

Quick Guide

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



BioFACT™ 2X Multi-Star PCR Master Mix

[Cat. No. MS301-25h(with dye), MS302-25h(w/o dye)]

Contents	MS301-25h	MS302-25h
2X Multi-Star PCR Master Mix	0.5 ml x 5 ea (with dye)	0.5 ml x 5 ea (w/o dye)

제품 특징 (Feature)

- Source : *Thermus aquaticus*
- 5' → 3' exonuclease activity : Yes
- 3' → 5' exonuclease activity (fidelity) : No
- Hot start activity : Yes (Chemical-mediated hot start)
- Amplification size : < 1 kb PCR
- Multi-Band 증폭을 위해 최적화된 Master Mix
- Hot Start Enzyme 인 BioFACT™ H-Star Taq이 들어 있어 Target gene에 대한 높은 특이성 지님.
- Multiplex PCR, Allele Specific PCR, Methylation Specific PCR에 적합.

PCR Mixture & Cycle

PCR Mixture	Reaction Vol. 20 µl	Reaction Vol. 50 µl
2X Multi-Star PCR Master Mix	10 µl	25 µl
Primer F (10 pmole/µl)	1 µl	2 µl
Primer R (10 pmole/µl)	1 µl	2 µl
Template DNA	- µl	- µl
Add D.W to	20 µl	50 µl

Cycle*	
[2-Step cycling protocol]	[3-Step cycling protocol]
95 °C 15 min X 1	95 °C 15 min X 1
95 °C 20 sec	95 °C 20 sec
Anneal & Extension 1 min/kb X 30~50	AT 20-40 sec X 30~50
72 °C 5 min X 1	72 °C 1 min/kb X 1
8 °C ∞	72 °C 5 min X 1
	8 °C ∞

(Template <200 ng)

5X Band Helper™ : PCR 증폭용 Additives로 High G+C contents 또는 secondary structure 구조를 지닌 template의 증폭에 매우 효과적입니다. (단, Fidelity기능이 있는 PCR enzyme 사용 시에는 mutation의 위험이 있을 수 있으므로 최소량의 사용을 권장합니다.) ※별도 구매



Tip.

PCR 수행 시 사용하는 Template의 종류 및 농도, 증폭하고자 하는 target size, primer의 Tm에 따라 template의 사용량, AT, Extension time, Taq의 양, Cycle 수, 5X Band Helper™ 양을 조절해 사용합니다.

5 Kb 이상 증폭 시 BioFACT™ Lamp Taq DNA Polymerase의 사용을 권장합니다.

▶ Tm값 설정

$$Tm = 4 \times (G+C) + 2 \times (A+T)$$

$$AT = Tm - (4 \sim 6^\circ C)$$

Expiration Date : -20±5°C 보관 시 1년 6개월



Please contact us, if you have any question and need help.
T)1670-5695 www.bio-ft.com info@bio-ft.com

2021. 04. 23 (설명서 개정일)



주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항

- 제품의 유효기간은 구입일로부터 1년6개월이다.
- 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 접촉 시 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것
- 동상의 위험이 있으니 반드시 경갑 착용 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.
- 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.



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 (25 ~ 35 cycles)
10 ng ~ 50 ng (25 ~ 40 cycles)
- Bacterial genomic DNA : 10 ng ~ 50 ng (25 ~ 35 cycles)
1 ng ~ 5 ng (25 ~ 40 cycles)
- Plasmid and Lamda DNA : 1 ng ~ 5 ng (25 ~ 40 cycles)



Troubleshooting Guide

(주) 바이오팩트 사용 시 먼저 check해 주세요.

dNTP 농도 Check: (주) 바이오팩트 dNTP Mix의 농도는 each 10mM입니다.
Reaction Vol. 50 µl 기준 dNTP (each 10mM) 1 µl를 사용합니다.

Enzyme 농도 Check: Reaction Vol. 50 µl 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™ - 0X ~ 2X 농도 조절합니다.

- 온도/시간 check**
- 01. Annealing Temperature(AT) check
 $Tm = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$, $AT = Tm - (4 \sim 6^\circ C)$ 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, Pfu는 1~2min/kb

- Template primer check**
- 01. Primer degradation check
Primer dilution 후 4°C에서 장기간 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 PCR 합니다.

- 온도/시간 check**
- 01. Annealing Temperature(AT) check
 $Tm = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$, $AT = Tm - (4 \sim 6^\circ C)$ 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 PCR합니다.
- 02. Band Helper™를 첨가합니다.
- 03. Hot Start Enzyme를 사용하여 PCR을 진행합니다.

