



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.



HiGene™ Stool Fast DNA Prep Kit [Column Type]

✓ Table of Contents.

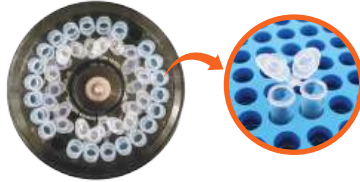
• 제품 구성품	1
• Know-How	2
• DNA Extraction Procedure	3
• Preparation & Protocol	4
• Troubleshooting	8
• 주의사항	9

✓ 구성품 용량

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	1매

✓ Know-How for Preparation

1. Column Type Kit를 이용하여 추출할 경우 elution 시 tube의 cap이 깨지지 않도록 하는 방법



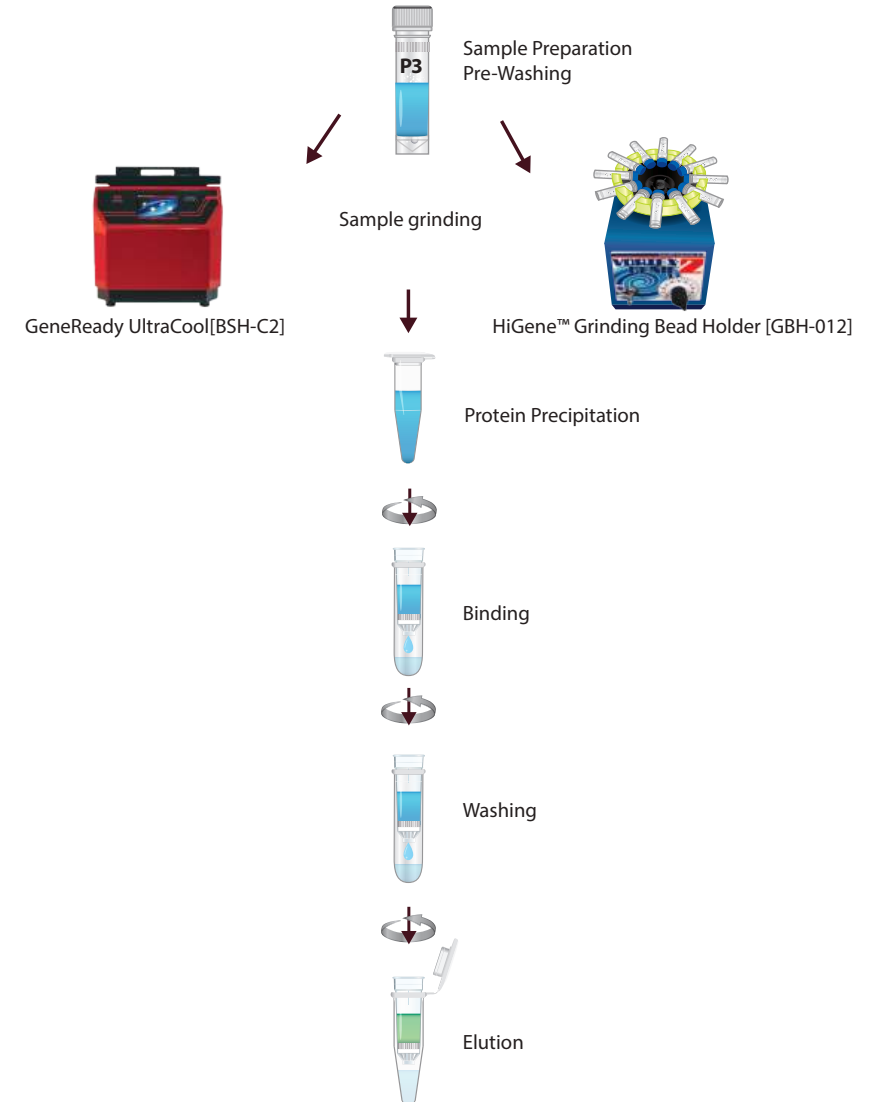
* Centrifuge 시 1.5 ml tube cap을 교차하여 꽂아주시면 cap이 깨지는 것을 최소화 할 수 있습니다.

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℃ 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고 석출이 일어나면 37℃ water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선을 피해 보관
(시약 특성상 light yellow(or light pink) color를 띌 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℃에서 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)바이오팩트 학술마케팅팀 ☎ 1670-5695)로 연락주세요.

✓ Equipment and Reagent to Be supplied by User

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

✓ DNA Extraction Procedure



[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 띌 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 흔들어서 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 3.의 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 tube 에 장착
 → **Help B Buffer** 200 µL 첨가 → cfg. (13,000 rpm, 30 sec) → 내려온 Solution 제거
 → HiSpin column 을 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 8.의 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




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. *(13,000rpm, 30 sec)

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

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 7  + **Washing Buffer** 500 µL

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


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
: Step 11에서 Binding 예정

Step 10  New HiFilter를 collection tube에 장착 후
Post-Elution Buffer 600 µL 첨가
→ cfg. *(13,000rpm, 3 min)
→ 내려온 Solution 제거

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 넣지않고 원심분리(EtOH-제거)

☑ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	01. Sample 보관 온도를 확인하셨나요? Stool sample은 채취 후 바로 사용하셔야 하며, 더 오래 보관하셔야 한다면 -30°C ~ -15°C 온도를 권장드립니다.
	02. Homogenization이 충분하지 않은가요? 새로운 샘플로 처음부터 다시 수행하도록 합니다. Lysis Buffer와 샘플이 충분히 균질화 되도록 혼합한 후, bead beating을 진행할 것을 권장드립니다.
	03. Binding Buffer 첨가 후 오랜 시간 방치 하셨나요? Binding Buffer 첨가 후, 오랜 시간 방치되면 DNA 추출효율이 떨어질 수 있습니다. Binding Buffer 첨가 후 5 min 이내에 실험하실 것을 권장합니다.
	04. Column 사용 전 Help B Buffer 처리를 하셨나요? Help B Buffer는 column에 DNA가 좀 더 잘 결합될 수 있도록 도와주는 Buffer입니다. 간단한 step으로 정제효율을 높이실 수 있습니다.
Low Quality DNA	01. A₂₆₀/A₂₈₀ ratio가 너무 낮은가요? 너무 많은 샘플 또는 너무 적은 샘플을 사용할 경우, DNA 추출 효율과 순도가 떨어질 수 있습니다. < 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 DNA양을 줄여서 사용하도록 합니다.
	02. A₂₆₀/A₂₈₀ ratio가 너무 높은가요? 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.

☑ 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 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.
- 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.



(주)바이오팩트
본사/공장 : 대전광역시 유성구 테크노8로 70