



Please contact us,  
if you have any question and need help.



T)1670-5695



[www.bio-ft.com](http://www.bio-ft.com)



[info@bio-ft.com](mailto:info@bio-ft.com)

# Quick Guide

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



**HiGene™ Stool Fast DNA Prep Kit**  
**[Column Type]**

구성품 용량

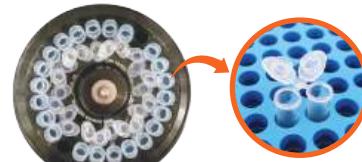
 Table of Contents.

• 제품 구성품	1
• Know-How	2
• DNA Extraction Procedure	3
• Preparation & Protocol	4
• Troubleshooting	8
• 주의사항	9

Contents	GD106-050
Pre-Washing Buffer	55 mL
Lysis Buffer	30 mL
Binding Buffer	65 mL
PPB	15 mL
Washing Buffer(100% Ethanol 첨가하여 사용요망)	16 mL
P3 (Grinding Bead)	50 ea
Help B	15 mL
Pre-Elution Buffer	10 mL
Post-Elution Buffer	35 mL
HiFilter (Yellow)	100 ea (50 ea X 2 bottle)
HiSpin Column (Blue)	50 ea (50 ea X 1 bottle)
Collection Tube	150 ea (50 ea X 3 pack)
2 mL Micro Tube	50 ea (50 ea X 1 pack)
Quick Guide	1ea

### ✓ Know-How for Preparation

1. 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.

2. 200 mg 이하의 샘플로 추출하기를 권장드립니다.

3. Washing Buffer는 실험 시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다.

4. Lysis Buffer는 주변온도가 낮아지면 결정이 생길 수 있습니다.

이런 경우에 전자레인지 또는 Dry oven에서 heating 시켜 녹인 후 사용합니다.

5. Binding Buffer는 15°C 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고 석출이 일어나면

37°C water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선을 피해 보관

(시약 특성상 light yellow(or light pink) color를 띠 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다.)

6. 시료를 Grinding 시킬 때 고강도 또는 장시간 파쇄할 경우 DNA가 degradation될 수 있으므로 주의합니다.

7. 시료의 색소 또는 Elution 후 색소 용출이 심한 경우, Post-Elution Buffer 처리를 추가로 진행합니다. (Step10, 11)

8. Pre-Elution Buffer 사용 전에 column을 공회전하여 EtOH를 완전히 제거합니다.

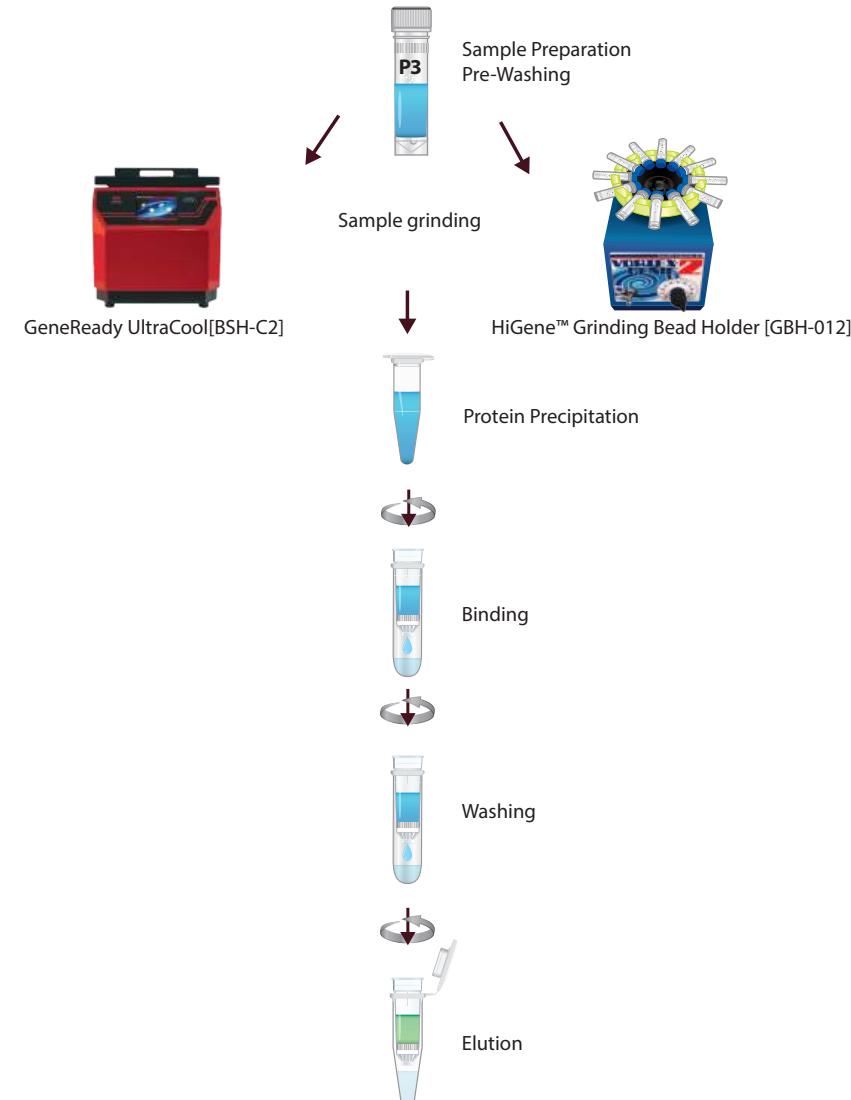
9. DNA elution 시 Pre-Elution Buffer를 50°C에서 10분 정도 pre-heating 시킨 후 elution하면 효율이 높아집니다.

(특히, Large DNA fragment의 경우 효율이 높아집니다.)

10. 유효기간이 지나지 않은 제품을 사용합니다.

11. 기타 문의사항은 (주)바이오텍트 학술마케팅팀 (☎ 1670-5695)로 연락주세요.

### ✓ DNA Extraction Procedure



### ✓ Equipment and Reagent to Be supplied by User

- Vortexer
- 1.5 mL Micro Tube
- Ethanol (96 - 100%)
- Pipette & Tips
- Centrifuge

[GD106-050] HiGene™ Stool Fast DNA Prep Kit [Column Type]

DNA 1 ea 추출 시간: 약 20~25분 이내

## ✓ Preparation.

1. Washing Buffer Bottle에는 반드시 100% Ethanol 64 mL (50 prep 기준)을 넣어 사용합니다.
2. Lysis Buffer 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.  
\* 시약 특성상 Light yellow (or Light pink) color를 띠 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다.
3. Stool 시료 100 ~ 200 mg 용량으로 사용 권장드립니다.
4. Pre-Washing Buffer, Post-Elution Buffer는 사용하기 전, 충분히 훤흔들어서 사용합니다.
5. \* Grinding 조건 (자사 제품 기준)

GeneReady (Grinding Machine) 6.4 m/s 40 sec 권장

Genie2 (Vortex Bead Beater) 최대속도 (3,200 rpm)로 10 min 권장

\* 보유중인 장비와 Stool 종류에 따라 적정 조건이 달라질 수 있습니다.

## ✓ Protocol.

### Cell Lysis

- 1 : P3 tube에 Sample (100 ~ 200 mg) + **Pre-Washing Buffer** 1 mL 첨가 → Vortex (10 ~ 15 sec)  
→ cfg. (13,000 rpm, 1 min) → 상층액 제거
- 2 : **Lysis Buffer** 500 μL 첨가 + Grinding \* 진행
- 3 : **PPB** 250 μL 첨가 → Vortex (10 ~ 15 sec) → cfg. (13,000 rpm, 3 min) 진행
- 4 : HiFilter를 2 mL Micro tube에 장착한 후, Step 3의 상층액 400 μL 첨가  
→ cfg. (13,000 rpm, 30 sec) 진행 → 내려온 Solution에 **Binding Buffer** 1.2 mL 첨가 → Vortex (10 ~ 15 sec)

### Column Preparation

- 5 : HiSpin column을 Collection tube에 장착  
→ **Help B Buffer** 200 μL 첨가 → cfg. (13,000 rpm, 30 sec) → 내려온 Solution 제거  
→ HiSpin column을 다시 collection tube에 장착

### Column Binding

- 6 : Step 4의 반응액 중 750 μL을 HiSpin column에 첨가 → cfg. (7,000 rpm, 1 min)  
→ 내려온 Solution을 제거 → HiSpin column을 Collection tube에 다시 장착 (2회 반복)

### Column Washing & Dry

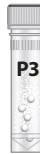
- 7 : HiSpin column에 **Washing Buffer** 500 μL 첨가 후 cfg. (13,000 rpm, 30 sec) → 내려온 Solution 제거  
→ HiSpin column 다시 장착 (2회 반복)
- 8 : cfg. (13,000 rpm, 3 min – **공회전 \*\***) → Collection tube 제거  
HiSpin column을 새로운 1.5 mL Micro tube에 장착  
※ **공회전 \*\*** : Washing Buffer를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 HiSpin column을 원심분리 수행

### DNA Elution

- 9 : Step 8의 HiSpin column에 **Pre-Elution Buffer** 100 μL 첨가 → Incubation (상온, 1 min)  
cfg. (13,000 rpm, 1 min) → HiSpin column 제거
- 10 : New HiFilter에 **Post-Elution Buffer** 600 μL 첨가 → cfg. (13,000 rpm, 3 min) 진행  
→ 내려온 Solution 제거하고 HiFilter를 새로운 1.5 mL Micro tube에 장착
- 11 : Step 9의 eluted DNA 100 μL를 HiFilter column에 첨가 → cfg. (13,000 rpm, 3 min) 진행 → HiFilter column 제거  
→ Agarose gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

 **Work Flow**
**Step 1**

Sample (100 ~ 200 mg)  
 + Pre-Washing Buffer 1 mL  
 → Vortex (10~15 sec) → cfg. \*(13,000 rpm, 1 min)  
 → 상층액 제거

**Step 2**

+ Lysis Buffer 500 μL



or

**Step 3**

+ PPB 250 μL → Vortex (10~15 sec)  
 → cfg. \*(13,000 rpm, 3 min)

**Step 4**

HiFilter을 2 mL Micro tube 장착  
 Step 3. 상층액 400 μL 첨가  
 → cfg. \*(13,000 rpm, 30 sec)



내려온 Solution  
 + Binding Buffer 1.2 mL  
 → Vortex (10~15 sec)

**Step 8**

cfg. \*(13,000 rpm, 3 min - 공회전\*\*)



HiSpin column을 새로운 1.5 mL Micro tube에 장착

**Step 9**

+ Pre-Elution Buffer 100 μL  
 → Incubation (상온, 1 min)



cfg. \*(13,000 rpm, 1 min)  
 HiSpin column 제거



1차 eluted DNA  
 : Step11에서 Binding 예정

**Step 5**

HiSpin column을 Collection tube 장착  
 + Help B 200 μL



cfg. \*(13,000 rpm, 30 sec)  
 내려온 Solution을 제거하고  
 HiSpin column과  
 Collection tube 다시 장착

**Step 6**

Step 4. 반응액 중 750 μL을  
 HiSpin column에 첨가



cfg. \*(7,000 rpm, 1 min)  
 내려온 Solution 제거 (2회 반복)

**Step 10**

New HiFilter를 collection tube에 장착 후  
 Post-Elution Buffer 600 μL 첨가  
 → cfg. \*(13,000 rpm, 3 min)  
 → 내려온 Solution 제거

**Step 7**

+ Washing Buffer 500 μL



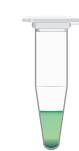
cfg. \*(13,000 rpm, 30 sec)  
 내려간 Solution 제거 (2회 반복)

**Step 11**

HiFilter column을  
 새로운 1.5 mL Micro tube에 장착  
 Step 9의 eluted DNA를  
 HiFilter column에 첨가



최종 DNA Elution  
 cfg. \*(13,000 rpm, 3 min)



\*cfg.: 원심분리

\*\*공회전: Column에 아무것도 넣지 않고 원심분리(EtOH제거)

 Troubleshooting

Trouble	Check List
	<p><b>01. Sample 보관 온도를 확인하셨나요?</b> Stool sample은 채취 후 바로 사용하셔야 하며, 더 오래 보관하셔야 한다면 -30°C ~ -15°C 온도를 권장드립니다.</p>
	<p><b>02. Homogenization이 충분하지 않은가요?</b> 새로운 샘플로 처음부터 다시 수행하도록 합니다. Lysis Buffer와 샘플이 충분히 균질화 되도록 훈합한 후, bead beating을 진행할 것을 권장드립니다.</p>
Low Yield DNA	<p><b>03. Binding Buffer 첨가 후 오랜 시간 방치 하셨나요?</b> Binding Buffer 첨가 후, 오랜 시간 방치되면 DNA 추출 효율이 떨어질 수 있습니다. Binding Buffer 첨가 후 5 min 이내에 실험하실 것을 권장합니다.</p> <p><b>04. Column 사용 전 Help B Buffer 처리를 하셨나요?</b> Help B Buffer는 column에 DNA가 좀 더 잘 결합될 수 있도록 도와주는 Buffer입니다. 간단한 step으로 정제효율을 높이실 수 있습니다.</p>
Low Quality DNA	<p><b>01. A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> ratio가 너무 낮은가요?</b> 너무 많은 샘플 또는 너무 적은 샘플을 사용할 경우, DNA 추출 효율과 순도가 떨어질 수 있습니다. &lt;200 mg 이하로 샘플을 사용하실 것을 권장드립니다. 또한, 해당 제품은 Stool 샘플에 존재하는 다양한 유기체 (인간, 동물, 식물, 박테리아 등)에서 유래할 수 있는 total DNA를 정제하는 제품이므로, 과도한 양의 DNA를 사용하여 PCR할 경우 PCR이 저해될 수 있으므로 DNA 양을 줄여서 사용하도록 합니다.</p> <p><b>02. A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> ratio가 너무 높은가요?</b> Elution된 DNA에 RNA가 과량 존재할 경우, RNase A(0.04~0.4 mg/ml) 1 μl 첨가하고, 상온(15 ~ 20°C)에서 10 min 방치하도록 합니다.</p>

 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.



(주)바이오팩트

본사/공장 : 대전광역시 유성구 테크노8로 70