



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.



Genomic DNA Prep Kit [Column Type]

Genomic DNA Prep Kit Column Type

[Cat. No. GD141-050, GD141-100, GD142-050, GD142-100]

MEMO

 Table of Contents.

• 제품 구성품	-----	1
• Know-How	-----	2
• Genomic DNA Preparation for Animal Tissue	-----	3
• Genomic DNA Preparation for Plant Tissue	-----	5
• Genomic DNA Preparation for Blood	-----	7
• Genomic DNA Preparation for Gram(+) Bacterium	-----	9
• Genomic DNA Preparation for Gram(-) Bacterium	-----	11
• Genomic DNA Preparation for Fungus	-----	13
• Genomic DNA Preparation for Oral Epithelial Cells	-----	15
• Genomic DNA Preparation for Yeast	-----	17
• Troubleshooting	-----	19
• 주의사항	-----	20

Genomic DNA Prep Kit Column Type

[Cat. No. GD141-050, GD141-100, GD142-050, GD142-100]

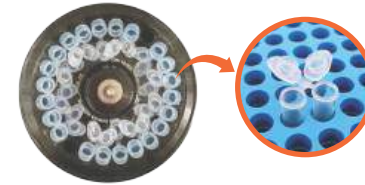
☑ 구성품 용량 (mL)

Contents	GD141-050	GD141-100	GD142-050	GD142-100
GD 1	25 mL	50 mL	-	-
GD 2	24 mL	48 mL	-	-
PPB	15 mL	30 mL	-	-
GB	15 mL	30 mL	-	-
SGD1	-	-	20 mL	40 mL
SGD2	-	-	25 mL	50 mL
H1	-	-	10 mL	20 mL
DNA Hydration Solution	10 mL	20 mL	10 mL	20 mL
Help B	25 mL	50 mL	25 mL	50 mL
WB Bottle	1 ea	1 ea	1 ea	1 ea
Proteinase K	2 ea (20 mg/mL)	4 ea (20 mg/mL)	1 ea (10 mg/mL)	2 ea (20 mg/mL)
Lysozyme (100 mg/mL)	1 ea	2 ea	-	-
RNase A (4 mg/mL)	1 ea	1 ea	-	-
Lyticase (2.5 Unit/μL)	-	-	1 ea	2 ea
Lyticase Suspension Solution	-	-	1 mL	1 mL
Spin Column	50 ea/bottle	50 ea x 2ea	50 ea/bottle	50 ea x 2ea
Collection Tube	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea
Quick Guide	1 매	1 매	1 매	1 매

※ GD142-050, GD142-100은 Yeast 전용 제품입니다.

☑ 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. 적정량의 Fresh한 sample로 추출하기를 권장드립니다.

3. Washing Buffer(80% EtOH)는 실험시작 전 fresh하게 만들어서 사용하기 바랍니다.

4. Sample 손상을 줄이기 위해 저온에서 Grinding 한 후 실험을 진행하시는 것이 좋습니다.
(아래 예시 참조)



액체 질소를 이용하여 막자사발에서 Grinding 저온 Grinding이 가능한 GeneReady Ultracool

5. DNA Hydration Solution 사용전에 column을 공회전하여 EtOH을 충분히 제거합니다.

6. Kit안의 Enzyme은 D.W(Buffer)로 녹인 후 -20°C에 보관합니다.

7. 유효기한이 지나지 않은 제품을 사용합니다.

8. 개봉한 지 오래된 Column은 실험전 Help B Buffer를 이용하여 washing 합니다.

9. 시료를 Lysis 시킬 때 vortexing을 강하게 할 경우 DNA가 degradation될 수 있으므로 주의합니다.

10. GD1은 주변 온도가 낮아지면 SDS로 인해 결정이 생길 수 있습니다. 이런 경우에는 전자렌지 또는 Dry oven에서 heating시켜 녹인 후 사용합니다.

11. DNA elution 시 DNA Hydration Solution을 50°C에서 10분정도 pre-heating 시킨 후 elution하면 효율이 높아집니다. (특히, Large DNA fragment의 경우)

12. 기타 High yield를 위한 Know-How는 카달로그의 Q.C data page를 참고하세요.

Genomic DNA Prep Kit for Animal Tissue

[Cat. No. GD141-050, GD141-100]

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. freezing dry 상태의 Enzyme에 D.W를 넣어 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C 에 보관사용
3. GB 시약은 15°C 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고 석출이 일어나면 37°C water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선을 피해 보관
(GB 시약은 특성상 light yellow(or light pink) color를 띌 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다.)
4. Sample
 - Animal Tissue는 최소 10 mg에서 최대 80 mg을 사용
 - 적당한 용기에서 Liquid nitrogen으로 Fresh-Freeze tissues를 최대한 곱게 갈아주며, DNase 활성에 의한 DNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 다음 작업 수행
 - cultured cells은 10^6 cells 을 harvest 하여 사용

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Sample (10 mg ~ 80 mg) + GD1 200 μ l
Proteinase K (20 mg/ml) 5 μ l + RNase A (4 mg/ml) 2 μ l 혼합
→ Vortex (1 min) → Incubation (56°C, 10 min)
- 2 : GD2 200 μ l 첨가 → Vortex (10 sec) → Incubation (70°C, 10 min) → cfg (13,000 rpm, 5 min)
- 3 : 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube에 옮긴 후 GB 200 μ l 첨가, 10 ~ 20 회 inverting

Column Binding

- 4 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
Help B Buffer 200 μ l 첨가 → cfg (10,000 rpm, 30 sec)
- 5 : Step 3의 상층액 모두 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution은 Collection tube와 함께 제거
Spin column을 새로운 2 ml Collection tube에 장착

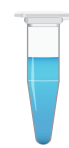
Column Washing

- 6 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 7 : cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전* : WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin column을 원심분리 수행

DNA Elution

- 8 : DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (13,000 rpm, 2 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

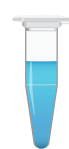
Step 1



Animal Tissue (10 mg ~ 80 mg)
+ GD1 200 μ l
+ Proteinase K (20 mg/ml) 5 μ l
+ RNase A (4 mg/ml) 2 μ l

Vortex (1 min)
Incubation (56°C, 10 min)

Step 2



+ GD2 200 μ l
Vortex (10 sec)
Incubation (70°C, 10 min)

cfg* (13,000 rpm, 5 min)
상층액을 새로운 tube에 옮김

Step 3



+ GB 200 μ l
Inverting (x 10 ~ 20회)

Spin column을
2 ml Collection tube에 장착

Step 4



+ Help B 200 μ l
cfg* (10,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution을 제거하고
Spin column과 collection tube 다시 장착

Step 5



+ 용액 모두 (Step 3)첨가

cfg* (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution, Collection tube 제거
새로운 2 ml Collection tube에 장착

Step 6



+ WB 500 μ l

2회 반복



cfg* (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거

Step 7



cfg* (13,000 rpm, 3 min - 공회전**)



Spin column을 새로운
1.5 ml Micro tube에 장착

Step 8



+ DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μ l

Incubation (상온, 1 min)



cfg* (13,000 rpm, 2 min)



DNA Elution

*cfg: 원심분리

**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Genomic DNA Prep Kit for Plant Tissue

[Cat. No. GD141-050, GD141-100]

✓ Preparation.

- WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
- freezing dry 상태의 Enzyme에 D.W를 넣어 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C 에 보관사용
- GB 시약은 15°C 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고 석출이 일어나면 37°C water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선을 피해 보관
(GB 시약은 특성상 light yellow(or light pink) color를 띌 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다)

4. Sample

- Plant Tissue는 최소 10 mg에서 최대 80 mg을 사용 (쌀 시료의 경우 1립 사용)
- 적당한 용기에서 Liquid nitrogen으로 Fresh-Freeze tissues를 최대한 곱게 갈아주며, DNase 활성에 의한 DNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 다음 작업 수행
- 쌀 시료를 prep 시 쌀 1립을 유산지에 올려놓고, 6번 겹치게 접은후 망치를 이용하거나 파쇄기를 이용하여 파쇄

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Sample (10 mg ~ 80 mg, 쌀 1립) + GD1 350 μ l (※ 찹쌀의 경우 GD1 450 μ l 첨가)
Proteinase K (20 mg/ml) 5 μ l + RNase A (4 mg/ml) 2 μ l 혼합
→ Vortex (1 min) → Incubation (65°C, 10 min)
- 2 : PPB 100 μ l 첨가 → Vortex (10 sec) → cfg (13,000 rpm, 5 min)
- 3 : 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube에 옮긴 후 GB 200 μ l 첨가, 10 ~ 20 회 inverting

Column Binding

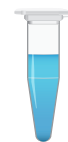
- 4 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
Help B Buffer 200 μ l 첨가 → cfg (10,000 rpm, 30 sec)
- 5 : Step 3의 상층액 모두 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution은 Collection tube와 함께 제거
Spin column을 새로운 2 ml Collection tube에 장착

Column Washing

- 6 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 7 : cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전*: WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

DNA Elution

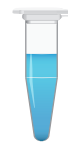
- 8 : DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (13,000 rpm, 2 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



Plant Tissue (10 ~ 80 mg), 쌀 1립
+ GD1 350 μ l (찹쌀은 450 μ l)
+ Proteinase K (20 mg/ml) 5 μ l
+ RNase A (4 mg/ml) 2 μ l



Vortex (1 min)
Incubation (65°C, 10 min)

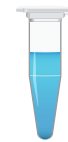


+ PPB 100 μ l
Vortex (10 sec)



cfg* (13,000 rpm, 5 min)
상층액을 새로운 tube에 옮김

Step 3



+ GB 200 μ l
Inverting (x 10~20회)



Spin column을
2 ml Collection tube에 장착

Step 4



+ Help B 200 μ l



cfg* (10,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution을 제거하고
Spin column과 collection tube 다시 장착

Step 5



+ 용액 모두 (Step 3)첨가



cfg* (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution, Collection tube제거
새로운 2 ml Collection tube에 장착

Step 6



+ WB 500 μ l

2회 반복



cfg* (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution제거

Step 7



cfg* (13,000 rpm, 3 min - 공회전**)

Step 8



Spin column을 새로운
1.5 ml Micro tube에 장착

+ DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μ l

Incubation (상온, 1 min)



cfg* (13,000 rpm, 2 min)



DNA Elution

*cfg: 원심분리

**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Genomic DNA Prep Kit for Blood

[Cat. No. GD141-050, GD141-100]

✓ Preparation.

- WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
- freezing dry 상태의 Enzyme에 D.W를 넣어 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C 에 보관사용
- GB 시약은 15°C 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고 석출이 일어나면 37°C water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선을 피해 보관
(GB 시약은 특성상 light yellow(or light pink) color를 띌 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다.)
- Sample
 - Fresh하게 채취한 Blood 200 μ l ~ 400 μ l 사용

✓ Protocol.

Cell Lysis

- Whole Blood 200 μ l + GD2 400 μ l
Proteinase K (20 mg/ml) 20 μ l 혼합
→ Vortex (1 min) → Incubation (56°C, 10 min)
- GB 200 μ l 첨가 → 10 ~ 20 회 inverting

Column Binding

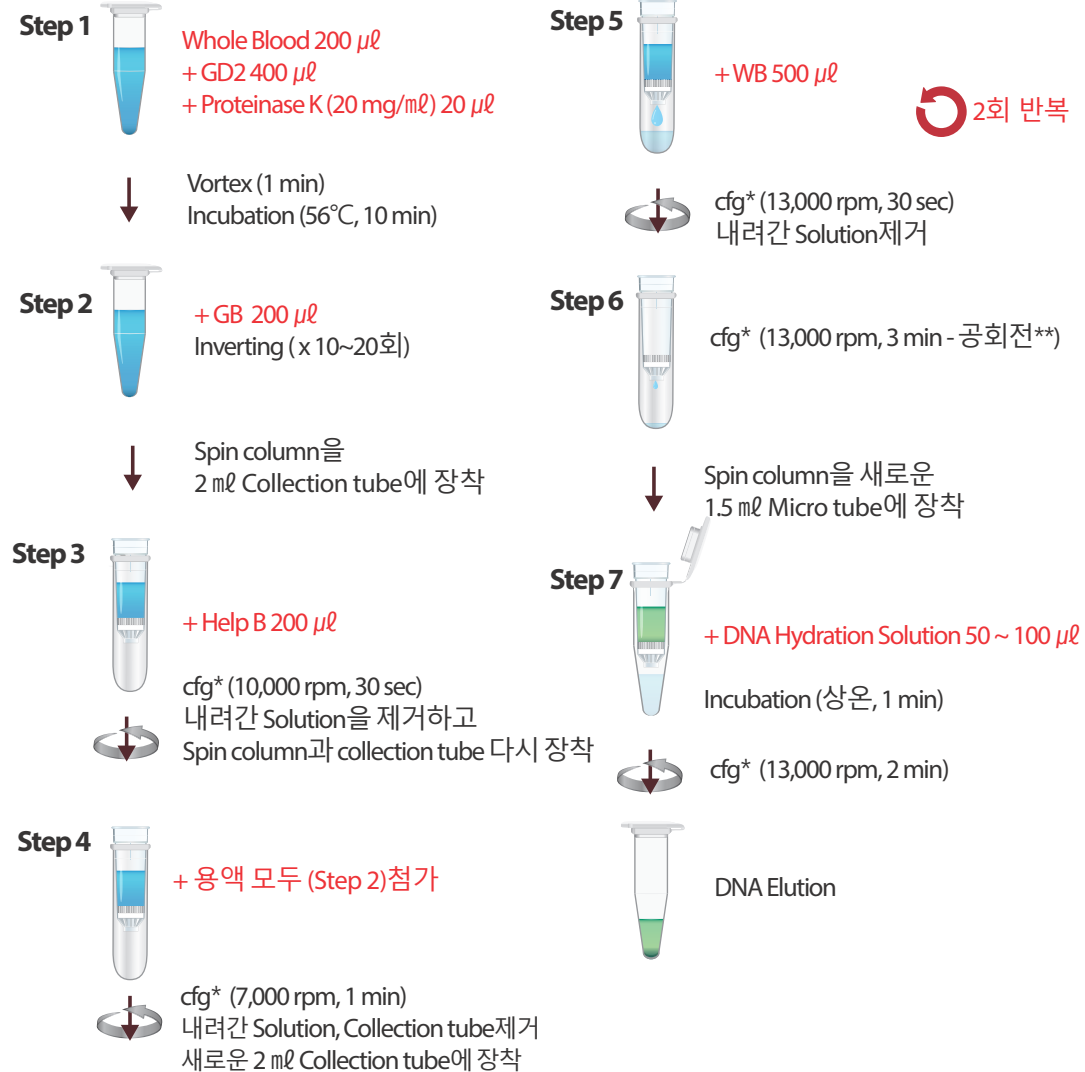
- Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
Help B Buffer 200 μ l 첨가 → cfg (10,000 rpm, 30 sec)
- Step 2의 상층액 모두 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution은 Collection tube와 함께 제거
Spin column을 새로운 2 ml Collection tube에 장착

Column Washing

- Spin column에 WB (80% Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전*: WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

DNA Elution

- DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (13,000 rpm, 2 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



*cfg: 원심분리

**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Genomic DNA Prep Kit for Gram(+) Bacterium

[Cat. No. GD141-050, GD141-100]

✓ Preparation.

- WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
- freezing dry 상태의 Enzyme에 D.W를 넣어 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C 에 보관사용
- GB 시약은 15°C 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고 석출이 일어나면 37°C water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선을 피해 보관
(GB 시약은 특성상 light yellow(or light pink) color를 띌 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다.)
- Sample
 - 16시간 이상 배양된 Bacteria cell (1×10^8)을 500 μl 씩 1.5 ml Micro tube에 넣고 상온에서 10,000 rpm, 1 min동안 원심분리 후 media를 제거하여 사용 (-70°C 보관)

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Bacteria Cells (1×10^8) + GD1 200 μl
Lysozyme (100 mg/ml) 2 μl 혼합
→ Vortex (1 min) → Incubation (37°C, 30 min)
- 2 : GD2 200 μl 첨가 → Proteinase K (20 mg/ml) 5 μl + RNase A (4 mg/ml) 2 μl 혼합
→ Vortex (10 sec) → Incubation (56°C, 30 min)
→ Incubation (70°C, 10 min) → cfg (13,000 rpm, 5 min)
- 3 : 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube에 옮긴 후 GB 200 μl 첨가, 10~20 회 inverting

Column Binding


- 4 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
Help B Buffer 200 μl 첨가 → cfg (10,000 rpm, 30 sec)
- 5 : Step 3의 상층액 모두 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution은 Collection tube와 함께 제거
Spin column을 새로운 2 ml Collection tube에 장착

Column Washing


- 6 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 500 μl 첨가 후 cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 7 : cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전* : WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

DNA Elution


- 8 : DNA Hydration Solution 50~100 μl 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (13,000 rpm, 2 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

Step 1  Bacteria Cells (1×10^8)
+ GD1 200 μl
+ Lysozyme (100 mg/ml) 2 μl

Vortex (1 min)
Incubation (37°C, 30 min)

Step 2  + GD2 200 μl
+ Proteinase K (20 mg/ml) 5 μl
+ RNase A (4 mg/ml) 2 μl

Vortex (10 sec)
Incubation (56°C, 30 min)
Incubation (70°C, 10 min)


 cfg* (13,000 rpm, 5 min)
상층액을 새로운 tube에 옮김


Step 3  + GB 200 μl
Inverting (x 10~20회)

 Spin column을
2 ml Collection tube에 장착

Step 4  + Help B 200 μl


cfg* (10,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution을 제거하고
Spin column과 collection tube 다시 장착

Step 5  + 용액 모두 (Step 3)첨가

 cfg* (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution, Collection tube 제거
새로운 2 ml Collection tube에 장착

Step 6  + WB 500 μl

 2회 반복

 cfg* (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거

Step 7  cfg* (13,000 rpm, 3 min - 공회전**)

 Spin column을 새로운
1.5 ml Micro tube에 장착

Step 8  + DNA Hydration Solution 50~100 μl

Incubation (상온, 1 min)

 cfg* (13,000 rpm, 2 min)

 DNA Elution

* cfg: 원심분리
** 공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Genomic DNA Prep Kit for Gram(-) Bacterium

[Cat. No. GD141-050, GD141-100]

✓ Preparation.

- WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
- freezing dry 상태의 Enzyme에 D.W를 넣어 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C 에 보관사용
- GB 시약은 15°C 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고 석출이 일어나면 37°C water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선을 피해 보관
(GB 시약은 특성상 light yellow(or light pink) color를 띌 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다.)
- Sample
 - 16시간 이상 배양된 Bacteria cell (1 x 10⁸)을 500 μℓ씩 1.5 ml Micro tube에 넣고 상온에서 10,000 rpm, 1 min 동안 원심분리 후 media를 제거하여 사용 (-70°C 보관)

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Bacteria Cells (1 x 10⁸) + GD1 200 μℓ
Proteinase K (20 mg/ml) 5 μℓ + RNase A (4 mg/ml) 2 μℓ 혼합
→ Vortex (1 min) → Incubation (56°C, 10 min)
- 2 : GD2 200 μℓ 첨가 → Vortex (10 sec) → Incubation (70°C, 10 min) → cfg (13,000 rpm, 5 min)
- 3 : 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube에 옮긴 후 GB 200 μℓ 첨가, 10 ~ 20 회 inverting

Column Binding

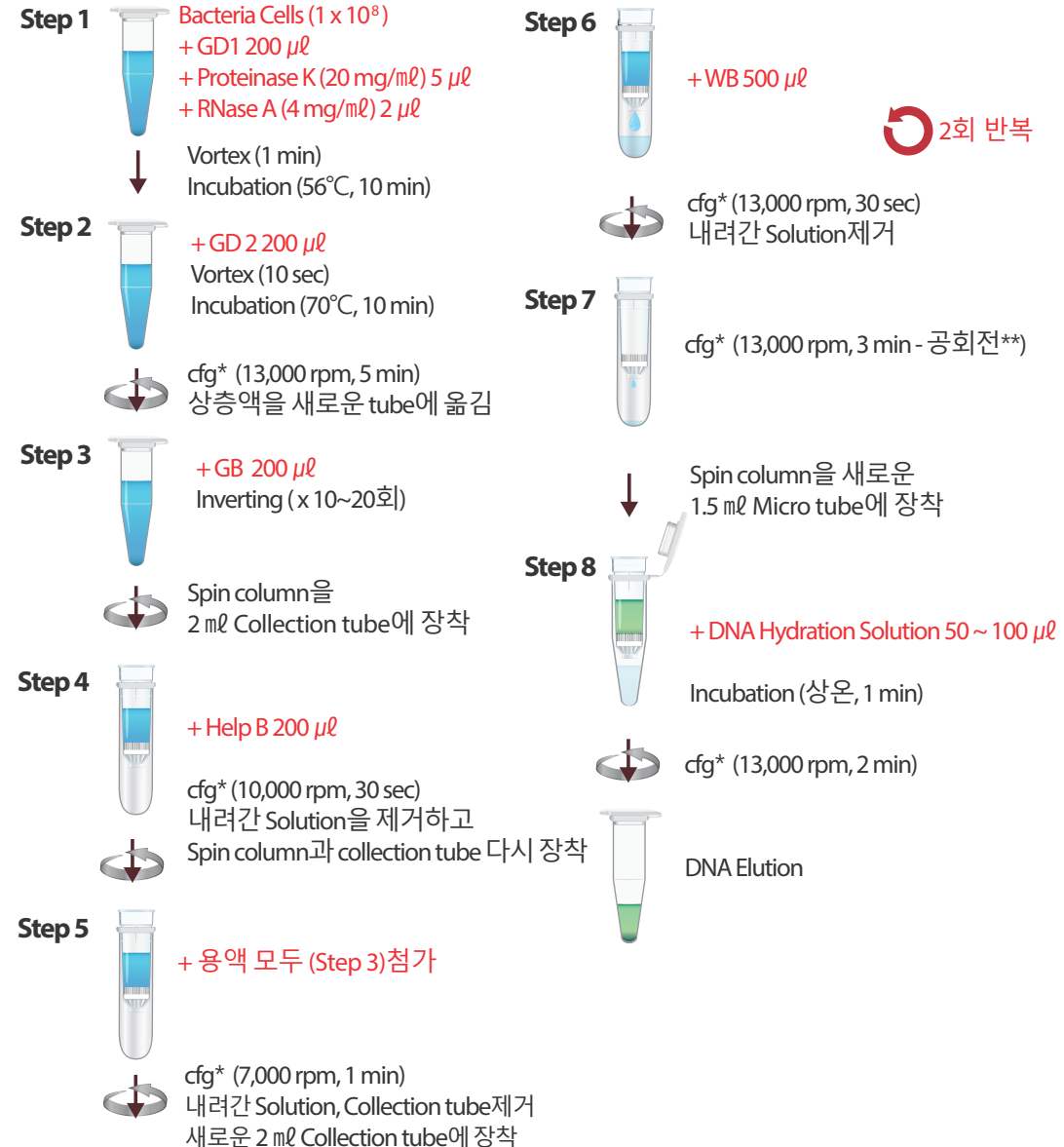
- 4 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
Help B Buffer 200 μℓ 첨가 → cfg (10,000 rpm, 30 sec)
- 5 : Step 3의 상층액 모두 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution은 Collection tube와 함께 제거
Spin column을 새로운 2 ml Collection tube에 장착

Column Washing

- 6 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 500 μℓ 첨가 후 cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 7 : cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전* : WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

DNA Elution

- 8 : DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μℓ 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (13,000 rpm, 2 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



* cfg: 원심분리

**공회전 : Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Genomic DNA Prep Kit for Fungus

[Cat. No. GD141-050, GD141-100]

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. freezing dry 상태의 Enzyme에 D.W를 넣어 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C 에 보관사용
3. GB 시약은 15°C 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고 석출이 일어나면 37°C water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선을 피해 보관
(GB 시약은 특성상 light yellow(or light pink) color를 띌 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다.)
4. Sample
 - Fungi는 액체 배지로 배양된 샘플을 사용하고, plate에 오래 보관된 cells은 D.W를 첨가한 후 강하게 vortex하여 사용

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Sample (Cell Pellet) + GD1 200 μ l
Proteinase K (20 mg/ml) 5 μ l 혼합
→ Vortex (1 min) → Incubation (65°C, 10 min)
- 2 : GD2 200 μ l 첨가 → Vortex (10 sec) → cfg (13,000 rpm, 5 min)
- 3 : 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube에 옮긴 후 GB 200 μ l 첨가, 10 ~ 20 회 inverting

Column Binding

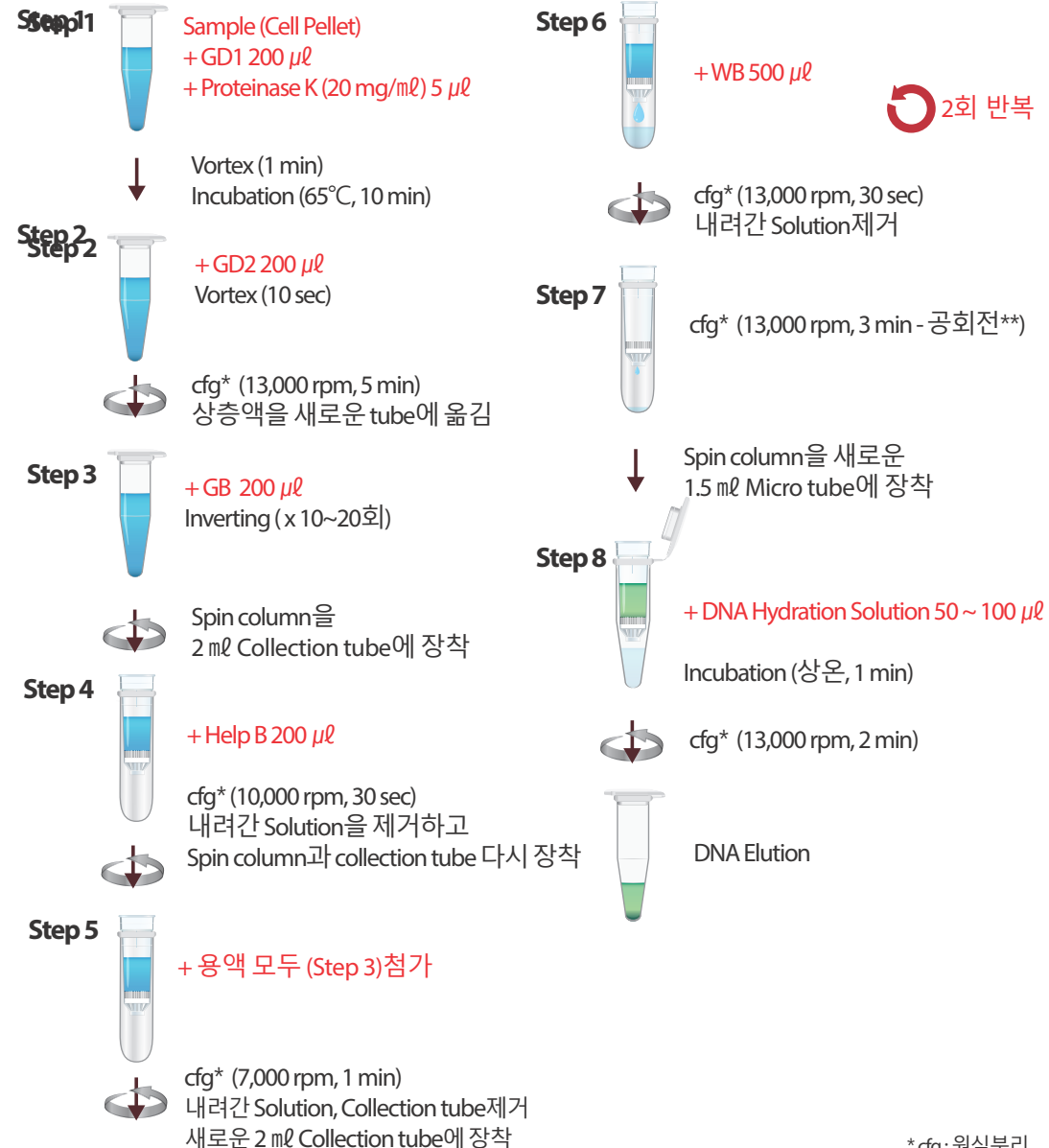
- 4 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
Help B Buffer 200 μ l 첨가 → cfg (10,000 rpm, 30 sec)
- 5 : Step 3의 상층액 모두 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution은 Collection tube와 함께 제거
Spin column을 새로운 2 ml Collection tube에 장착

Column Washing

- 5 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 6 : cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전* : WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

DNA Elution

- 7 : DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (13,000 rpm, 2 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



* cfg: 원심분리

**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Genomic DNA Prep Kit for Oral Epithelial Cells

[Cat. No. GD141-050, GD141-100]

✓ Preparation.

- WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
- freezing dry 상태의 Enzyme에 D.W를 넣어 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C 에 보관사용
- GB 시약은 15°C 이하에서는 석출이 일어날 수 있으므로 사용 전에 확인하시고 석출이 일어나면 37°C water bath에 넣어 완전히 녹인 후 사용, 직사광선을 피해 보관
(GB 시약은 특성상 light yellow(or light pink) color를 띌 수 있으나, 효율에 영향을 미치지 않습니다.)

4. 샘플 채취 방법

• Isohelix Swab 사용 시

- 깨끗한 물로 입안을 2회 가글한다. (양치질은 권장하지 않음)
- 입 안(볼 안쪽)을 Isohelix swab을 이용하여 5회 이상 긁어준다.
- Isohelix swab head를 shaft로부터 분리하여 tube 안에 넣어준다.



• Medical Brush 사용 시

- 깨끗한 물로 입안을 2회 가글한다. (양치질은 권장하지 않음)
- 입 안(볼 안쪽)을 Medical brush을 이용하여 10회 이상 긁어준다.
- Cutter를 이용하여 Medical brush의 막대부분을 잘라 tube안에 넣어준다.

✓ Protocol.

Cell Lysis

- Swab head (또는 Brush) 가 들어있는 tube에 GD1 450 μ l 첨가 → Vortex (1 min)
- 구강상피 세포가 침전되지 않도록 vortex 후 solution을 1.5 ml micro tube에 바로 옮긴다.
- Isohelix Swab, Medical Brush, 기타 Swab 또는 Brush 모두 동일한 방법으로 진행
- Proteinase K (20 mg/ml) 5 μ l + RNase A (4 mg/ml) 2 μ l 혼합
→ Vortex (1 min) → Incubation (56°C, 10 min)
- GD2 200 μ l 첨가 → Vortex (10 sec) → Incubation (70°C, 10 min) → cfg (13,000 rpm, 5 min)
- 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube에 옮긴 후 GB 200 μ l 첨가, 10~20 회 inverting

Column Binding

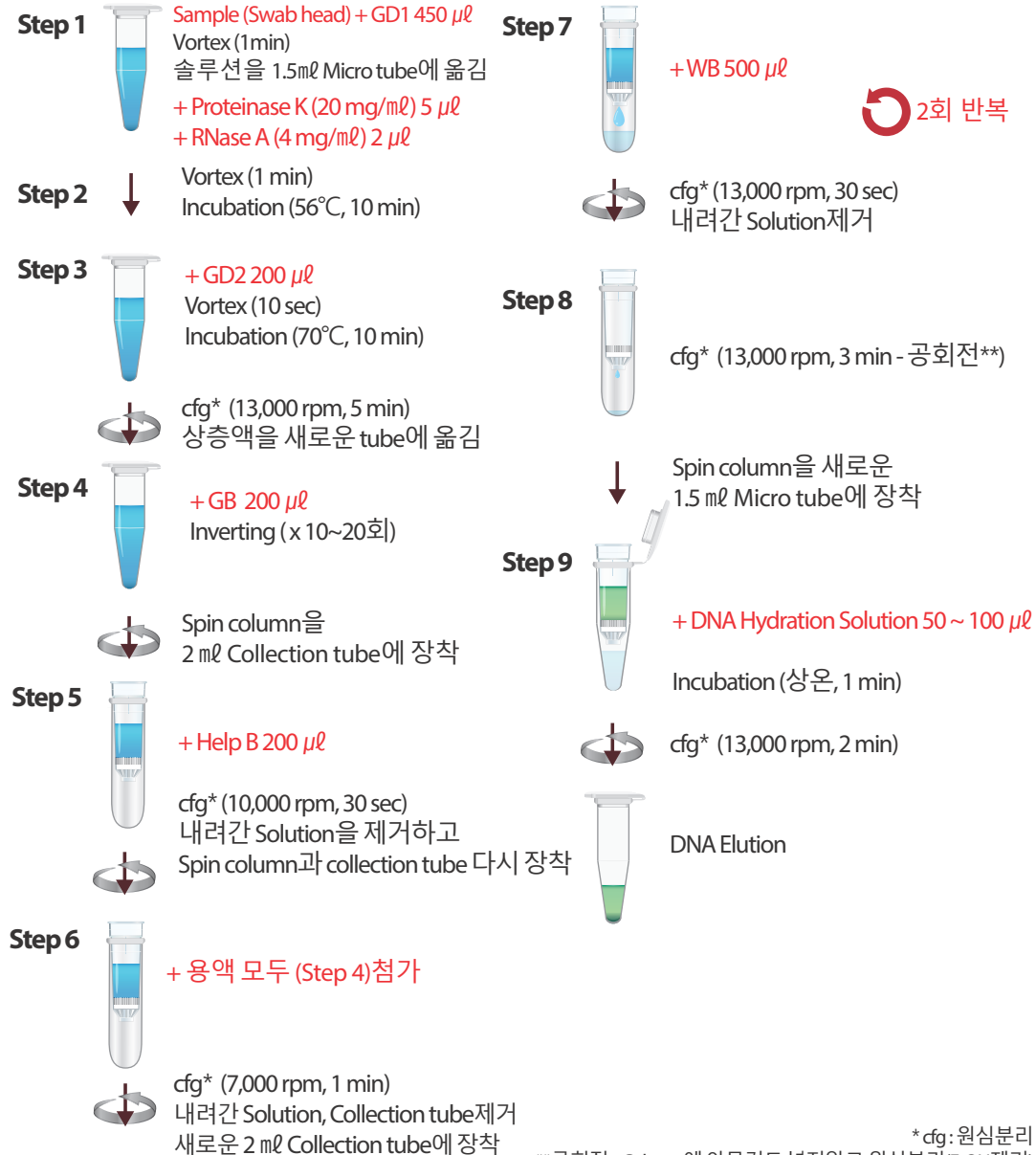
- Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
Help B Buffer 200 μ l 첨가 → cfg (10,000 rpm, 30 sec)
- Step 4의 상층액 모두 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution은 Collection tube와 함께 제거
Spin column을 새로운 2 ml Collection tube에 장착

Column Washing

- Spin column에 WB (80% Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전*: WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

DNA Elution

- DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (13,000 rpm, 2 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



* cfg: 원심분리

**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Genomic DNA Prep Kit for Yeast

[Cat. No. GD142-050, GD142-100]

✓ Preparation.

- WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
- Kit에 포함된 Lyticase (Dry 상태)에 Lyticase Suspension Solution를 넣어 2.5 unit/ μ l의 농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C에 보관사용
- Kit에 포함된 Proteinase K (Dry 상태)에 D.W를 넣어 final 10 mg/ml의 농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C에 보관사용
- Sample
 - 16시간 이상 배양된 Yeast (1×10^7)을 500 μ l씩 1.5 ml Micro tube에 넣고 상온에서 10,000 rpm, 1 min동안 원심분리 후 media를 제거하여 사용 (-70°C 보관)

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1: Sample (Cell Pellet) + H1 100 μ l + Lyticase (2.5 unit/ μ l) 1 μ l 첨가
Vortex (10 sec) → Incubation (37°C, 15 min)
cfg (1,300 rpm, 5 min) → 상층액 제거
- 2: SGD1 350 μ l 첨가 → Pipetting 후 Vortex (1 min)
Proteinase K (10 mg/ml) 8 μ l 혼합 → Incubation (65°C, 10 min)
Cooling (실온, 5 min)
- 3: SGD2 400 μ l 첨가 → Vortex (1 min) → cfg (13,000 rpm, 5 min)

Column Binding

- 4: Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
Help B Buffer 200 μ l 첨가 → cfg (10,000 rpm, 30 sec)
- 5: Step 3의 상층액 모두 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution은 Collection tube와 함께 제거
Spin column을 새로운 2 ml Collection tube에 장착

Column Washing

- 6: Spin column에 WB (80% Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 7: cfg (13,000 rpm, 3 min - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착

※ 공회전*: WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

DNA Elution

- 8: DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (13,000 rpm, 2 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

Step 1

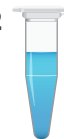


Sample (Yeast cell)
+ H1 100 μ l
+ Lyticase (2.5 Unit/ μ l) 1 μ l
Vortex (10 sec)
Incubation (37°C, 15 min)



cfg (13,000 rpm, 5 min) 상층액 제거

Step 2



+ SGD1 350 μ l
Pipetting and Vortex (1 min)
+ Proteinase K (10 mg/ml) 8 μ l



Incubation (65°C, 10 min)
Cooling (실온, 5 min)

Step 3



+ SGD2 400 μ l
Vortex 1 min
cfg (13,000 rpm, 5 min)



Spin column을
2 ml Collection tube에 장착

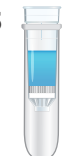
Step 4



+ Help B 200 μ l
cfg* (10,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution을 제거하고
Spin column과 collection tube 다시 장착



Step 5



+ 용액 모두 (Step 3)첨가



cfg* (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution, Collection tube 제거
새로운 2 ml Collection tube에 장착

Step 6



+ WB 500 μ l

2회 반복



cfg* (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거

Step 7



cfg* (13,000 rpm, 3 min - 공회전**)



Spin column을 새로운
1.5 ml Micro tube에 장착

Step 8



+ DNA Hydration Solution 50 ~ 100 μ l

Incubation (상온, 1 min)



cfg* (13,000 rpm, 2 min)



DNA Elution

* cfg: 원심분리

**공회전: Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

Genomic DNA Prep Kit Column Type

[Cat. No. GD141-050, GD141-100, GD142-050, GD142-100]

☑ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	<p>01. Washing buffer를 만든지 오래 된 것은 아닌가요? Washing buffer (80% Ethanol)을 만든지 오래 되었을 경우 evaporation으로 인해 Ethanol의 농도가 낮아져 yield가 떨어지게 됩니다. Washing buffer를 새로 만들어 사용해 보세요.</p>
	<p>02. Colum이 개봉한 지 오래되었나요? Column type의 경우 column이 공기중에 오래 노출되면 시간이 흐를수록 산화되거나 불순물들이 흡착되어 DNA 결합을 저해합니다. 개봉한지 오래된 column은 실험 전 Help B Buffer로 washing 처리하여 사용해 보십시오.</p>
	<p>03. DNA Hydration Solution(또는 EB)을 Column 벽면으로 분주하셨나요? Column Type의 경우 filter에 DNA가 결합해 있습니다. 따라서 filter를 충분히 적실 수 있도록 column 중앙부분(filter 부분)에 DNA Hydration Solution(또는 EB)을 넣어서 사용해 보세요.</p>
	<p>04. Enzyme(RNase A, Proteinase K, Lyticase, Lysozyme)은 어디에 보관하셨나요? Prep에 사용되는 enzyme들의 경우, dry 상태에서는 상온 보관이 가능하지만 D.W로 녹이거나, Buffer를 첨가한 이후에는 냉장 또는 냉동 보관하셔야 합니다. 그렇지 않을 경우 enzyme activity가 떨어져 prep yield에 영향을 줄 수 있습니다.</p>
	<p>05. Column 사용 전 Help B Buffer 처리를 하셨나요? Help B Buffer는 column filter에 DNA가 좀 더 잘 binding될 수 있도록 도와주는 Buffer입니다. 간단한 step으로 정제효율을 높일 수 있습니다.</p>
Nicked DNA Degraded DNA	<p>01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요? Plasticware나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고, plasticware는 사용 전 autoclave 하여 사용하세요.</p>
Eluted RNA	<p>01. GB를 첨가한 후 강하게 mix한 것은 아닌가요? GB를 첨가한 후 Inverting을 하는 것으로도 충분합니다. Vortexing이나 강하게 pipetting 하지 마십시오.</p>
Low Quality DNA	<p>01. Washing 단계 후 공회전을 하셨나요? Elution된 DNA에 EtOH이 포함되어 있을 경우 다음 단계의 실험 진행에 문제가 발생할 수 있습니다. 이를 해결하기 위해 Washing 단계 후 공회전을 3 min 이상 한 후 elution 하면 됩니다.</p>

☑ 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 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 피부에 접촉했을 때 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것.
- 동상의 위험이 있으니 반드시 장갑 착용 후 사용할 것.

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- Proteinase K / Lysozyme / Lyticase / RNase A는 1차 사용 후 냉동(냉장)보관하여 사용하도록 한다.
- 냉동 제품을 자주 열리고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다. 필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 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.

