘리고, Magnetic Bead Pipettor에 1회 더 binding합니다.
- Suspension 단계에서 Shaking이나 Tapping의 시간과 횟수를 늘릴수록 높은 수율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다.
- Elution volume은 DNA yield에 따라 감소/증가하여 사용하도록 합니다. (추출된 gDNA 농도가 높을 경우 점성이 생기므로 elution volume을 증가시켜주는 것이 좋습니다.)
- 완전히 제거되지 않은 ethanol은 다음 단계 실험에 영향을 미칠 수 있으므로 충분히 제거합니다.
- 기타 문의사항은 (주)바이오팩트 학술서비스팀 (☎ 1670-5695)로 연락주세요.

☑ Pipettor + Adaptor plate 장착 시 주의점

- 각 STEP에서 Magnetic pipettor에 adaptor plate[PW681-050] 장착 시 함께 제공해드리는 알루미늄 rack을 이용하여 장착해야 합니다. (♥ 표시 단계)
- Buffer가 분주된 plate에서 바로 Magnetic pipettor를 장착할 경우 샘플간 contamination 위험이 높아집니다.



• 바이오팩트 shaker 속도단계

✓ Preparation.

1. Washing Buffer-1 Bottle에는 반드시 **100 % Ethanol 90 ml** (1 EA bottle 기준)을 넣어 사용
2. Washing Buffer-2 Bottle에는 반드시 **100 % Ethanol**을 넣어 사용 (빈 bottle로 제공)
3. Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 4°C or -20°C에 보관
4. RNase A 첨가된 Elution Buffer는 반드시 4°C에 보관하여 사용하도록 합니다.
5. Sample
 - Rice 샘플은 1립씩 사용하며, 메벼/참쌀/흑미과 관계없이 동일과정으로 진행
6. Shaker 속도 : Shaker 속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.
Work Flow에 있는 속도는 바이오팩트 제품 사용 시 속도 단계입니다.

✓ Protocol.

Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

- 1: 쌀 1립 파쇄 + **Cell Lysis Buffer 400 μl** + **Pro-K(20 mg/ml) 5 μl** 첨가 → Incubation (65°C, 10 min)
(파쇄된 샘플을 1.0 ml deepwell plate에 넣고 water bath에서 Incubation 진행, Sealing Tape 사용)
- 2: 원심분리 (3,000 rpm, 10 min)
→ **상층액 150 μl**를 1.0 ml Deepwell plate에 옮긴 후 **Magnetic Bead 15 μl** + **Binding Buffer 150 μl** 첨가
→ Shaking (바이오팩트 shaker 3 단계, 1 min)
- 3: 96 well magnetic Pipettor에 adaptor plate를 장착한 후, deepwell plate의 bead 회수

Magnetic Bead Washing & Dry

- 4: Collection plate에 **Washing Buffer 1 75 μl** 분주 → bead가 부착된 Adaptor plate에서 pipettor분리
→ Plate로 Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (1st. washing)
- 5: New collection plate에 **Washing Buffer 1 75 μl** 분주 → bead가 부착된 Adaptor plate에서 pipettor분리
→ Plate로 Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (2nd. washing)
- 6: New collection plate에 **Washing Buffer 2 75 μl** 분주 → bead가 부착된 Adaptor plate에서 pipettor분리
→ Plate로 Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (3rd. washing)
→ Air dry, 3 ~ 5 min (RT)

DNA Elution

- 7: New collection plate에 **Elution Buffer***, **100 μl** 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 Adaptor plate 분리
→ Plate로 Tapping 후 1 min간 shaking (바이오팩트 shaker 3단계, 1 min)
→ Magnetic pipettor에 adaptor plate를 장착 후 bead 회수
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

* 예) **Elution Buffer : RNase A (4 mg/ml) = 1 ml : 10 μl** 비율로 사용할만큼 미리 섞어서 준비하도록 합니다.
RNase A가 포함된 Elution Buffer는 냉장보관하여 사용하세요.

✓ Work Flow

Step 1.



P3 bead(또는 망치) + 쌀 1립
→ grinding



1.0 ml Deep well plate에
파쇄된 샘플 넣기
+ **Lysis Buffer 400 μl**
+ **Pro-K(20 mg/ml) 5 μl** 첨가
Incubation (65°C, 10 min)

Step 2.



cfg 3,000 rpm, 10 min

상층액 150 μl
+ **Magnetic Bead 15 μl** 첨가
+ **Binding Buffer 150 μl** 첨가

Step 3.



Adaptor plate를 Magnetic Pipettor에 장착
Adaptor plate로 bead 회수

Step 4.



[**Washing Buffer 1**] 75 μl
Plate로 Tapping
1st. Washing
Adaptor plate로 bead 회수

Step 5.



[**Washing Buffer 1**] 75 μl
Plate로 Tapping
2nd. Washing
Adaptor plate로 bead 회수

Step 6.



[**Washing Buffer 2**] 75 μl
Plate로 Tapping
3rd. Washing
Adaptor plate로 bead 회수



Bead Dry(RT), 3 ~ 5 min

Step 7.



+ **Elution Buffer (RNase A 포함)**
50 ~ 100 μl 분주
Plate로 Tapping



Adaptor plate로 bead 회수

Eluted DNA

✔ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	<p>01. Washing buffer 를 만든지 오래 된 것은 아닌가요? Washing buffer 1 (80% Ethanol)을 만든지 오래 되었을 경우 evaporation으로 인해 ethanol의 농도가 낮아져 yield가 떨어지게 됩니다. Washing buffer 1을 새로 만들어 사용해 보세요.</p> <p>02. Washing Buffer-1에 ethanol을 첨가 하셨나요? Washing buffer-1에는 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 loss되지 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 bead loss가 생길 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>Nicked DNA Degraded DNA</p> <p>01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요? Plasticware나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고, plasticware는 사용 전 autoclave하여 사용하세요.</p>
	<p>Eluted RNA</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 지킵니다.</p>
	<p>Low Quality DNA</p> <p>01. Washing 단계 후 Ethanol을 충분히 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>Mixed several samples</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 sample mix가 일어날 수 있으므로 주의합니다.</p>

✔ Equipment and Reagent to Be supplied by User

	Cat.No	제품명	사진
Instrument	SJ1-MBP96 / SJ1-MBP16	96 well Magnetic Bead Pipettor / 16 well 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)	
	PU-961h	Collection plate	
	DP-9640	96 Square Deep Well Plate (1.0 ml)	
	EMT-1530pk	1.5 ml Micro tube, Blue (E-Beam, sterilize)	
	기타	Pipette & Tips / Reservoir / Ethanol / Isopropanol	

Application

<Plant genomic DNA Prep Kit 별 사용 가능한 식물 종류>

++, +++ (추출 효율)

		Plant [GD703-100]	GMO Kit I [GD706-100]	Rice [GD707-480]	Seed [GD709-100]	
	Cat.no	Plant A type [GD703-100(A)]	Plant B type [GD703-100(B)]	Plant C type [GD703-100(C)]	Plant D type [GD703-100(D)]	Plant E type [GD703-100(E)]
type	sample name					
잎	감나무	++				
잎	고구마	++				
잎	고추	++				
잎	국화	++	++		+++	
잎	깨	++		+++		
잎	동백나무	++				
잎	돼지풀	+++				
잎	메론	++		+++		
잎	밀			++		+++
잎	밤나무	++				
잎	배추	++				
잎	백합	+++				
잎	버팀목	++				
잎	벼	+++		++		
잎	병풀	++				
잎	부추	++				
잎	브로컬리	++				
잎	사과나무	+++				
잎	미선나무					+++
잎	사탕수수	++	++	++		
	Cat.no	Plant A type [GD703-100(A)]	Plant B type [GD703-100(B)]	Plant C type [GD703-100(C)]	Plant D type [GD703-100(D)]	Plant E type [GD703-100(E)]
type	sample name					
잎	상추/적상추	+++				
잎	수박			++		+++
잎	시금치	++				
잎	양배추	++				
잎	오이	++				
잎	잡초	++				
잎	참외	++				
잎	청경채	++				
잎	컬리플라워	++				
잎	콩		+++	+++		
잎	토마토			++		+++
잎	틀립	+++				
잎	파	++				
줄기	고구마	++				
줄기	망두릅	++				
줄기	미나리	++				
줄기	유채 (GMO)	++				
종자	수박			++		+++
종자	가지				+++	
종자	강낭콩/망콩		+++			

		Plant [GD703-100]	GMO Kit I [GD706-100]	Rice [GD707-480]	Seed [GD709-100]	
	Cat.no	Plant A type [GD703-100(A)]	Plant B type [GD703-100(B)]	Plant C type [GD703-100(C)]	Plant D type [GD703-100(D)]	Plant E type [GD703-100(E)]
type	sample name					
종자	고추			+++	++	
종자	깨/들깨				++	
종자	당근		++		+++	
종자	대두		++			
종자	팥쌀			+++		
종자	무/열무				++	
종자	밀			+++	++	
종자	배추				++	
종자	백출				++	
종자	보리			+++		
종자	비타민채				++	
종자	비트				+++	
종자	상추				++	
종자	쌀/참쌀			++		
종자	알팔파				++	
종자	유채 (GMO)		++			
종자	적갓				+++	
종자	콩		+++	++		++
종자	파				+++	
종자	팥		++			+++
	Cat.no	Plant A type [GD703-100(A)]	Plant B type [GD703-100(B)]	Plant C type [GD703-100(C)]	Plant D type [GD703-100(D)]	Plant E type [GD703-100(E)]
type	sample name					
종자	현미			++	+++	
종자	호박				+++	
종자	흑미/흑미참쌀			++		
열매	가지	++	+++			
열매	옥수수		++		++	
뿌리	냉이	++				
뿌리	달래	+++				
뿌리	씀바귀	++				
뿌리	인삼	++				
뿌리	파	++				
꽃잎	봉선화					++
꽃잎	토마토	++		+++		
껍질	굴	++				
구황작물	감자		++			
구황작물	고구마		++			
기타	건목재	+				
버섯류	새송이버섯	++				+++
버섯류	느타리버섯	++				+++
버섯류	만송이버섯	++				+++

- 위 데이터는 당사 테스트가 완료된 샘플입니다.
 - 보유하신 샘플에 따라 추출 효율에 차이가 있을 수 있습니다.
 - 샘플 테스트를 권장합니다. (학술서비스팀으로 문의주세요.)

Genomic DNA Prep Kit For Plant [Rice]

[Cat. No. GD707-480, GD707-10h]

☑ 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 피할 것.
- 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 A, Proteinase K는 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.



MEMO