



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.



*Da*Bead™ Genomic DNA Prep Kit Whole Blood

[For Magnetic Bead]

Magnetic Pipettor
- 96well type / - 16well type

Magnetic Stand
- 1.5/2.0 ml stand

MEMO

Table of Contents.

• 구성품 용량	-----	1
• Know-How	-----	2
• Troubleshooting	-----	3
• Preparation For 96 well Magnetic Bead Pipettor	-----	5
• Preparation For 16 well Magnetic Bead Pipettor	-----	7
• Preparation For 1.5 / 2.0 ml Magnetic Separation Stand	-----	9
• 주의사항	-----	11
• Equipment and Reagent to Be supplied by User	-----	12

☑ 구성품 용량 (mℓ)

Contents	GD702-100
MB	25 mℓ
MBW	30 mℓ x 2 ea
MW1	16 mℓ
MW2	-
ME	30 mℓ
MW1 Additive	1 mℓ
Proteinase K (20 mg/mℓ)	6 ea
Magnetic Bead	1 mℓ x 3 ea
Quick Guide	1 매

☑ Know-How for Preparation

1. Washing Buffer (MBW, MW1) 는 실험 시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다.
2. 채취한지 오래된 blood는 추출효율이 낮을 수 있으므로 일주일 이내 채취한 blood 사용을 권장하며, 최대 1개월이 넘지 않은 blood를 사용하도록 합니다.
3. 채취한 시료는 시간이 지남에 따라 추출 효율에 영향을 미칠 수 있으므로 냉장보관을 권장합니다.
4. Whole blood의 양을 protocol과 달리 사용할 경우, MBbuffer는 sample과 동일한 volume을 사용하며, 100% Ethanol은 sample의 2배 volume을 사용합니다. (예; Whole blood 100 μℓ + MB 100 μℓ + 100% Ethanol 200 μℓ)
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. Shaker에 plate를 장착하여 shaking 진행 시 well 밖으로 샘플이 넘칠 수 있으니 낮은 rpm에서 서서히 올려 샘플이 넘치지 않도록 주의합니다.
7. Elution 마지막 단계에서 Magnetic Bead 분리가 완벽하게 되지 않을 경우, suspension 시간을 늘리고, Magnetic Bead Stand나 Pipettor에 1회 더 binding합니다.
8. Suspension 단계에서 Shaking이나 Pipetting의 시간과 횟수를 늘릴수록 높은 수율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다.
9. Elution한 DNA의 yield가 300ng/μℓ 이상일 경우, 전기영동 시 정확한 확인이 어려울 수 있으므로 dilution하여 loading합니다.
10. 제거되지 않은 ethanol은 다음 단계 실험에 영향을 미칠 수 있으므로 Heat block (Dry oven)을 이용하여 완전히 제거합니다.
11. Protocol의 suspension은 shaker에 deepwell plate, collection plate를 장착하여 shaking(~1분)(Figure.1)하거나 pipetting(>10회)을 권장합니다.



(Figure.1)

12. 모든 Magnetic Bead 제품군은 scale-up이 가능합니다.
13. 기타 문의사항은 (주)바이오팩트 학술서비스팀 (☎ 1670-5695)로 연락주세요.

※Magnetic Pipettor + adaptor plate 장착 방법은 4페이지를 참고해 주세요.

※Shaking속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.

Workflow에 있는 속도는 바이오팩트 제품 사용 시 속도단계입니다.

☑ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	01. Washing buffer 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.
	02. MBW, MW1 Buffer에 ethanol을 첨가 하셨나요? MBW, MW1 buffer는 사용 전 반드시 protocol에 기재된 용량만큼 96~100%ethanol을 첨가하여야 합니다.
	03. Isopropanol 첨가 후 오랜 시간 방치 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.
	04. Enzyme(RNase A, Proteinase K, Lysozyme) 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.
	05. Washing step에서 Magnetic bead가 loss되지 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.
	06. Buffer를 충분히 섞어주셨나요? Buffer나 Magnetic bead 를 넣고 suspension을 많이 할수록 높은 수율의 genomic DNA를 얻을 수 있습니다. Suspension은 shaking이나 pipetting하는 것을 권장합니다.
Nicked DNA Degraded DNA	01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요? Plasticware나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고, plasticware는 사용 전 autoclave하여 사용하세요.
Eluted RNA	01. Pro-K/RNase A 첨가 후 incubation은 충분히 하셨나요? Pro-K/RNase A는 D.W에 녹인 후 냉장(냉동) 보관하여 사용하며, 사용 시 protocol에 기재된 반응 온도와 시간을 지키도록 합니다.
Low Quality DNA	01. Washing 단계 후 Ethanol을 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 건조하며, pipettor는 dry oven이나 heat block을 이용하여 건조할 시에 bead가 pipettor에서 떨어질 우려가 있어 실온에서 2~3분 정도 건조합니다.
Mixed several samples	01. 96 Well Magnetic Bead Pipettor Pipettor에 adaptor plate 장착 후, transfer plate에 넣거나 뺄 때, pipettor의 magnetic bar를 plate hole 가운데에 정확히 맞추도록 합니다. Transfer plate입구에 Magnetic Bead가 닿지 않도록 하고, washing단계에서 adaptor plate를 손으로 tapping할 때 너무 세게 칠 경우 sample mix가 일어날 수 있으므로 주의합니다.

☑ Pipettor + Adaptor plate 장착 시 주의점



- 각 STEP에서 adaptor plate를 Magnetic pipettor에 장착시 정면 제공해드리는 rack을 이용하여 장착 (▼ 표시 단계)
- Buffer가 분주된 plate에서 바로 Magnetic pipettor를 장착할 경우 샘플간 contamination 위험



• 바이오팩트 shaker 속도단계

☑ How to Use 16 well Pipettor



Step 1. pipettor stand와 Rack을 조립한 후 Adaptor 8-strip을 장착해주세요.



Step 2. 16well pipettor를 힘있게 눌러 Adaptor 8-strip을 끼워주세요.



Step 3. 준비완료

※ 제조할 시에는 Pipettor상단의 버튼을 반드시 누른 채 부착/나사를 시계방향 Ⓢ으로 돌려서야 나사가 조여집니다.

[8 well만 preparation 하실 경우]



Step 1. 각 포켓에서 비틀어서 pipettor를 분리하여 나사를 풀어주세요 (시계반대방향 Ⓢ)



Step 2. 각 포켓에는 육지 선의 pipettor를 삽입하여 나사를 돌려주세요 (시계반대방향 Ⓢ)



Step 3. 100% magnet을 분리하고, 분리한 인디케이터로 조립하여 사용해주세요.



※Magnetic Pipettor + adaptor plate 장착 방법은 4페이지를 참고해 주세요.

※Shaking속도는 shaker 종류에 따라 속도가 달라질 수 있습니다.

Workflow에 있는 속도는 바이오파크 제품 사용 시 속도단계입니다.

✓ Preparation.

1. MBW Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 30 mL** (100 prep 기준)를 넣어 사용
Fresh하게 사용하도록 MBW는 2 EA를 제공드리며, 각 bottle에 100% Ethanol 30 mL 혼합하여 사용
2. MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 64 mL** (100 prep 기준)를 넣어 사용
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후, 80% Ethanol (80 mL)에 MW1 Additive 400 µL 첨가하여 사용
3. MW2 Bottle은 빈 bottle로 제공되므로, **100% Ethanol**을 넣어 사용
4. Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하시고 4°C or -20°C에 보관
5. Suspension은 충분히 진행 (pipetting >10회, shaking >1 min)

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1: Deepwell plate에 **whole blood 100 µL + MB 100 µL + proteinase K (20 mg/mL) 15 µL** 를 혼합
→ shaking (3단계, 1 min) → (Film부착) Incubation (RT, 10 min)
- 2: **100% Ethanol 200µL** 첨가 → Shaking (3단계, 1 min)

Magnetic Bead Binding

- 3: **Magnetic Bead 15µL** 첨가 → Shaking (3단계, 1 min)
→ 96 well magnetic Pipettor에 adaptor plate를 장착한 후, deepwell plate의 bead 회수

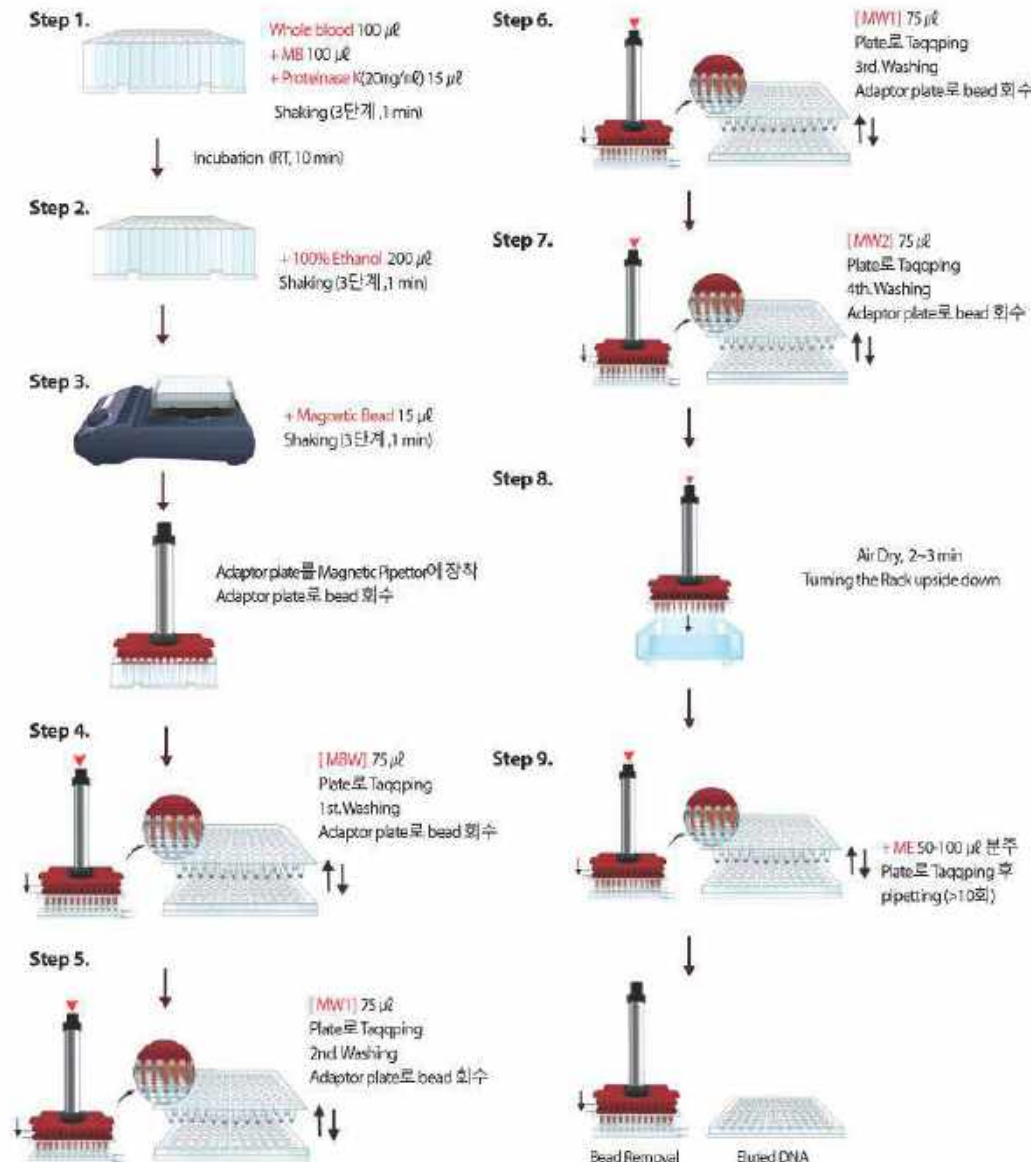
Magnetic Bead Washing & Dry

- 4: Collection plate에 **MBW (50% Ethanol) 75 µL** 분주 → bead가 부착된 Adaptor plate에서 pipettor분리
→ Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (1st. washing)
- 5: New Collection plate에 **MW1 (80% Ethanol) 75 µL** 분주 → bead가 부착된 Adaptor plate에서 pipettor분리
→ Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (2nd. washing)
- 6: New collection plate에 **MW1 (80% Ethanol) 75 µL** 분주 → bead가 부착된 Adaptor plate에서 pipettor분리
→ Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (3rd. washing)
- 7: New collection plate에 **MW2 (100% Ethanol) 75 µL** 분주 → bead가 부착된 Adaptor plate에서 pipettor분리
→ Tapping → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (4th. washing)
- 8: Air dry, 2~3min (RT)

DNA Elution

- 9: **ME 50 ~ 100 µL** 분주 → bead가 부착된 pipettor에서 adaptor plate 분리
Tapping 후 pipetting (10회 이상) → Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수
→ Eluted DNA를 agarose gel에 전기영동하여 농도 확인 → (Film부착) 4°C 또는 -20°C에서 보관

✓ Work Flow



DaBead™ [16 well Magnetic Bead Pipettor]

Genomic DNA prep Kit For Whole Blood

Preparation.

1. MBW Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 30 mL** (100 prep 기준)를 넣어 사용
Fresh하게 사용하도록 MBW는 2EA를 제공해드리며, 각 bottle에 100% Ethanol 30mL 혼합하여 사용
2. MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 64 mL** (100 prep 기준)을 넣어 사용
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후, 80% Ethanol (80 mL)에 MW1 Additive 400 μ L 첨가하여 사용
3. MW2 Bottle은 빈 bottle로 제공되므로, **100% Ethanol**을 넣어 사용
4. Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하고 4°C 또는 -20°C에 보관
5. Suspension은 충분히 진행 (pipetting >10회, shaking ~1 min)
6. 각 열에 해당 buffer를 미리 분주하여 사용
(2/8열 : MBW 350 μ L, 3/9열, 4/10열 : MW1 350 μ L, 5/11열 : MW2 350 μ L, 6/12열 : ME 50-100 μ L)

Protocol.

Cell Lysis & Magnetic Bead Binding

- 1 : 1.5mL tube에 **whole blood 100 μ L + MB 100 μ L + proteinase K (20 mg/mL) 15 μ L** 를 혼합 → vortex (10sec)
- 2 : Incubation (실온, 10min), **100% Ethanol 200 μ L + Magnetic Bead 15 μ L** 첨가 후 vortex (10sec)
→ Deepwell plate 1/7열로 transfer
- 3 : Adaptor 8-strip을 pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수

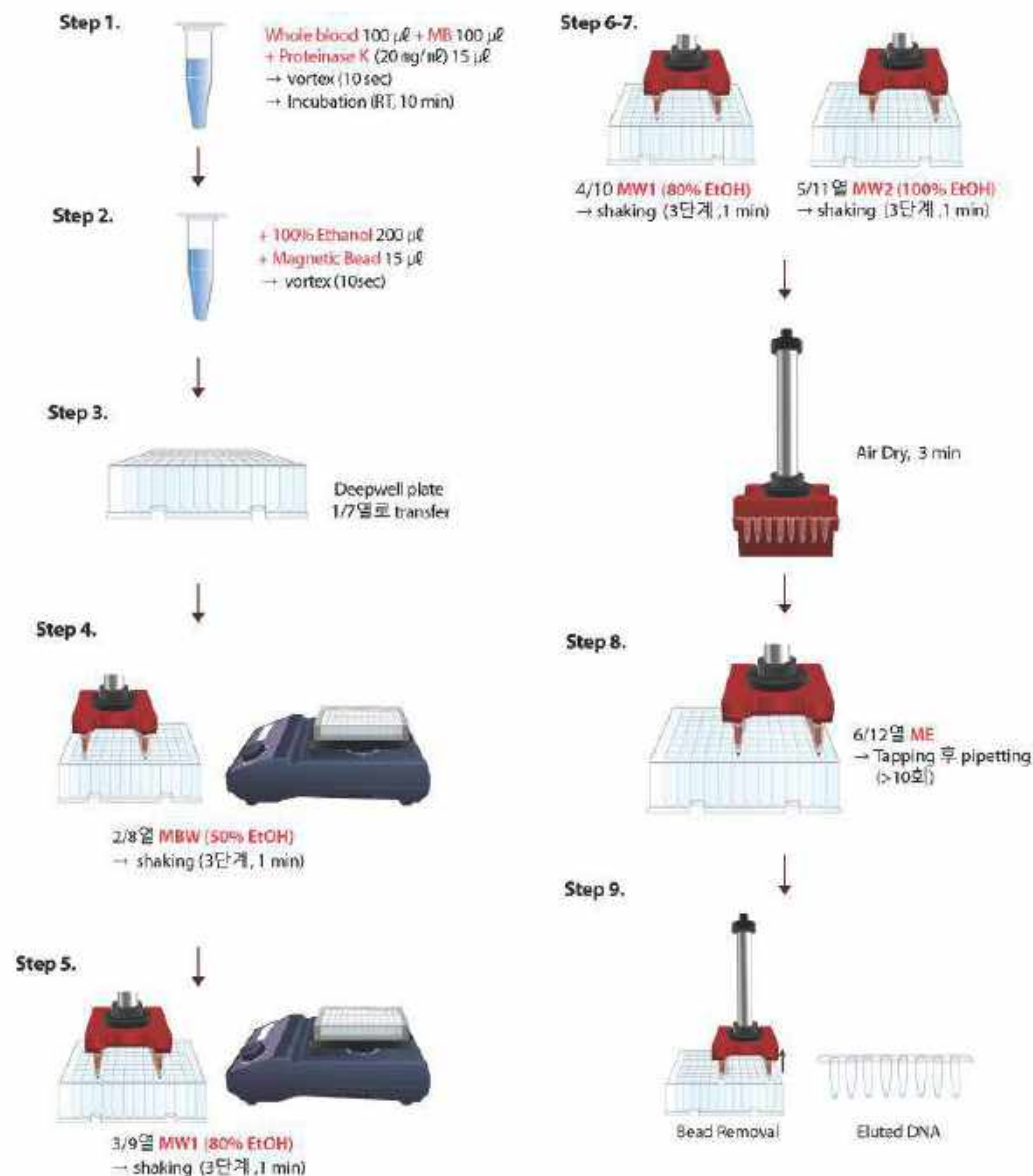
Magnetic Bead Washing & Dry

- 4 : **MBW**가 분주된 deepwell plate 2/8열에 bead가 부착된 adaptor 8-strip에서 Pipettor분리
→ Tapping 후 shaking(3단계, 1 min)
→ Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (1st. washing)
- 5 : **MW1** 이 분주된 deepwell plate 3/9열에 bead가 부착된 adaptor 8-strip에서 Pipettor분리
→ Tapping 후 shaking(3단계, 1 min)
→ Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (2nd. washing)
- 6 : **MW1** 이 분주된 deepwell plate 4/10열에 bead가 부착된 adaptor 8-strip에서 Pipettor분리
→ Tapping 후 shaking(3단계, 1 min)
→ Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (3rd. washing)
- 7 : **MW2**가 분주된 deepwell plate 5/11열에 bead가 부착된 adaptor 8-strip에서 Pipettor분리
→ Tapping 후 shaking(3단계, 1 min)
→ Adaptor plate를 pipettor에 다시 장착 후 bead 회수 (4th. washing)
- 8 : Air dry, 3 min (RT)

DNA Elution

- 9 : **ME**가 분주된 deepwell plate 6/12열에 bead가 부착된 adaptor 8-strip에서 Pipettor분리
→ Tapping 후 pipetting 10회 → Adaptor 8-strip을 pipettor에 다시 장착 후 bead회수
→ Eluted DNA를 agarose gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

Work Flow



✓ Preparation.

1. MBW Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 30 ml** 를 넣어 사용
Fresh하게 사용하시도록 MBW는 2 EA를 제공해드리며, 각 bottle에 100% Ethanol 30 ml 혼합하여 사용
2. MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol 64 ml** (100 prep 기준)를 넣어 사용
제공해드린 MW1를 다 사용하신 후, 80% EtOH(80 ml)에 MW1 Additive 400 µl 첨가하여 사용
3. Kit에 포함된 Enzyme(freezing dry 상태)은 DW에 녹여 사용하시고 4 °C or -20 °C 에 보관
4. Sample
• Fresh하게 채취한 Blood 200 µl 사용 (1주일 이내 채취한 blood사용 권장)

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1: **Whole Blood 200 µl + Proteinase K (20mg/ml) 30 µl** → Vortex (10 sec)
- 2: **MB 200 µl** 첨가 후 vortex (10 sec) → Incubation (60 °C, 10min)
- 3: **100% EtOH 400 µl** 첨가 후 10회 inverting

Magnetic Bead Binding

- 4: **Magnetic bead 30 µl** 첨가 후 vortex (10 sec)
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. (Pipetting하여 제거 권장)

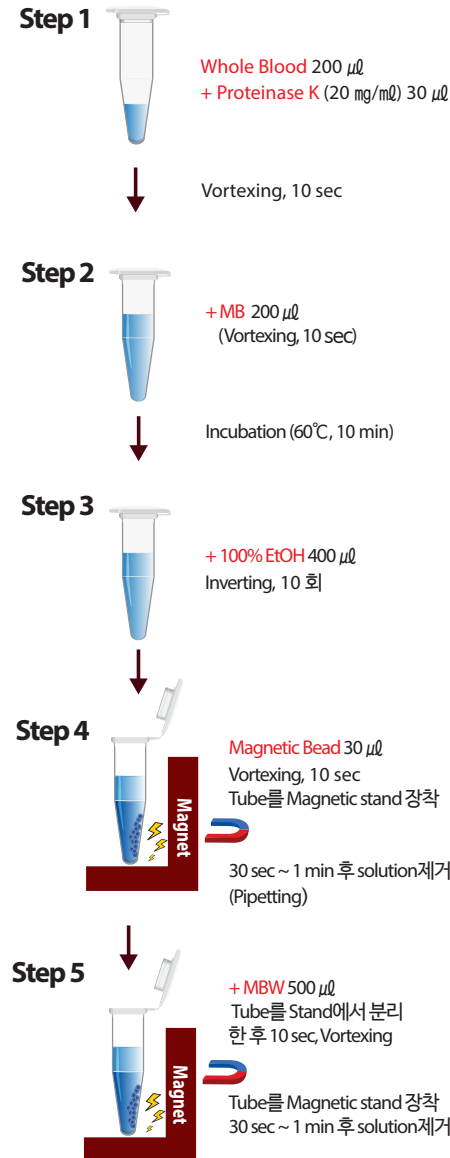
Magnetic Bead Washing & Dry

- 5: **MBW (50% Ethanol) 500 µl** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 제거 **동일한 방법으로 한번 더 washing (총 2회)**
- 6: **MW1 (80% Ethanol) 750 µl** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 제거
- 7: **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 앞면을 heating해주세요.
Dry oven에 건조 시 오염 방지를 위해 aluminium foil을 덮어 건조해 주세요.

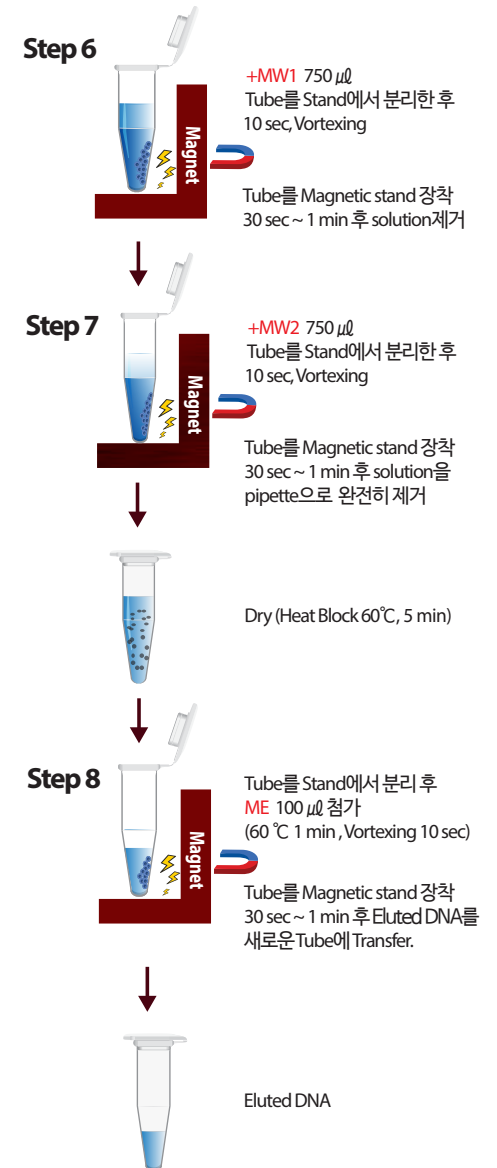
DNA Elution

- 8: Stand에서 1.5ml tube를 분리 후 **ME 100 µl** 첨가
→ Incubation (60 °C, 1 min), Vortexing (10 sec) or Tapping
→ Magnetic bead를 stand에 장착 후 1 min 뒤 eluted DNA를 새로운 1.5ml tube에 옮김
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4 °C 또는 -20 °C 에서 보관

✓ Work Flow



2회 반복



☑ 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 피할 것.
- 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.
- Magnetic Separation Stand, 96well Magnetic Stand, 96well Magnetic Pipettor를 dry oven이나 heat gun에 장시간 노출할 경우 화상 주의

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- RNase A는 1차 사용 후 냉동(냉장)보관하며 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.



☑ Equipment and Reagent to Be supplied by User

	Cat.No	제품명	사진
Instrument	SJ1-MBP96 / SJ1-MBP16	96 well Magnetic Bead Pipettor / 16 well Magnetic Bead Pipettor + 2.0 mm 육각봉렌치	
	SJ1-MSS96 / SJ1-MSS11	Magnetic Separation Stand(96well, 8-strip) / Magnetic Separation Stand (1.5 ml, 50 ml)	
	SL-8220	SCIOLOGEX MX-M Microplate Mixer	
	기타	Heat Block / Dry Oven	
Labware	PW681-050	Adaptor plate (0.2 ml standard profile PCR 96well plate-Non-skirted)	
	K58001	Adaptor 8-strip (Tear-off 0.2 ml Thin-Wall 8-Tube Strip)	
	PU-961h	Collection plate	
	DP-9640	96 Square Deep Well Plate (1.0 ml)	
	EMT-1530pk	1.5 ml Micro tube, Blue (E-Beam, sterilize)	
	기타	Pipette & Tips / Reservoir / Ethanol / Isopropanol	