

SimpleWay™

## gDNA Prep &amp; PCR Set I

For Blood, Animal Tissue, Saliva  
Hair Root, Oral Epithelial Cell

Contents	SW401-100
SLB	1.0 ml x 10 ea
Proteinase K(20 mg/ml)	0.55 ml x 1 ea
SimpleWay™ 2X PCR Master Mix III	0.5 ml x 5 ea
5X Band Helper™	1.0 ml x 1 ea
6X DNA Loading Dye	1.0 ml x 1 ea

## Description

SimpleWay™ gDNA Prep & PCR Set I은 본 제품은 boiling 방식을 이용하여 빠르고 신속하게 다양한 샘플(Blood, Animal Tissue, Saliva, Hair Root, Oral-Epithelial Cell)로부터 genomic DNA를 추출할 수 있으며, 제품 내에 2X PCR Master Mix가 포함되어 있어 template DNA와 primer mixture를 첨가하여 간단하게 PCR을 수행할 수 있습니다.

## 제품 특징 (Feature)

- Boiling Type
- Rapid Preparation
- Safe and economical
- Low Handling error

## Preparation

1. 사용하기 전, Boiling을 위한 99°C Heat block 또는 PCR 장비를 준비합니다.
  2. Kit에 포함된 Proteinase K(Dry 상태)에 D.W 550 µl를 넣어 20 mg/ml 농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C에 보관하여 사용합니다.
  3. Sample(Fresh한 샘플 권장)
    - Whole blood, Saliva 샘플은 10 ~ 50 µl를 사용합니다.
    - Oral Epithelial Cell은 채취용 brush를 사용하여 D.W 500 µl에 현탁하여 10 ~ 50 µl를 사용합니다.
    - Hair Root(모근)는 1 ~ 4 가닥을 사용합니다.
    - Animal Tissue는 30 mg 이하를 사용합니다.
- ※ Oral Epithelial Cell 채취는 BioFact™ Brush Set III (Cat. No. BQJ3-K100) 사용을 추천합니다.

## Protocol

1. 채취한 샘플을 각 tube 아랫쪽에 위치하도록 넣습니다.
  - 99°C Heat block: 1.5 ml tube 사용
  - PCR 기기: 0.2 ml PCR tube 또는 96 well plate 사용
2. SLB Buffer 100 µl를 각 샘플에 넣은 후 99°C Heat block 또는 PCR 장비에서 10 min간 반응시킵니다.
  - Boiling rack에 장착하여 끓는 물에서 10 min간 반응가능
  - SLB Buffer는 50 ~ 100 µl 사용가능
  - Hair Root(모근) / Animal Tissue 샘플은 Proteinase K (20 mg/ml) 5 µl를 추가로 첨가하여 함께 반응하도록 합니다.
3. 상온에서 2 min간 식힌 후, 12,000 rpm에서 1 min간 원심분리합니다.
4. 상층액을 template로 사용하여 PCR 합니다.
  - Template는 PCR volume의 10%(v/v)를 초과하지 않도록 해야 합니다.

## PCR Mixture &amp; Cycle

PCR Mixture(Reaction Vol. 50 µl)	Cycle
SimpleWay™ 2X PCR Master Mix III 25 µl	95 °C 2 min X 1
Primer Mixture (10 pmole/µl) 2 µl	95 °C 20 sec
Template DNA 1 ~ 5 µl	AT 20-40 sec } X 30 ~50
5X Band Helper™ 0 ~ 20 µl	72 °C 1min/kb
Add D.W to 50 µl	72 °C 5 min X 1
	8 °C ∞

## 5X Band Helper™ 사용 예

Reaction mixture (conc. of 5X Band Helper™)	Mix I (0X)	Mix II (0.5X)
Template DNA	- µl	- µl
SimpleWay™ 2X PCR Master Mix III	25 µl	25 µl
Primer Mixture (10 pmole/µl)	2 µl	2 µl
5X Band Helper™	0 µl	5 µl
Add D.W to	50 µl	50 µl

**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.
- 2Kb 이하 gene 증폭시 사용을 권장합니다.
- 추출된 genomic DNA는 장기간 보관이 어려우므로, 추출 후 바로 PCR 하도록 권장합니다.
- PCR을 위한 최소 genomic DNA 추출이므로 전기영동 또는 Nano Drop을 이용한 농도측정에 적합하지 않습니다.
- SLB 시약은 최초 1회 사용 후 상온보관 가능하며, 얼렸다 녹여서 사용할 경우 vortexing하여 사용해 주세요.

## ▶ Tm값 설정

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

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

Expiration Date : -20±5°C 보관 시 1년 6개월



**BIOFACT**  
BIOFACTORY