



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.



• Upgrade • Gel&PCR Purification System
[For Column, FB Plate]

MEMO

Table of Contents.

• 제품 구성품	-----	1
• Know-How	-----	2
• Gel & PCR Purification System for Column [Dimer Removal Condition]	-----	3
• Gel & PCR Purification System for Column [High Yield Condition]	-----	7
• Gel & PCR Purification System for Multi-well DNA Binding Plate [Vacuum]	-----	11
• Gel & PCR Purification System for Multi-well DNA Binding Plate [Centrifuge]	---	13
• Troubleshooting	-----	15
• 주의사항	-----	16

✓ 구성품 용량

	GP104-100	GP104-200	GP314-48h
Prep	100	200	4,800
UB	150 ml	300 ml	1,500 ml
EB	25 ml	25 ml	200 ml
HelpB	50 ml	50 ml	-
NWB	100 ml	200 ml	(*)WB Bottle 1 ea
Spin Column	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea	-
Collection Tube	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea	-
FB plate	-	-	-
Collection plate	-	-	-
Sealing Film	-	-	-
Quick Guide	1 매	1 매	1 매

※ FB plate, Collection plate, Sealing Film은 별도 구매 가능합니다.

✓ Know-How for Preparation

- UB 시약[Orange]에는 pH Indicator가 포함되어 있습니다. pH가 변하여 Purple색으로 색상이 변할 경우, 수율이 떨어질 수 있으므로 색상을 확인 후 사용하도록 합니다. 또한, Column의 HelpB 처리 유무를 확인할 수 있습니다.



- WB(80% EtOH)는 실험시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다. (*)
- PCR Product에 UB 첨가 후 충분히 혼합해 주셔야 합니다.
 - UB가 완전히 반응할 때까지 섞어주지 않을 경우 정제 효율이 낮아질 수 있습니다.
 - Buffer 첨가 후 4 ~ 5 회 정도 부드럽게 pipetting하여 buffer와 샘플을 충분히 혼합합니다.
- EB 사용전에 Column을 공회전하여 EtOH를 충분히 제거합니다. (*)
- PCR Product 정제 목적에 따라 Dimer Removal Condition, High Yield Condition, Gel Extraction 방법을 선택합니다. (Gel Extraction은 High Yield 방법으로 진행)
- Gel Extraction 시 효율을 높이기 위해서는
 - High quality agarose를 사용합니다.
 - UB에 Gel block을 넣고 50 ~ 65°C에서 완전히 녹인 후 Column에 첨가합니다.
 - %가 높은 agarose gel에서 정제 시 UB를 6배 이상 넣어서 완전히 녹여줍니다.
- DNA Column Binding전 HelpB를 이용하여 Column을 washing하면 더 높은 yield의 DNA를 얻을 수 있습니다.
- UB는 주변 온도가 낮아지면 결정이 생길 수 있습니다. 이런 경우에는 전자렌지 또는 Dry oven에서 heating시켜 녹인 후 사용합니다.
- DNA elution 시 EB를 50°C에서 10분정도 Pre-heating 시킨 후 Elution하면 효율이 높아집니다. (특히, Large DNA fragment의 경우)
- 기타 High Yield를 위한 Know-How는 카탈로그의 Q.C data page를 참고하세요.

(*) 80% EtOH로 WB 사용할 경우만 해당

※ Washing Buffer : **NWB**로 사용할 경우

✓ Preparation.

1. Sample

- Size에 상관없이 PCR 산물에 Primer Dimer가 있는 경우
- Cloning, Sequencing을 위해 Purification을 진행하는 경우

✓ Protocol.

- 1: PCR Sample + Sample의 5배 Volume의 UB 혼합
(예 : PCR sample 50 μ l + UB 250 μ l)

Column Binding

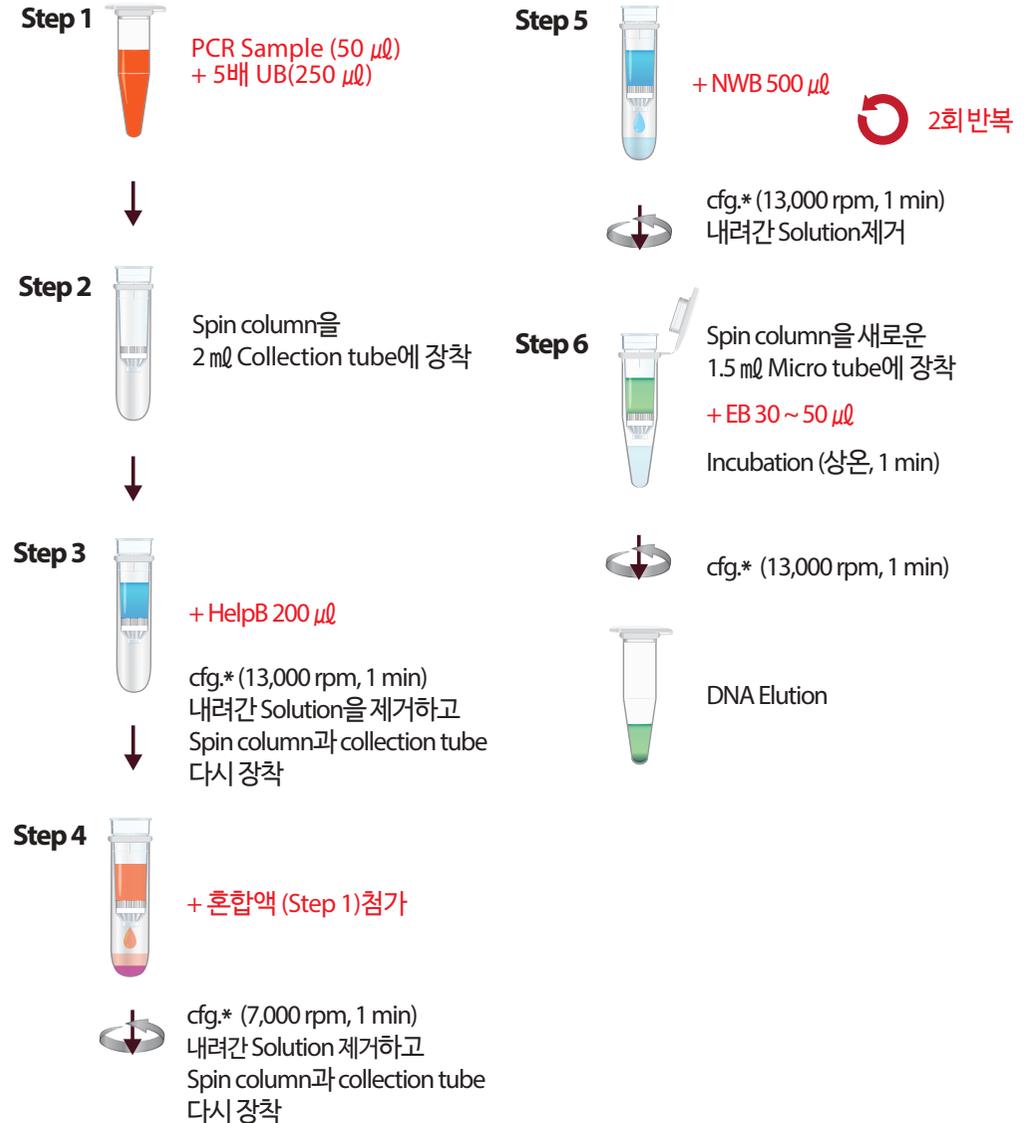
- 2: Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
- 3: HelpB 200 μ l 첨가 → cfg. (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 4: Step 1의 혼합액을 Spin column에 첨가 → cfg. (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

Column Washing

- 5: Spin column에 NWB 500 μ l 첨가
cfg.(13,000 rpm, 1 min) → 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing

DNA Elution

- 6: Spin column을 새로운 1.5 ml Micro tube에 장착
EB 30 ~ 50 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min) → cfg.(13,000 rpm, 1 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



* cfg.: 원심분리

※ Washing Buffer : 80% EtOH로 사용할 경우

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. Sample
 - Size에 상관없이 PCR 산물에 primer dimer가 있는 경우
 - Cloning, Sequencing을 위해 purification을 진행하는 경우

✓ Protocol.

- 1 : PCR Sample + Sample의 5배 Volume의 UB 혼합
(예 : PCR sample 50 μ l + UB 250 μ l)

Column Binding

- 2 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
- 3 : HelpB 200 μ l 첨가 → cfg. (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 4 : Step 1의 혼합액을 Spin column에 첨가 → cfg. (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

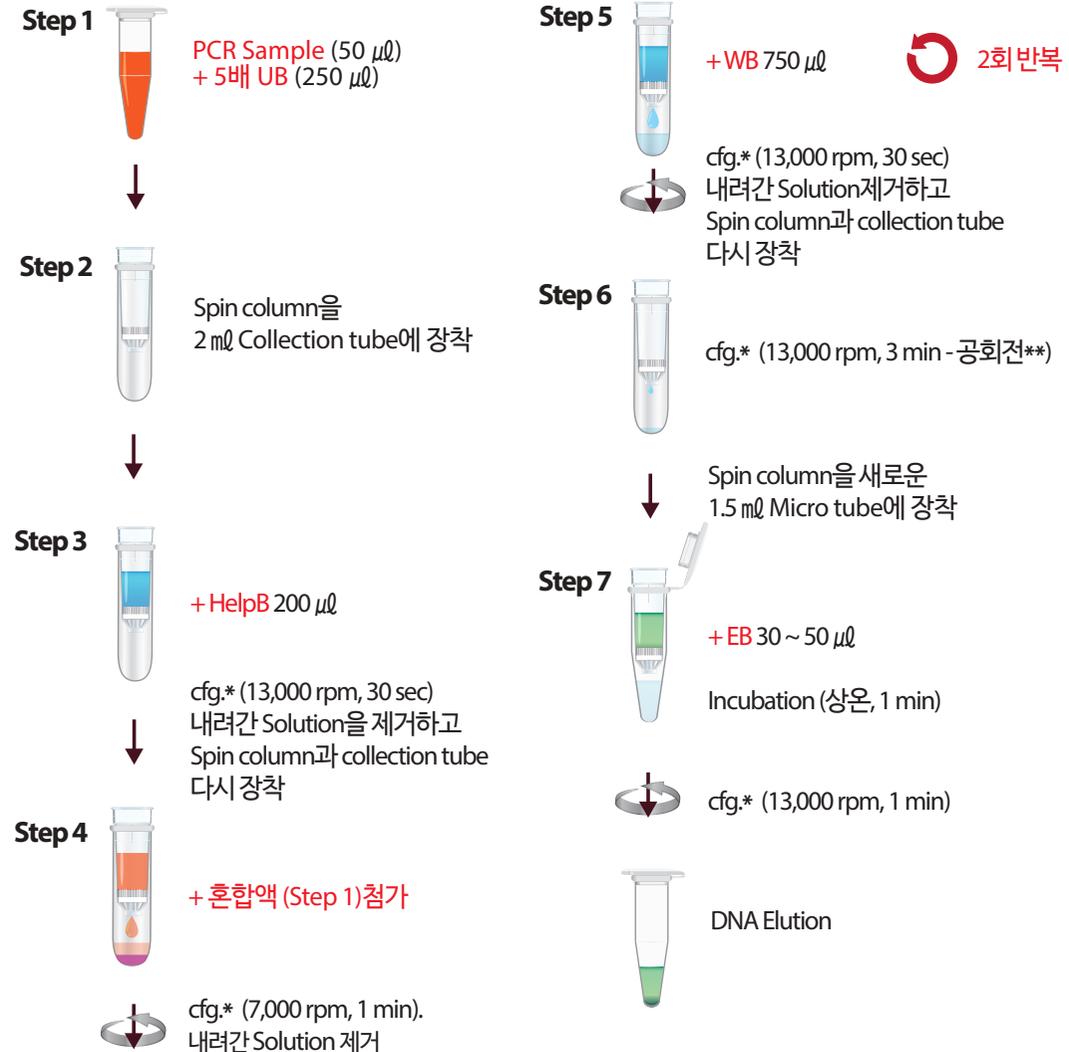
Column Washing & Dry

- 5 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 750 μ l 첨가
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 : EB 30 ~ 50 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
→ cfg. (13,000 rpm, 1 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



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

Gel&PCR Purification System

※ Washing Buffer : **NWB**로 사용할 경우

✓ Preparation.

1. High Yield Condition 이용 시, Isopropanol 준비
2. Sample
 - 정제하려는 PCR 산물의 Size가 100 bp 이하인 경우
 - Primer dimer에 상관없이 높은 회수율을 얻고자 하는 경우
 - Background band로 target band만 회수하고자 하는 경우 (Gel Extraction)

✓ Protocol.

- 1-1 : PCR Sample + Sample의 3배 Volume의 UB 혼합 + 2배 Volume Isopropanol 혼합
(예 : PCR sample 50 μ l + UB 150 μ l + Isopropanol 100 μ l)
- 1-2 : 정제할 DNA를 포함한 Gel 부분을 자르고, Gel Block을 1.5 ml Micro tube로 옮긴 후 무게 측정 → Gel Block의 3배 volume UB 첨가 → Incubation (65°C, 10 min 이상)
→ Gel Block과 동량의 Isopropanol 첨가
(예 : Gel Block 100 mg (약 100 μ l 해당) + UB 300 μ l + incubation 후, Isopropanol 100 μ l 첨가)
2% 이상의 Gel 사용시 6배 volume의 UB 첨가

Column Binding

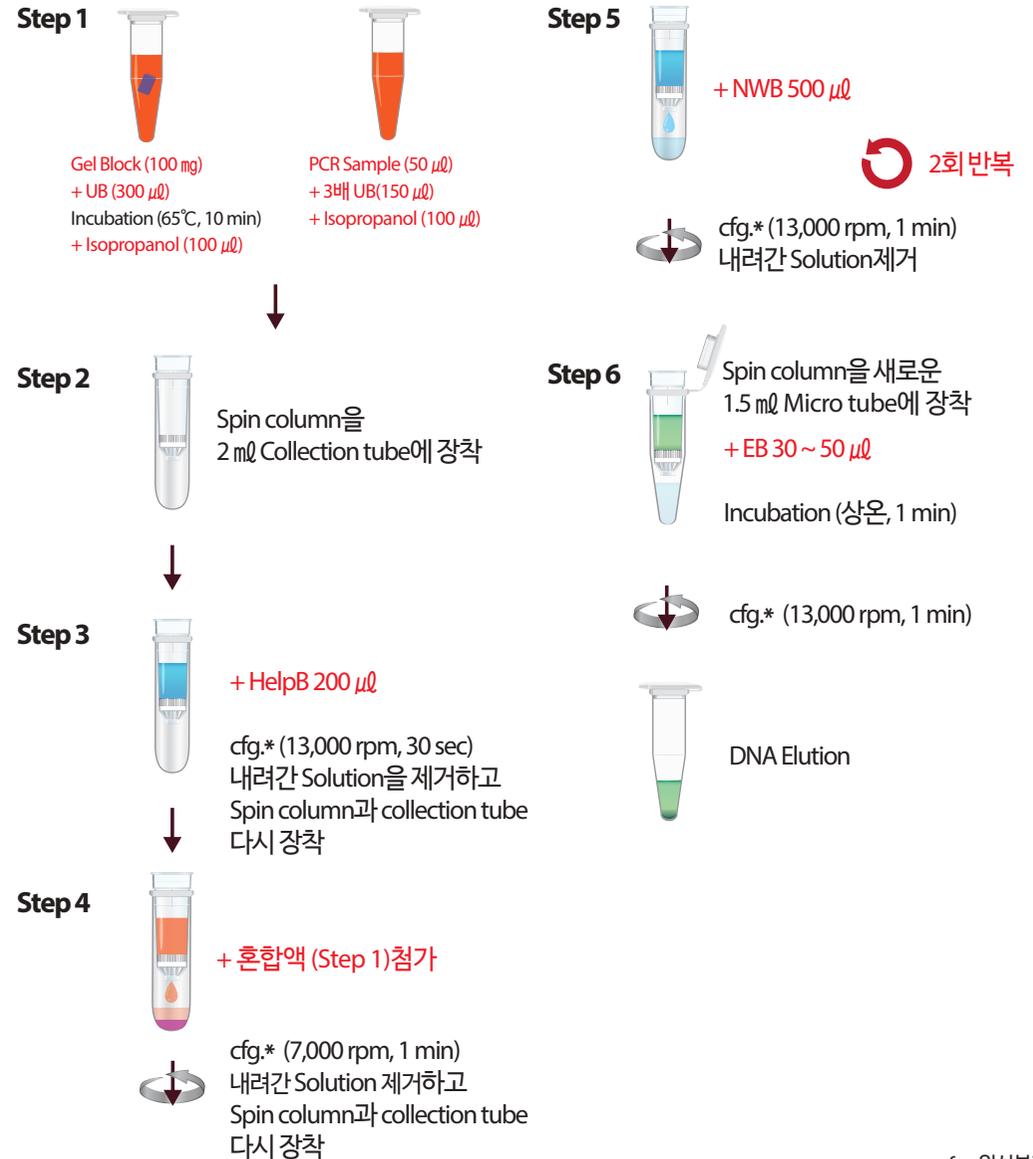
- 2 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
- 3 : HelpB 200 μ l 첨가 → cfg. (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

Column Washing

- 4 : Step 1의 혼합액을 Spin column에 첨가 → cfg. (7,000 rpm, 1 min)
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 5 : Spin column에 NWB 500 μ l 첨가
cfg. (13,000 rpm, 1 min) → 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing

DNA Elution

- 6 : Spin column을 새로운 1.5 ml Micro tube에 장착
EB 30 ~ 50 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
→ cfg. (13,000 rpm, 1 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



* cfg.: 원심분리

Gel&PCR Purification System

※ Washing Buffer : WB (80% EtOH)로 사용할 경우

[Cat. No. GP104-100, GP104-200]

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. High Yield Condition 이용 시, Isopropanol 준비
3. Sample
 - 정제하려는 PCR 산물의 Size가 100 bp 이하인 경우
 - Primer dimer에 상관없이 높은 회수율을 얻고자 하는 경우
 - Background band로 target band만 회수하고자 하는 경우 (Gel Extraction)

✓ Protocol.

- 1-1 : PCR Sample + Sample의 3배 Volume의 UB 혼합 + 2배 Volume Isopropanol 혼합
(예 : PCR sample 50 μ l + UB 150 μ l + Isopropanol 100 μ l)
- 1-2 : 정제할 DNA를 포함한 Gel 부분을 자르고, Gel Block을 1.5 ml Micro tube로 옮긴 후 무게 측정 → Gel Block의 3배 volume UB 첨가 → Incubation (65°C, 10 min 이상)
→ Gel Block과 동량의 Isopropanol 첨가
(예 : Gel Block 100 mg (약 100 μ l 해당) + UB 300 μ l + Incubation 후 Isopropanol 100 μ l 첨가)
2% 이상의 Gel 사용시 6 배 volume의 UB 첨가

Column Binding

- 2 : Spin column을 2 ml Collection tube에 장착
- 3 : HelpB 200 μ l 첨가 → cfg. (13,000 rpm, 30 sec) 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 4 : Step 1의 혼합액을 Spin column에 첨가 → cfg. (7,000 rpm, 1 min) 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

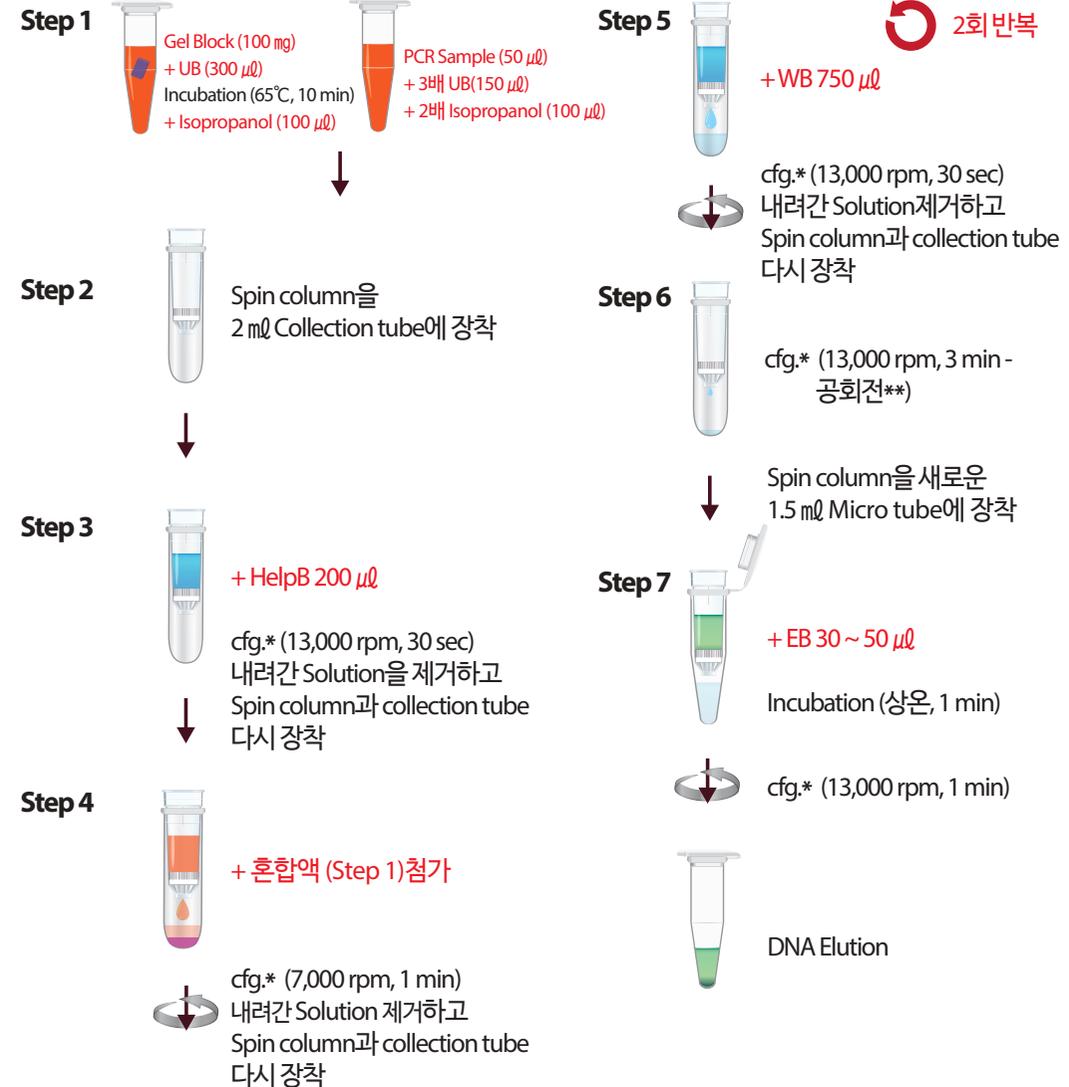
Column Washing & Dry

- 5 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 750 μ l 첨가
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 Spin column에 아무것도 넣지 않고 원심분리 수행

DNA Elution

- 7 : EB 30 ~ 50 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
→ cfg. (13,000 rpm, 1 min) → Spin column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관



* cfg. : 원심분리
공회전** : Column에 아무것도 넣지 않고 원심분리 (혹은 Vacuum (EtOH제거))

※ Washing Buffer : 80% EtOH로 사용할 경우

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. High Yield Condition 이용 시, Isopropanol 준비
3. Sample

[Dimer Removal Condition]

- Size에 상관없이 PCR 산물에 primer dimer가 있는 경우
- Cloning, Sequencing을 위해 purification을 진행하는 경우

[High Yield Condition/ Gel Extraction]

- 정제하려는 PCR 산물의 Size가 100 bp 이하인 경우
- Primer dimer에 상관없이 높은 회수율을 얻고자 하는 경우
- Background band로 target band만 회수하고자 하는 경우 (Gel Extraction)

✓ Protocol.

- 1 : PCR Product + UB 혼합
(정제하고자 하는 방법에 따라 선택하여 진행, [[Column정제 페이지 p. 3-6] 참조])

DNA Binding

- 2 : FB Plate에 Step1의 혼합액을 넣은 후 96 well vacuum manifold 위에 장착,
Vacuum (3 min)
(예 : 혼합한 용액이 300 μ l 일 경우, 150 μ l을 넣고 vacuum, 동일과정 반복)

DNA Washing & Dry

- 3 : WB (80% Ethanol) 200 μ l를 FB Plate에 첨가 → Vacuum (1 min)
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 4 : Vacuum (5 min - 공회전*) → FB Plate 건조 (Dry oven, 5~10 min)
(Option : 3,000 rpm, 10 min 원심분리할 경우 더 효과적으로 WB를 제거)
※ 공회전* : WB를 완전히 제거하기 위해 아무것도 넣지 않고 vacuum(원심분리) 수행

DNA Elution

- 5 : FB plate의 membrane 중앙에 Buffer EB 30 ~ 50 μ l 또는 멸균된 증류수 첨가
Incubation (상온, 1 min)
→ FB plate – 96 well vacuum manifold – New Collection plate 순서로 장착
→ Vacuum (5 min), Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

Step 1

Method 1.

PCR Sample (50 μ l)
+ 5배 UB(250 μ l)

Method 2.

PCR Sample (50 μ l)
+ 3배 UB(150 μ l)
+ 2배 Isopropanol(100 μ l)

Method 3.

Deep well plate
+
Gel Block (100 mg) + UB (300 μ l)
Incubation (65°C, 10 min)
+ Isopropanol 100 μ l

deep well plate를 이용하여
Gel block을 녹이면 편하게
진행 가능
Incubation (65°C, 30 min)

Step 2

FB plate
Vacuum manifold

FB plate를 Vacuum Manifold에 장착
혼합액(Step 1) 첨가

Vacuum 3 min

Step 3

FB plate
Vacuum manifold

WB 200 μ l
Vacuum 2 min

2회 반복

Step 4

FB plate
Vacuum manifold
Collection plate (New)

Vacuum 5 min (공회전**)
Dry oven 5 ~ 10 min

+ EB 30 ~ 50 μ l
Incubation (상온, 1 min)
Vacuum manifold 안에
NEW collection plate장착

Step 5

DNA Elution

Vacuum 5 min

**공회전 : Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(혹은 Vacuum (EtOH제거))

※ Washing Buffer : 80% EtOH로 사용할 경우

✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. High Yield Condition 이용 시, Isopropanol 준비
3. Sample

[Dimer Removal Condition]

- Size에 상관없이 PCR 산물에 primer dimer가 있는 경우
- Cloning, Sequencing을 위해 purification을 진행하는 경우

[High Yield Condition/ Gel Extraction]

- 정제하려는 PCR 산물의 Size가 100 bp 이하인 경우
- Primer dimer에 상관없이 높은 회수율을 얻고자 하는 경우
- Background band로 target band만 회수하고자 하는 경우 (Gel Extraction)

✓ Protocol.

- 1 : PCR Product + UB 혼합
(정제하고자 하는 방법에 따라 선택하여 진행, ([Column정제 페이지 p. 3-6] 참조))

DNA Binding

- 2 : FB plate에 Step1의 혼합액을 첨가
FB plate – Adaptor - Collection plate 순서로 장착 → cfg. (2,000 rpm, 3 min)
Collection plate에 내려간 Solution 제거 → FB plate 다시 장착
(예 : 혼합한 용액이 300 μl일 경우, 150 μl을 넣고 Centrifuge, 동일과정 반복)

DNA Washing & Dry

- 3 : WB (80% Ethanol) 200 μl를 FB plate에 첨가 → cfg. (2,000 rpm, 3 min)
Collection plate로 내려간 Solution 제거 후 동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 4 : cfg. (3,600 rpm, 10 min - 공회전*) → FB plate 건조 (Dry oven, 5~10 min)
(Option : 원심분리 후 FB plate 하단의 column이 하얗게 변하지 않고 젖어있을 경우 5 min 더 원심분리)
※ 공회전** : WB를 완전히 제거하기 위해 아무것도 넣지 않고 vacuum(원심분리) 수행

DNA Elution

- 5 : FB plate의 membrane 중앙에 Buffer EB 30 ~ 50 μl 또는 멸균된 증류수 첨가
Incubation (상온, 1 min) → FB plate – Adaptor - New Collection plate 순서로 장착
→ cfg. (3,600 rpm, 5 ~ 10 min), Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인
→ 4°C 또는 -20°C에서 보관

Step 1

Method 1.

PCR Sample (50 μl)
+ 5배 UB(250 μl)

Method 2.

PCR Sample (50 μl)
+ 3배 UB(150 μl)
+ 2배 Isopropanol(100 μl)

Method 3.

Deep well plate
deep well plate를 이용하여
Gel Block을 녹이면 편하게
진행 가능
Incubation (65°C, 30 min)

Gel Block (100 mg) + UB (300 μl)
Incubation (65°C, 10 min)
+ Isopropanol 100 μl

Step 2

Clean up plate, Adaptor, FB plate, Adaptor, Collection plate 순서로 장착
혼합액 (Step 1)첨가

cfg.* (2,000 rpm, 3 min)
내려간 Solution 제거

Step 3

WB 200 μl
cfg.* (2,000 rpm, 3 min)
내려간 Solution 제거

2회 반복

cfg.* (3,600 rpm, 10 min-공회전**)
Dry oven 5~10 min

Step 4

+ EB 30 ~ 50 μl
Incubation (상온, 1 min)
FB plate, Adaptor, New Collection plate
순서로 장착
cfg.* (3,600 rpm, 5 ~ 10 min)

Step 5

DNA Elution

* cfg. : 원심분리
공회전** : Column에 아무것도 넣지 않고 원심분리 (혹은 Vacuum (EtOH제거))

✔ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	01. Washing buffer 를 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.
	02. PCR Product 에 UB 첨가 후 잘 섞어주셨나요? UB (Isopropanol) 첨가 후 충분히 섞어주지 않았을 경우 정제효율이 떨어질 수 있습니다. Buffer 첨가 후 부드럽게 4~5회 Pipetting하거나 Vortexing하여 Buffer와 샘플을 충분히 섞어줍니다.
	03. Column 에 solution을 넣고 원심분리 시 rpm을 너무 높게 돌린 것은 아닌가요? Column에 binding 시킬 solution을 넣고 7,000 rpm보다 높게 돌려도 되나 천천히 원심분리하면 column filter에 DNA가 binding 할 수 있는 기회가 많아져 yield가 높아지게 됩니다.
	04. EB 를 Column 벽면으로 분주하셨나요? Column Type의 경우 filter에 DNA가 결합해 있습니다. 따라서 filter를 충분히 적실 수 있도록 column 중앙부분(filter 부분)에 EB를 넣어서 사용해 보세요.
	05. Gel extraction 수행 시 gel을 완벽하게 녹이셨나요? Gel extraction 시 gel block을 완벽하게 녹이지 않을 경우 gel 속의 DNA가 완벽하게 정제되지 않거나, 녹지 않은 gel이 membrane을 막아 정제효율이 떨어질 수 있습니다. 만약 gel block이 너무 두꺼울 경우 UB buffer를 좀 더 첨가하거나, 5분 정도 추가로 incubation하여 완벽하게 녹이십시오.
	06. Column 사용 전 HelpB 처리를 하셨나요? HelpB는 column filter에 DNA가 좀 더 잘 binding될 수 있도록 도와주는 Buffer입니다. 간단한 step으로 정제효율을 높일 수 있습니다.
	07. HelpB 처리된 Column에서 핑크색 용액이 확인되는게 맞나요? HelpB 시약은 alkaline buffer로 UB에 포함된 pH indicator와 만나면 핑크색으로 변하게 됩니다. Collection Tube에 내려온 용액은 정제에 사용되지 않기 때문에 결과에 영향을 주지 않습니다.
Low Quality DNA	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.

(*) 80% EtOH로 WB 사용할 경우만 해당

✔ 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)보관하며 사용하도록 한다. (장기간 사용하지 않을 경우, 반드시 냉동보관 하도록 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.



(주)바이오팩트
 본사/공장 : 대전광역시 유성구 테크노8로 70