



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.

---



## *Da*Bead™ Genomic DNA Prep Kit Bacterium, Cultured cell

[For Magnetic Bead]

**Magnetic Stand**

- 1.5/2.0 ml stand

**Table of Contents.**

- 구성품 용량 ..... 1
- Know-How ..... 2
- Troubleshooting ..... 3
- Preparation For 1.5 / 2.0 mL Magnetic Separation Stand (Gram Positive) ..... 4
- Preparation For 1.5 / 2.0 mL Magnetic Separation Stand (Gram Negative) ..... 6
- Preparation For 1.5 / 2.0 mL Magnetic Separation Stand (Cultured cell) ..... 8
- 주의사항 ..... 10

**구성품 용량 (mL)**

Contents	GD701-100
MC1 (+)	20 mL
MC1 (-)	20 mL
MC2	20 mL
MW1	16 mL
MW2 Bottle	1 ea
ME	30 mL
MW1 Additive	1 mL
RNase A (40 mg/mL)	1 ea
Proteinase K (20 mg/mL)	2 ea
Lysozyme (100 mg/mL)	1 ea
Magnetic Bead	1 mL x 3 ea
Quick Guide	1 매

✓ Know-How for Preparation

1. Washing Buffer (80% Ethanol, MW1) 는 실험 시작 전 fresh하게 만들어서 사용하기 바랍니다.
2. Cell culture 후 바로 실험을 진행하지 않을 경우 sample을 cell down후 상층액 버리고 냉동보관하시길 권장하며, 시일이 경과함에 따라 추출 효율의 차이가 있을 수 있습니다.
3. Cell culture time은 최소 12~16 hr (OD<sub>600</sub> value : 1.0~1.5) 키웁니다.
4. 100% Isopropanol을 첨가 후 오랜 시간 방치할 시 bead끼리 뭉치는 현상이 발생할 수 있으므로 5분 이상 방치하지 마세요.
5. 사용하는 sample의 양이 너무 많으면 DNA elution 단계에서 점성이 높아 bead가 잘 분리되지 않거나 뿌옇게 보일 수 있습니다 . 이런 경우 elution양을 늘려 정제합니다.
6. Elution 마지막 단계에서 Magnetic Bead 분리가 완벽하게 되지 않을 경우, suspension 시간을 늘리고, Magnetic Bead Stand나 Pipettor에 1회 더 binding합니다.
7. MC1(+), MC1(-), MC2는 주변 온도가 낮아지면 SDS로 인해 결정이 생길 수 있습니다. 전자레인지 또는 Dry oven에서 heating시켜 결정을 완벽하게 녹인 후 사용합니다.
8. 제거되지 않은 ethanol은 다음 단계 실험에 영향을 미칠 수 있으므로 Heat block (Dry oven)을 이용하여 완전히 제거합니다.
9. 모든 Magnetic Bead 제품군은 scale-up이 가능합니다.
10. 기타 문의사항은 (주)바이오팩트 학술서비스팀 (☎ 1670-5695)로 연락주세요.

✓ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	<p><b>01. Washing buffer</b> 를 만든지 오래 된 것은 아닌가요? MW1 buffer (80% Ethanol) 를 만든지 오래 되었을 경우 evaporation으로 인해 ethanol의 농도가 낮아져 yield가 떨어지게 됩니다. MW1 buffer를 새로 만들어 사용합니다.</p> <p><b>02. MW1 Buffer에 ethanol</b>을 첨가 하셨나요? MW1 buffer에는 사용 전 반드시 protocol에 기재된 용량만큼 96~100%ethanol을 첨가하여야 합니다.</p> <p><b>03. Isopropanol 첨가 후 오랜 시간 방치</b> 하셨나요? Isopropanol 첨가 후, 오랜 시간 동안 방치되면 Magnetic Bead끼리 뭉쳐 마지막 elution 수율이 떨어질 수 있습니다. Isopropanol 첨가 후 5분 이내에 실험하실 것을 권장합니다.</p> <p><b>04. Enzyme(RNase A, Proteinase K, Lysozyme)</b> 은 어디에 보관하셨나요? Prep에 사용되는 enzyme들의 경우, dry 상태에서는 상온 보관이 가능하지만 D.W로 녹이거나 Buffer를 첨가한 이후에는 냉장 또는 냉동 보관하여야 합니다. 그렇지 않을 경우 enzyme activity가 떨어져 prep yield에 영향을 줄 수 있습니다.</p> <p><b>05. Washing step에서 Magnetic bead가 loss</b>되지 않았나요? Magnetic Bead가 Magnetic Separation Stand나 Magnetic Bead Pipettor에 완전히 부착되도록 장착 후 30 sec ~ 1 min 정도 충분한 binding 시간을 갖습니다. 또한 실험 진행 중 stand가 움직여 bead loss가 생길 수 있기 때문에 stand와 plate를 완벽히 부착한 후 실험합니다.</p> <p><b>06. Buffer를 충분히 섞어주셨나요?</b> Buffer나 Magnetic bead 를 넣고 suspension을 많이 할수록 높은 수율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다. Suspension은 shaking이나 pipetting하는 것을 권장합니다.</p>
Nicked DNA Degraded DNA	<p><b>01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요?</b> Plasticware나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고, plasticware는 사용 전 autoclave하여 사용하세요.</p>
Eluted RNA	<p><b>01. Pro-K/RNase A 첨가 후 incubation</b>은 충분히 하셨나요? Pro-K/RNase A는 D.W에 녹인 후 냉장(냉동) 보관하여 사용하며, 사용 시 protocol에 기재된 반응 온도와 시간을 지키도록 합니다.</p>
Low Quality DNA	<p><b>01. Washing 단계 후 Ethanol</b>을 충분히 건조 하셨나요? Eluted DNA에 ethanol이 포함되어 있을 경우 다음 단계의 실험 진행에 문제가 발생할 수 있습니다. 이를 해결하기 위해 washing단계 후 ethanol을 완전히 건조한 후 elution합니다. stand는 10분 이상 충분히 건조합니다.</p>

✓ **Preparation.**

- MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol**을 **64 ml** (100 prep 기준)을 넣어 사용 제공해드린 MW1을 다 사용하신 후 **80% EtOH(80 ml)**에 MW1 Additive 400  $\mu$ l 첨가
- MW2 Bottle 빈 bottle로 제공되므로, 100% Ethanol을 넣어 사용
- Kit에 포함된 Enzyme(freezing dry 상태)은 D.W에 녹여 사용하시고 4 °C 또는 -20 °C 에 보관
- Sample
  - 16시간 이상 배양된 Bacteria cell ( $1 \times 10^8$ )을 500  $\mu$ l씩 1.5 ml Micro tube에 넣고 상온에서 10,000 rpm, 1 min동안 원심분리 후 media를 제거하여 사용 (-70°C 보관)

✓ **Protocol.**

**[Cell Lysis & Precipitation]**

- Bacteria Cells ( $1 \times 10^8$ ) + MC1(+)** 200  $\mu$ l + **Lysozyme (100 mg/ml)** 5  $\mu$ l + **RNase A (40mg/ml)** 2  $\mu$ l 혼합  
→ Vortex (10 sec) → Incubation (37°C, 30 min)
- MC2** 200  $\mu$ l + **Proteinase K (20 mg/ml)** 10  $\mu$ l → Vortex (10 sec) → Incubation (60°C, 30 min)
- 100% Isopropanol** 200  $\mu$ l 첨가, 30회 이상 inverting  
(※ DNA pellet이 뭉칠때까지 inverting 합니다.)

**[Magnetic Bead Binding]**

- Step 3의 1.5 ml tube에 **Magnetic bead** 25  $\mu$ l 첨가  
→ 30회 이상 Inverting
- 1.5 ml tube를 Magnetic separation stand에 장착 (30 sec ~ 1 min간 binding)  
→ Stand에 tube가 장착된 상태로 5회 앞뒤로 inverting하여 tube cap의 bead 회수  
→ 1 min 후 stand에 장착된 상태로 solution 제거

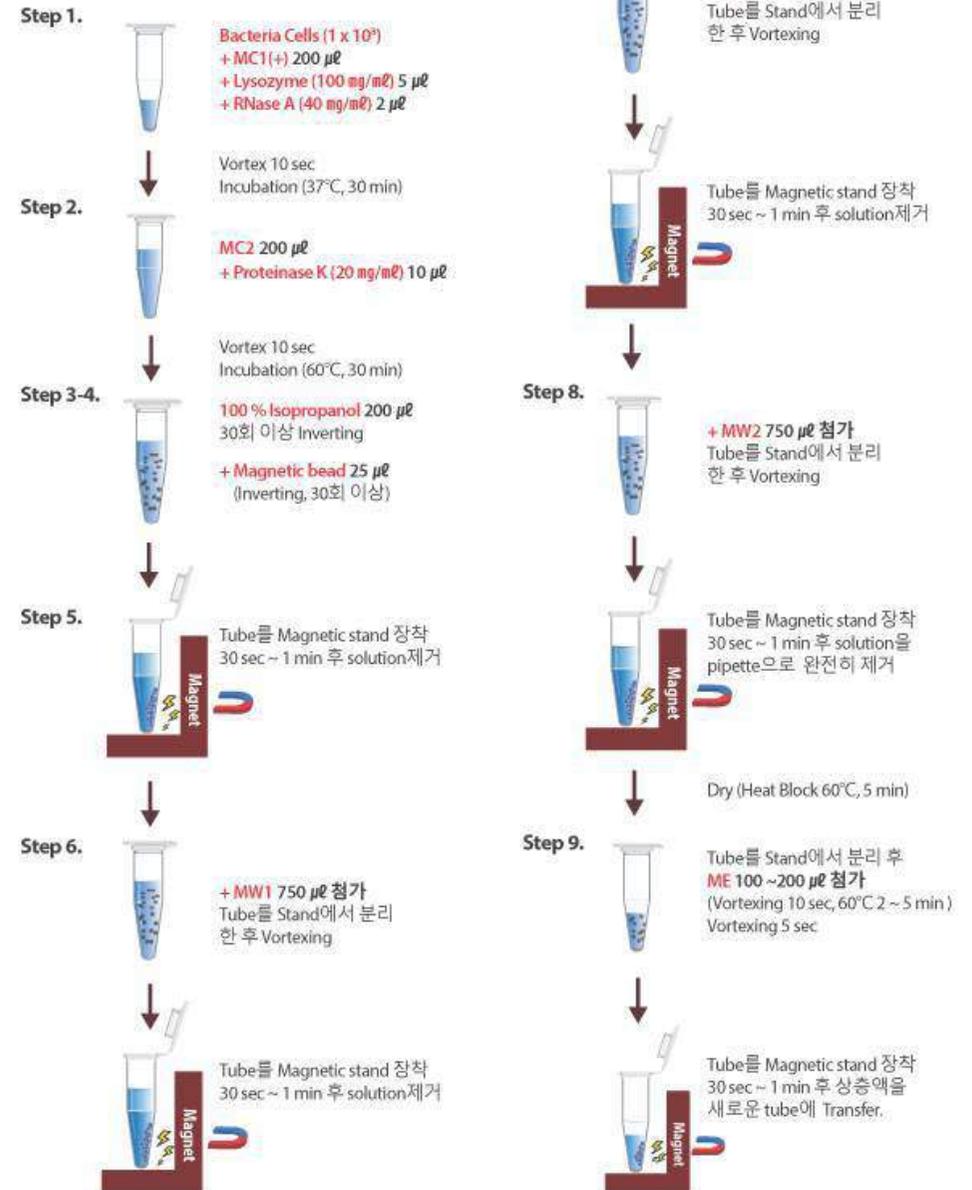
**[Magnetic Bead Washing & Dry]**

- 1.5 ml tube에 **MW1 (80% Ethanol)** 750  $\mu$ l 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing  
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 제거 **x 2회 반복**
- 1.5 ml tube에 **MW2 (100% Ethanol)** 750  $\mu$ l 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing  
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution을 Pipette으로 완전히 제거  
→ 건조(Dry oven (60 °C) 10 min / Heat Block (60 °C) 5 min / Dryer 3 min)  
※ Dryer를 사용할 경우, Contamination방지를 위해 1.5 ml tube 옆면을 heating해주세요.  
Dry oven에 건조 시 오염방지를 위해 aluminium foil을 덮어 건조해주세요.

**[DNA Elution]**

- Stand에서 1.5 ml tube를 분리 후 **ME**를 100 ~ 200  $\mu$ l 첨가  
→ Vortexing (10 sec) or Tapping → Incubation (60 °C, 2 ~ 5 min) → Vortexing 5 sec  
→ Magnetic Bead를 stand에 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 eluted DNA를 새로운 1.5ml tube에 옮김  
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4 °C 또는 -20 °C에서 보관

✓ **Work Flow**



# Genomic DNA prep Kit For Gram(-)

## ✓ Preparation.

- MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol**을 **64 ml** (100 prep 기준)을 넣어 사용  
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후 **80% EtOH(80 ml)**에 **MW1 Additive 400 µl** 첨가
- MW2 Bottle 빈 bottle로 제공되므로, 100% Ethanol을 넣어 사용
- Kit에 포함된 Enzyme(freezing dry 상태)은 D.W에 녹여 사용하시고 4 °C(or -20 °C)에 보관
- Sample
  - 12 ~ 16시간 이상 배양된 Bacteria cell (< 1 x 10<sup>8</sup>)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 & Precipitation]

- Bacteria Cells (< 1 x 10<sup>8</sup>) + MC1(-) 200 µl + Proteinase K (20 mg/ml) 10 µl + RNase A (40 mg/ml) 2 µl** 혼합 → Vortex (10 sec) → Incubation (60°C, 10 min)
- MC2 200 µl** 첨가 → Vortex (10 sec)
- 100% Isopropanol 200 µl** 첨가, 30회 이상 inverting  
(※ DNA pellet이 뭉칠때까지 inverting 합니다.)

### [Magnetic Bead Binding]

- Step 3의 1.5 ml tube에 **Magnetic bead 25 µl** 첨가  
→ 30회 이상 Inverting
- 1.5ml tube를 Magnetic separation stand에 장착 (30 sec ~ 1 min간 binding)  
→ Stand에 tube가 장착된 상태로 5회 앞뒤로 inverting하여 tube cap의 bead 회수  
→ 1 min 후 stand에 장착된 상태로 solution 제거

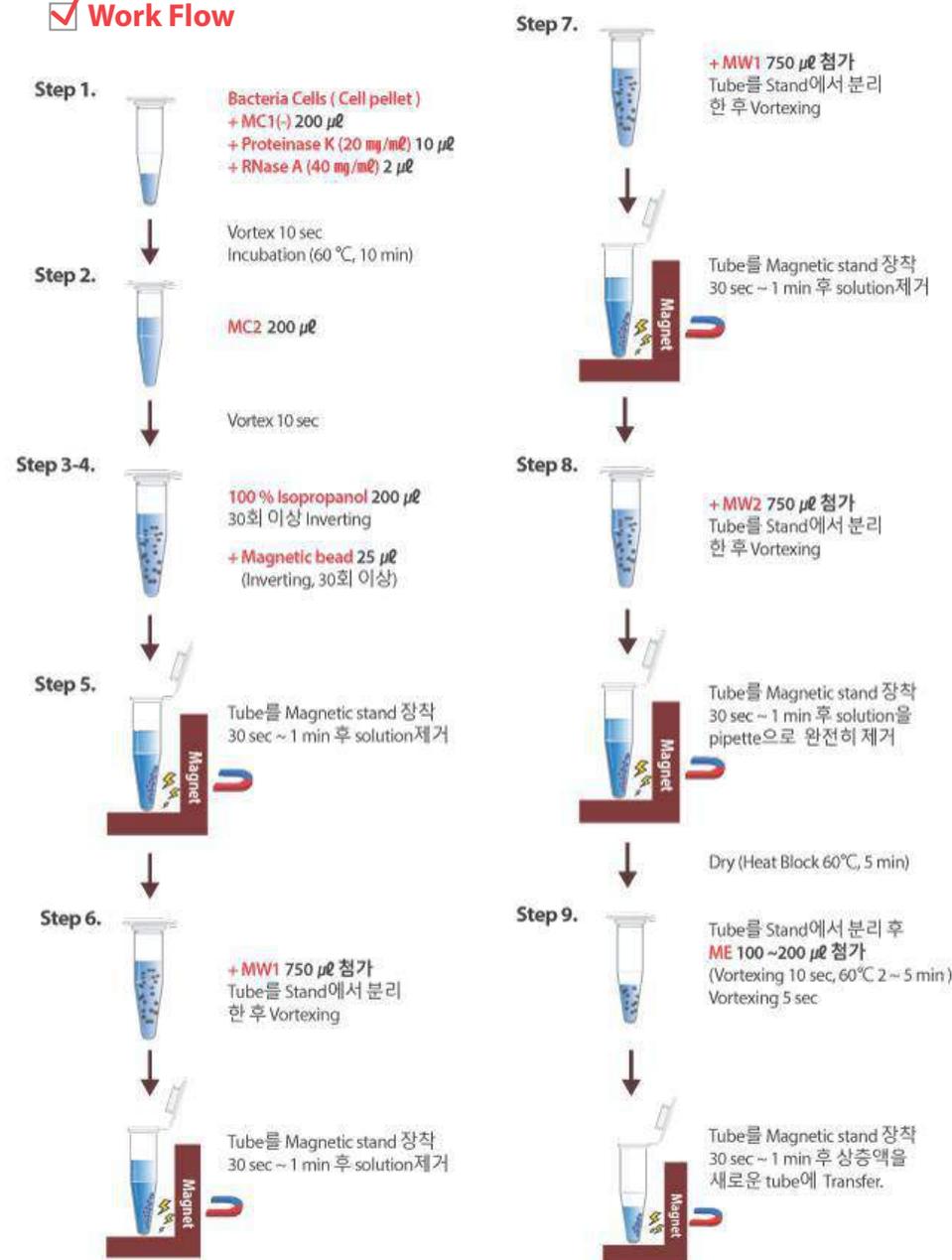
### [Magnetic Bead Washing & Dry]

- 1.5ml tube에 **MW1 (80% Ethanol) 750 µl** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing  
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 제거 **x 2회 반복**
- 1.5ml tube에 **MW2 (100% Ethanol) 750 µl** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing  
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution을 Pipette으로 완전히 제거  
→ 건조(Dry oven (60 °C) 10 min / Heat Block (60 °C) 5 min / Dryer 3 min)  
※ Dryer를 사용할 경우, Contamination방지를 위해 1.5 ml tube 옆면을 heating해주세요.  
Dry oven에 건조 시 오염방지를 위해 aluminium foil을 덮어 건조해주세요.

### [DNA Elution]

- Stand에서 1.5ml tube를 분리 후 **ME를 100 ~ 200 µl** 첨가  
→ Vortexing (10 sec) or Tapping → Incubation (60 °C, 2 ~ 5 min) → Vortexing 5 sec  
→ Magnetic Bead를 stand에 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 eluted DNA를 새로운 1.5ml tube에 옮김  
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4 °C 또는 -20 °C에서 보관

## ✓ Work Flow



## ✓ Preparation.

- MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol**을 **64 ml** (100 prep 기준)을 넣어 사용합니다.  
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후 **80% EtOH(80 ml)**에 **MW1 Additive 400 µl** 첨가
- MW2 Bottle 빈 bottle로 제공되므로, 100% Ethanol을 넣어 사용합니다.
- Kit에 포함된 Enzyme(freezing dry 상태)은 D.W에 녹여 사용하고 **4 °C(or -20 °C)** 에 보관
- Sample
  - 12 ~ 16시간 이상 배양된 Bacteria cell ( $< 5 \times 10^4$ )을 **500 µl**씩 **1.5 ml** Micro tube에 넣고 상온에서 10,000 rpm, 1 min 동안 원심분리 후 media를 제거하여 사용 (-70°C 보관)

## ✓ Protocol.

### [Cell Lysis & Precipitation]

- Cultured cell** ( $< 5 \times 10^4$ ) + **MC1(-)** 200 µl  
**Proteinase K (20 mg/ml)** 10 µl + **RNase A (40 mg/ml)** 2 µl 혼합 → Vortex (10 sec) → Incubation (60°C, 10 min)
- MC2** 200 µl 첨가 → Vortex (10 sec)
- 100% Isopropanol** 200 µl 첨가, 30회 이상 inverting  
(※DNA pellet이 뭉칠때까지 inverting 합니다.)

### [Magnetic Bead Binding]

- Step 3의 1.5 ml tube에 **Magnetic bead 25 µl** 첨가 → 30회 이상 Inverting
- 1.5ml tube를 Magnetic separation stand에 장착 (30 sec ~ 1 min간 binding)  
→ Stand에 tube가 장착된 상태로 5회 앞뒤로 inverting하여 tube cap의 bead 회수  
→ 1 min 후 stand에 장착된 상태로 solution 제거.

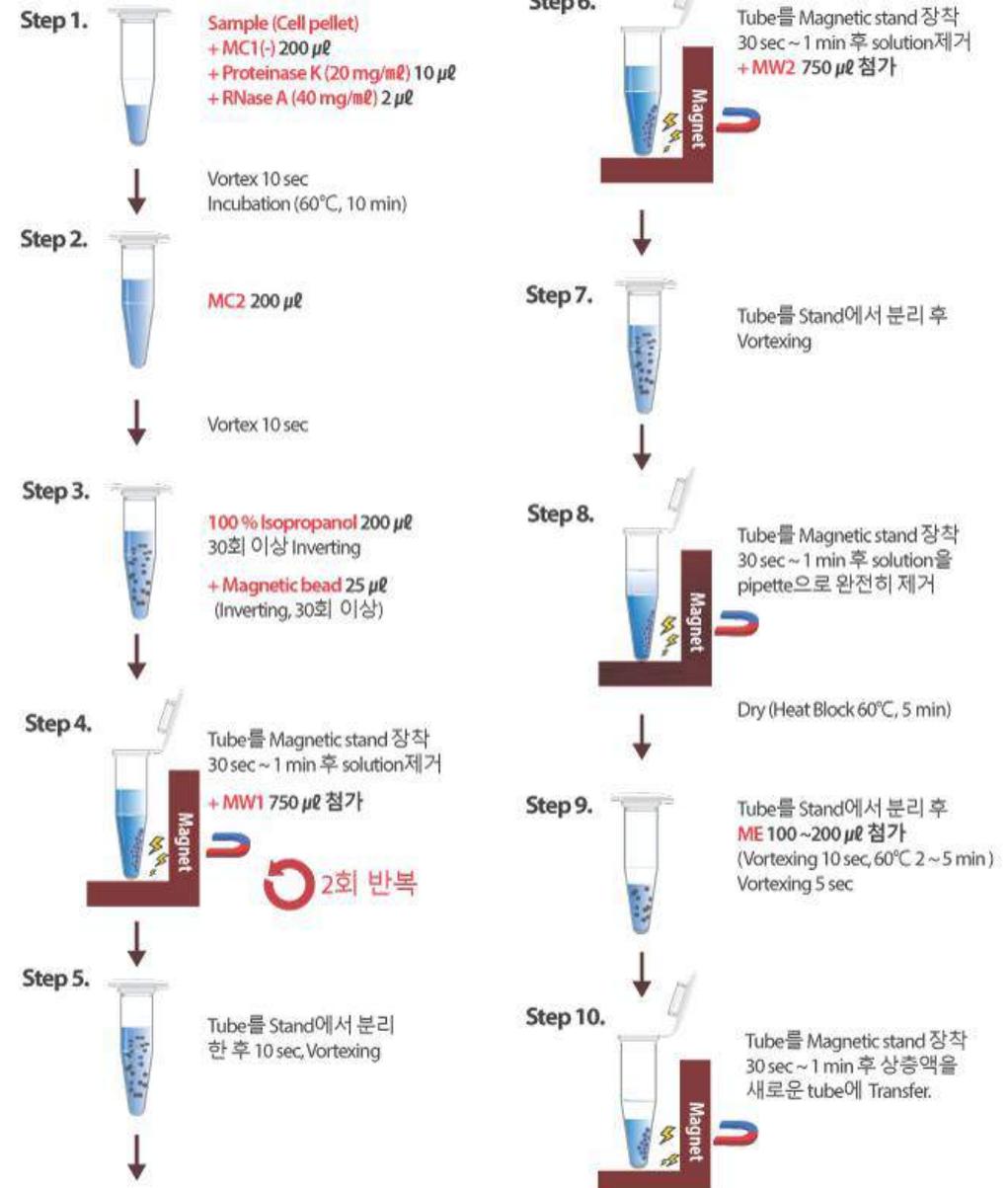
### [Magnetic Bead Washing & Dry]

- 1.5ml tube에 **MW1 (80% Ethanol) 750 µl** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing  
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 제거 **x 2회 반복**
- 1.5ml tube에 **MW2 (100% Ethanol) 750 µl** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing  
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 을 Pipette으로 완전히 제거  
→ 건조(Dry oven (60 °C) 10 min / Heat Block (60 °C) 5 min / Dryer 3 min)  
※ Dryer를 사용할 경우, Contamination방지를 위해 1.5 ml tube 옆면을 heating해주세요.  
Dry oven에 건조 시 오염방지를 위해 aluminium foil을 덮어 건조해주세요.

### [DNA Elution]

- Stand에서 1.5ml tube를 분리 후 Buffer **ME**를 **100 ~ 200 µl** 첨가  
→ Vortexing (10 sec) or Tapping → Incubation (60 °C, 2 ~ 5 min) → Vortexing 5 sec  
→ Magnetic Bead를 stand에 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 eluted DNA를 새로운 1.5ml tube에 옮김  
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4 °C 또는 -20 °C에서 보관

## ✓ Work Flow



☑ 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 사용한다.
- Magnetic Separation Stand, 96well Magnetic Stand, 96well Magnetic Pipettor를 dry oven이나 heat gun에 장시간 노출할 경우 화상을 주의한다.

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- RNase A는 1차 사용 후 냉동(냉장)보관하며 사용하도록 한다.
- 냉동 제품을 자주 얼리고 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.



MEMO



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



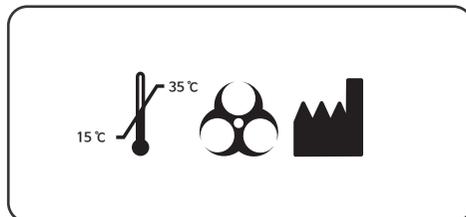
T)1670-5695



[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.



## *Da*Bead™ Genomic DNA Prep Kit Bacterium, Cultured cell

[For Magnetic Bead]

**Magnetic Pipettor**  
- 8well type

## ✓ Contents

**MC1(+)** (20 ml), **MC1(-)** (20 ml), **MC2** (20 ml), **RNase A** (40 mg/ml) (1ea), **Proteinase K** (20 mg/ml) (1ea), **Lysozyme** (100 mg/ml) (1ea), **Adaptor (8 x 12) tip** (12ea), Quick Guide (1册)  
**Reagent Plate** (6 ea) : [1/7 well : Binding Buffer], [2/8 well : Washing Buffer 1], [3/9 well : Washing Buffer 2], [4/10 well : Washing Buffer 3], [5/11 well : Elution Buffer], [6/12 well : Magnetic Bead]

## ✓ Preparation

1. Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 (4℃ or -20℃)에 보관
2. Lysis Buffer는 Prep 당 200 μl 사용 기준이며, 그 이상 사용시 별도 구매
3. Sample : 12 ~ 16시간 이상 배양된 Bacteria cell (< 1 x 10<sup>8</sup>) 또는 Cultured Cell (< 1 x 10<sup>5</sup>)을 500 μl씩 1.5 ml tube 에 넣고 상온에서 10,000 rpm, 1 min 동안 원심분리 후 media 를 제거하여 사용 (-70 ℃ 보관)
4. DaBead™ 8well Magnetic Pipettor 사용

## ✓ Protocol.

### Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

1. 1.5 ml tube에 **Bacteria Cells** (< 1 x 10<sup>8</sup>) + **MC1(-)** 200 μl + **Proteinase K** (20 mg/ml) 10 μl + **RNase A** (40 mg/ml) 2 μl 혼합  
→ Vortex (10 sec) → Incubation (60℃, 10 min)
2. **MC2** 200 μl 첨가 → Vortex (10 sec) 후 혼합액 모두 **Binding Buffer**가 첨가되어 있는 Deepwell plate 1/7 열로 transfer
3. Deepwell plate 6/12 열에 Adaptor 8-strip tip이 장착된 8 well pipettor로 **Magnetic Bead**를 회수하고,  
1/7 열에서 Adaptor 8-strip tip 분리 → Tapping (10 회 이상) → Adaptor 8-strip tip을 pipettor에 다시 장착하고 Bead 회수

### Magnetic Bead Washing & Dry

4. **Washing Buffer 1**이 첨가되어 있는 Deepwell plate 2/8 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리  
→ Tapping (10 회 이상) → Adaptor 8-strip tip을 pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수
5. **Washing Buffer 2**가 첨가되어 있는 Deepwell plate 3/9 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리  
→ Tapping (10 회 이상) → Adaptor 8-strip tip을 pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수
6. **Washing Buffer 3**이 첨가되어 있는 Deepwell plate 4/10 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리  
→ Tapping (10 회 이상) → Adaptor 8-strip tip을 pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수 → Bead Dry (~ 5 min)

[Optional] 8 Well Magnetic Pipettor를 실험대 선반(철판)에 부착하여 bead dry 하시면 편리합니다.

### DNA Elution

7. **Elution Buffer**가 첨가되어 있는 Deepwell plate 5/11 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리  
→ Tapping (10 회 이상)
8. Pipettor에 Adaptor 8-strip tip을 장착한 후 Bead 회수 → Deepwell plate 6/12 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리 → eluted DNA를 새로운 1.5 ml tube로 transfer  
(Agarose Gel에 전기 영동하여 농도 확인 → 4℃ 또는 -20℃에서 보관)

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우 제공된 RNase A 일부를 1/100로 희석하여 1 μl 첨가하여 상온에서 5 min Incubation 후 확인.

## ✓ Work Flow

### Step 1.

Bacteria Cells ( Cell pellet )  
+ MC1(-) 200 μl  
+ Proteinase K (20 mg/ml) 10 μl  
+ RNase A (40 mg/ml) 2 μl

Vortex 10 sec  
Incubation (60℃, 10 min)

### Step 2.

+ MC2 200 μl

Deepwell plate 1/7열로 상층액을 transfer

### Step 3.

Deepwell plate 6/12 열의 **Magnetic bead**를 모아 1/7열로 옮김 → Tapping (10회 이상)  
→ Bead 회수

### Step 4.

2/8열 **Washing Buffer 1**  
→ Tapping (10회 이상)  
→ Bead 회수

### Step 5-6.

3/9열 **Washing Buffer 2**  
→ Tapping (10회 이상)  
→ Bead 회수

4/10열 **Washing Buffer 3**  
→ Tapping (10회 이상)  
→ Bead 회수 → Bead Dry(-5min)

### Step 7.

5/11열 **Elution**  
→ Tapping (10회 이상)  
→ Bead 회수

### Step 8.

6/12열에 Bead Removal  
5/11열 Eluted DNA를 transfer



## ✓ Contents

MC1(+) (20 mL), MC1(-) (20 mL), MC2 (20 mL), RNase A (40 mg/mL) (1ea), Proteinase K (20 mg/mL) (1ea), Lysozyme (100 mg/mL) (1ea), Adaptor (8 x 12) tip (12ea), Quick Guide (1매)  
**Reagent Plate** (6 ea) : [1/7 well : Binding Buffer], [2/8 well : Washing Buffer 1], [3/9 well : Washing Buffer 2], [4/10 well : Washing Buffer 3], [5/11 well : Elution Buffer], [6/12 well : Magnetic Bead]

## ✓ Preparation

1. Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 (4°C or -20°C)에 보관
2. Lysis Buffer는 Prep 당 200 µL 사용 기준이며, 그 이상 사용시 별도 구매
3. Sample : 12 ~ 16시간 이상 배양된 Bacteria cell (< 1 x 10<sup>8</sup>) 또는 Cultured Cell (< 1 x 10<sup>5</sup>)을 500 µL씩 1.5 mL tube 에 넣고 상온에서 10,000 rpm, 1 min 동안 원심분리 후 media 를 제거하여 사용 (-70 °C 보관)
4. DaBead™ 8well Magnetic Pipettor 사용

## ✓ Protocol.

### Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

- 1: 1.5 mL tube에 Bacteria Cells (< 1 x 10<sup>8</sup>) + MC1(+) 200 µL + Lysozyme(100 mg/mL) 5 µL + RNase A (40 mg/mL) 2 µL 혼합  
→ Vortex (10 sec) → Incubation (37°C, 30 min)
- 2: MC2 200 µL + Proteinase K (20 mg/mL) 10 µL 첨가 → Vortex (10 sec) → Incubation (60°C, 30 min)  
혼합액 모두 Binding Buffer가 첨가되어 있는 Deepwell plate 1/7 열로 transfer
- 3: Deepwell plate 6/12 열에 Adaptor 8-strip tip이 장착된 8 well pipettor로 Magnetic Bead를 회수하고,  
1/7 열에서 Adaptor 8-strip tip 분리 → Tapping (10 회 이상) → Adaptor 8-strip tip을 pipettor에 다시 장착하고 Bead 회수

### Magnetic Bead Washing & Dry

- 4: Washing Buffer 1이 첨가되어 있는 Deepwell plate 2/8 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리  
→ Tapping (10 회 이상) → Adaptor 8-strip tip을 pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수
- 5: Washing Buffer 2가 첨가되어 있는 Deepwell plate 3/9 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리  
→ Tapping (10 회 이상) → Adaptor 8-strip tip을 pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수
- 6: Washing Buffer 3이 첨가되어 있는 Deepwell plate 4/10 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리  
→ Tapping (10 회 이상) → Adaptor 8-strip tip을 pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수 → Bead Dry (~ 5 min)

[Optional] 8 Well Magnetic Pipettor를 실험대 선반(철판)에 부착하여 bead dry 하시면 편리합니다.

### DNA Elution

- 7: Elution Buffer가 첨가되어 있는 Deepwell plate 5/11 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리  
→ Tapping(10 회 이상)
- 8: Pipettor에 Adaptor 8-strip tip을 장착한 후 Bead 회수 → Deepwell plate 6/12 열에 Bead가 부착된 Pipettor에서 Adaptor 8-strip tip 분리 → eluted DNA를 새로운 1.5 mL tube로 transfer  
(Agarose Gel에 전기 영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관)

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/100로 희석하여 1 µL 첨가하여 상온에서 5 min Incubation 후 확인.

## ✓ Work Flow

