

# Quick Guide

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



## Multi-Star PCR Pre-Mix

[Lyophilized Type] [Cat. No. MS501-096]

Contents	MS501-096
Multi-Star PCR Pre-Mix	Lyophilized PCR Tube(0.2 ml) (8 Strip x 12 EA)

### 제품 특징 (Feature)

- All components : H-Star Taq polymerase, dNTP's, reaction buffers, BPB, enhancers and stabilizers are lyophilized
- Simple, and fast setting up procedure for high yield and repeatable results
- Optimized and ready-to-use mixture of all components for a successful PCR
- Hot start activity : Yes (Chemical-mediated hot start)
- 5' → 3' exonuclease activity : Yes
- 3' → 5' exonuclease activity (fidelity) : No
- Amplification size : < 1 kb PCR
- Hot Start Enzyme인 BioFACT™ H-Star Taq이 들어 있어 Target gene에 대한 높은 특이성 지님.
- Multiplex PCR, Allele Specific PCR, Methylation Specific PCR 에 적합.

### PCR Mixture & Cycle

PCR Mixture (Reaction vol. : 30 μl)	
Lyophilized Multi-Star PCR Pre-Mix	1 tube
Primer F (10 pmole/μl)	1 ~ 2 μl
Primer R (10 pmole/μl)	1 ~ 2 μl
Template DNA	< 100 ng
Add D.W to	30 μl

  

Cycle*	
[2-Step cycling protocol]	
95 °C 15 min X 1	} X30~50
95 °C 20 sec	
Anneal & Extension 40 sec	
72 °C 5 min X 1	} X 30~50
72 °C 1min/kb	
8 °C ∞	
[3-Step cycling protocol]	
95 °C 15 min X 1	} X 30~50
95 °C 20 sec	
72 °C 1min/kb	
72 °C 5 min X 1	} 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.)

### 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.

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

#### ▶ Tm값 설정

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

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

### 제품 보관 (Storage)

- Store at 4 ± 5 °C in an aluminium coated bag or on another dry place; humidity < 65 % when sealing is opened

Expiration Date : 4 ± 5 °C 보관 시 1년



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

2019. 04. 16 (설명서 개정일)

### 주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

### 제품보증 및 책임사항

- 제품의 유효기간은 구입일로부터 1년이다.
- 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 장갑 착용 후 사용할 것.

### 사용자 유의사항

- 유효기간이 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 (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 Lamda DNA : 1 ng ~ 5 ng (30 ~ 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 Unit를 사용합니다.

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

### Low yield or No Band

**Pure template quality**  
**01. DNA purity check**  
DNA template의 260/280 ratio를 통한 DNA 순도를 측정하여 1.8 ~ 2.0 범위의 DNA를 사용하도록 합니다.

**온도/시간 check**  
**01. Annealing Temperature(AT) check**  
Tm=(A+T)X2+(G+C)X4, AT=Tm-(4~6°C) 이 산출법으로 설정 후에도 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 낮을 경우 문제가 발생할 수 있습니다. 새로 prep하거나 사용량을 늘립니다.

### Smear Band

**농도 check**  
**01. Template 농도 check**  
Template를 serial 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)X2+(G+C)X4, AT=Tm-(4~6°C) 이 산출법으로 설정 후에도 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.** [별도 구매, Cat. No. BB741-10h]  
**03. Hot Start Enzyme을 사용하여 PCR을 진행한다.**

