



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.



DaBead™ Gel Extraction Kit
[For Magnetic Bead]

MEMO

Table of Contents.

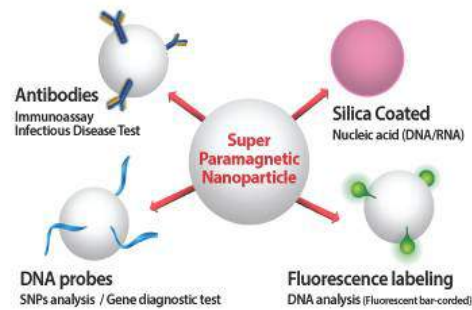
• Description	-----	1
• Know-How	-----	2
• Troubleshooting	-----	3
• Related Product	-----	4
• Gel Extraction	-----	5
• 주의사항	-----	7

Gel Extraction Kit by Magnetic Bead

[Cat. No. GP756-200]

Description

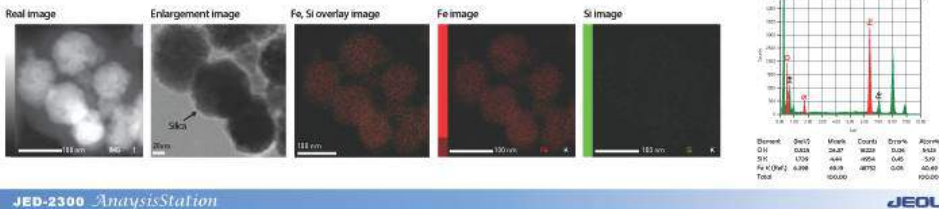
DaBead™ Magnetic Bead는 superparamagnetic nanoparticle 표면을 silica로 coating하여 핵산 정제용으로 개발된 제품입니다. Plasmid, PCR Product, Genomic DNA 등 다양한 시료로부터 쉽고 빠르게 고농도의 DNA를 추출, 정제 할 수 있습니다. 일반 Column type / Solution type의 Prep Kit보다 빠르게 추출이 가능하며, 원심분리 단계를 최소화하여 간편하게 사용 할 수 있습니다. 또한, 현장 진단용 prep kit나 Automation 장비에 응용 가능합니다.



Magnetic Bead Feature

- 균일한 Bead size
- 핵산과 bead의 높은 결합력으로 적은 양의 시료도 정제 가능
- 원심분리 사용없이 단시간에 핵산추출
- 다양한 종류의 시료, 다양한 size의 DNA size 정제에 적용 가능
- 간결한 정제 step으로 미숙련자도 사용 용이
- Bead간 응집반응 최소화
- Bead의 polymer shell로 철의 독성 노출방지

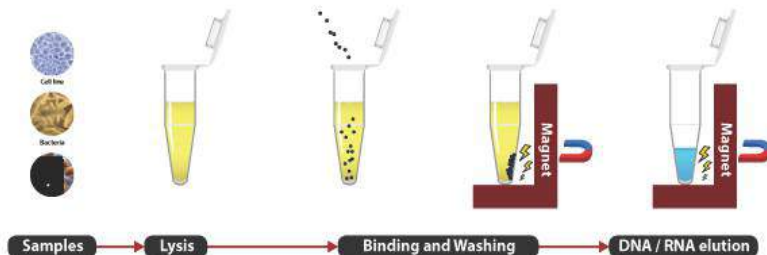
Typical SEM, TEM images of silica coated superparamagnetic nanoparticles



JED-2300 AnalysisStation

JEOL

Preparation Step



Know-How for Preparation

1. Washing Buffer(MGW, MW1)는 실험 시작 전 fresh하게 만들어서 사용하기 바랍니다.
2. DNA Elution 전에 Dry oven, Heat block을 이용하여 EtOH을 충분히 제거합니다.
3. Gel block에 MG 첨가 후 충분히 혼합해 주어야 합니다.
 - MG Buffer 첨가 후 5 ~ 10 sec간 vortexing하여 완전히 반응할 때까지 혼합하지 않을 경우 정제효율이 떨어질 수 있습니다.
4. Gel block 100 mg당 MG 300 μ l + Isopropanol 100 μ l + Bead 50 μ l, ME Buffer 50 μ l을 권장합니다.
 - 예) 200 mg의 경우 MG 600 μ l + Isopropanol 200 μ l + Bead 50 μ l, ME Buffer 50 μ l (Tube당 Bead, Elution volume은 고정)
5. Gel block의 무게가 300mg이 넘는 경우 1.5 ml tube에서 진행하기 어려울 수 있으므로 2개의 tube에 나누어 진행하시길 권장합니다.
6. 농축을 원하시는 경우에는 Elution volume을 30 ~ 35 μ l로 진행해주세요. Magnetic bead 특성상 Elution한 volume보다 적게 회수될 수 있습니다.
7. MG Buffer는 주변 온도가 낮아지면 결정이 생길 수 있습니다. 이런 경우에 60 ~ 65°C water bath 또는 Dry oven에서 heating시켜 녹인 후 사용합니다.
8. HiSol™ Magnetic Separation Stand는 Aluminum 재질로 열전도율이 높아 EtOH 건조 단계에서 dry oven에 장시간 방치하거나 dryer을 사용할 시 온도가 높아질 수 있으므로 주의합니다.
9. ME Buffer 첨가 후 elution 시 60°C, 2~5분 incubation하면 더 높은 yield의 DNA를 회수하실 수 있습니다.
10. 완전히 제거되지 않은 Ethanol은 다음 단계 실험에 영향을 미칠 수 있으므로 Heat block (or dryer, dry oven)을 이용하여 충분히 제거합니다.



11. 기타 문의사항은 (주)바이오팩트 학술서비스팀 (☎ 1670-5695)로 연락주세요.

✓ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	<p>01. Washing buffer를 만든지 오래 된 것은 아닌가요? MGW, MW1 buffer (80% Ethanol)를 만든지 오래 되었을 경우 evaporation으로 인해 Ethanol의 농도가 낮아져 yield가 떨어지게 됩니다. MGW, MW1 buffer를 새로 만들어 사용해 보세요.</p> <p>02. Gel Meting에 MG(Isopropanol) 첨가 후 잘 섞어주셨나요? MG (Isopropanol) 첨가 후 충분히 섞어주지 않았을 경우 정제효율이 떨어질 수 있습니다. Buffer 첨가 후 5 ~ 10 sec간 vortexing하여 Buffer와 샘플을 충분히 섞어줍니다.</p> <p>03. Gel Extraction 시 gel을 완벽하게 녹이셨나요? Gel extraction 시 gel block을 완전히 녹이지 않을 경우, gel 내의 DNA가 완벽하게 정제되지 않을 수 있습니다. gel block이 너무 두꺼울 경우 MG buffer를 더 첨가하거나, 5분 정도 추가로 incubation 하여 완전히 녹인 후 진행해주세요.</p> <p>04. Agarose gel loading 시 Product가 위로 뜨는 현상이 있나요? Washing 처리 후 EtOH을 완벽히 제거하지 않을 경우 gel loading시 sample이 뜨는 현상이 일어날 수 있으므로 완벽히 건조해 주세요.</p>
Low Quality DNA	<p>01. Washing 단계 후 EtOH을 충분히 건조하셨나요? Elution된 DNA에 EtOH이 포함되어 있을 경우 다음 단계의 실험 진행에 문제가 발생할 수 있습니다. 이를 해결하기 위해 Washing 단계 후 Dry oven, Heat block을 이용하여 EtOH을 완전히 건조한 후 한 후 elution 하면 됩니다.</p> <p>02. DNA의 농도가 낮은가요? 낮은 농도의 DNA로 gel extraction을 진행할 경우, purity 측정 시 OD_{260/230}, OD_{260/280} ratio 측정값의 신뢰도가 떨어질 수 있습니다. 농도 측정 시 전기영동을 통해 확인하시는 것을 권장드립니다.</p>
Hard to separate the magnetic beads.	<p>01. DNA의 농도가 너무 높나요? DNA의 농도가 높은 경우 washing 및 Elution 시 magnetic bead가 잘 분리되지 않을 수 있습니다. 1 ~ 3 초간 vortexing후 spin down하여 Magnetic Separation Stand에 재장착 합니다.</p> <p>02. Elution Volume이 너무 적은 것은 아닌가요? 추출된 DNA의 양이 많은 경우, Magnetic bead에 binding된 DNA가 완전히 elution되지 않을 수 있습니다. Elution volume을 늘려 진행하거나 elution이 끝난 bead에 ME buffer를 넣고 elution단계를 진행합니다.</p>

✓ Equipment and Reagent to Be supplied by User

- Magnetic Separation Stand
- Vortexer
- Heat Block
- 1.5 / 2.0 ml tube
- Pipette & Tips
- Ethanol (96 - 100%)
- Isopropanol (100%)
- Option : Dryer, Dry oven

✓ Related Product

Prep Kit	Instrument
<p>BioFACT™ DNA Polymerase [Standard Type] [Master Mix Type] [Pre-Mix Type]</p>	<p>DaBead™ Genomic DNA Prep Kit (For Gram(+), Gram(-), Cultured cell) [Cat. No. GD701-100]</p>
<p>DaBead™ Magnetic Separation Stand (1.5ml x 12 hole, 50 ml x 2 ea) [Cat. No. SJ1-MSS11]</p>	<p>HiSol™ 1.5 ml Micro tube, Sterilized (300 ea / Bottle) [Cat. No. EMT-1530]</p>

✓ Preparation.

1. MGW Bottle에는 반드시 **100% Ethanol을 25 ml** 을 넣어 사용
Fresh하게 사용하도록 MGW는 3 EA를 제공해드리며, 각 bottle에 100% Ethanol 25 ml 혼합하여 사용
2. MW1 Bottle에는 반드시 **100% Ethanol을 64 ml** (100 prep 기준)을 넣어 사용
제공해드린 MW1을 다 사용하신 후, 80% EtOH(80 ml)에 MW1 Additive 400 μ l 첨가하여 사용
3. MW2는 빈 bottle로 제공되며, 100% Ethanol을 넣어 사용

✓ Protocol.

- 1: 정제할 DNA를 포함한 Gel 부분을 자르고, Gel Block을 1.5ml mic ro tube로 옮긴 후 무게 측정 → Gel Block의 3배 volume MG 첨가 → Incubation (65°C, 10 min 이상) → Gel Block과 동량의 Isopropanol 첨가
(예: Gel Block 100mg(약 100 μ l 해당) + MG 300 μ l → Gel이 완전히 녹은 후 Isopropanol 100 μ l)

Magnetic Bead Binding

- 2: Step 1의 혼합액에 Magentic bead 50 μ l 첨가 → 10 sec간 Vortexing
- 3: 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.

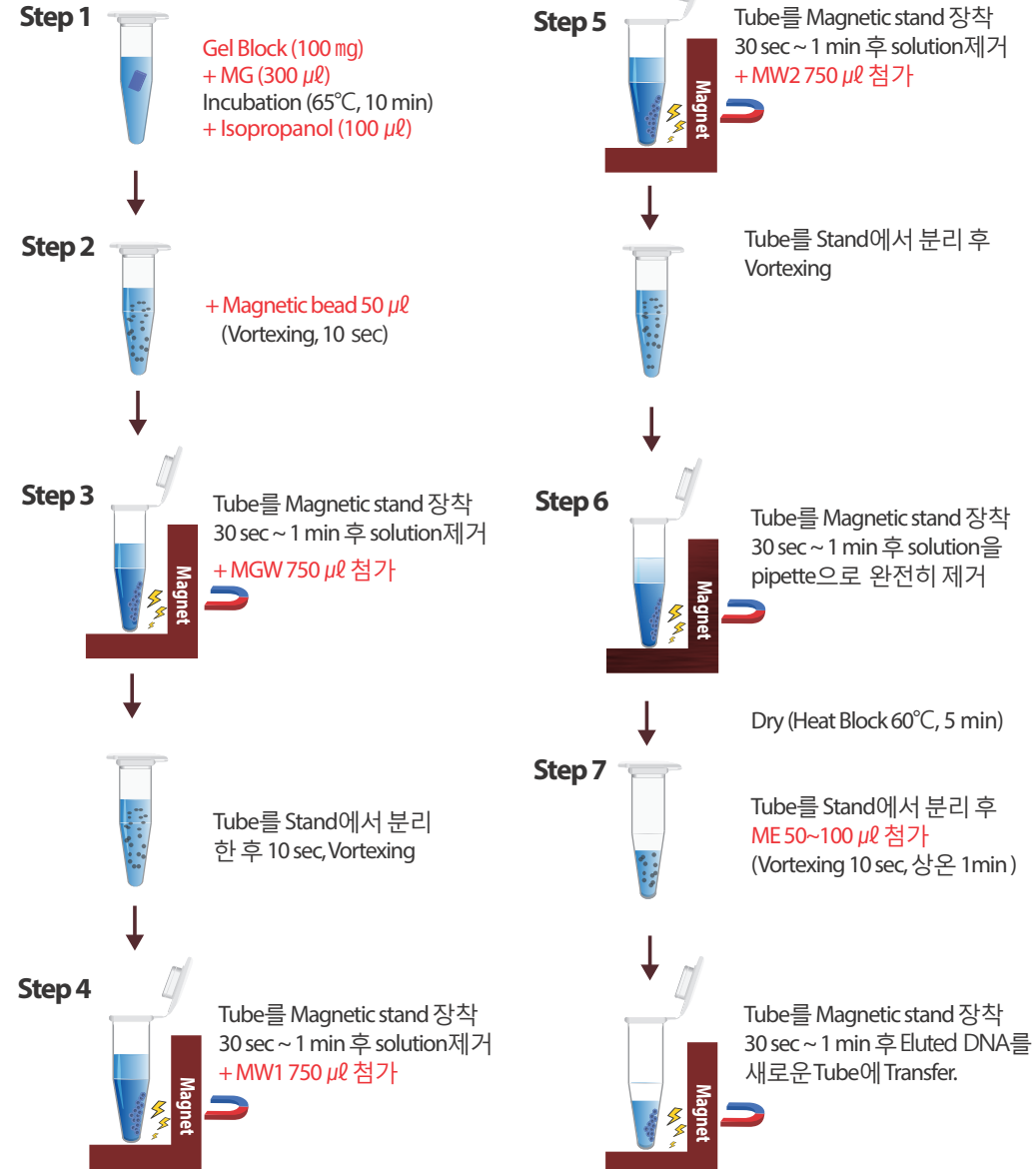
Magnetic Bead Washing & Dry

- 4: MGW (50% Ethanol) 750 μ l 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 제거
- 5: MW1 (80% Ethanol) 750 μ l 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 Vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Pipette으로 Solution 을 완전히 제거
→ 건조(Heat Block (60°C) 5 min / Dryer 3 min / Dry oven (60°C) 10 min)
* Dryer를 사용할 경우, Contamination방지를 위해 1.5 ml tube 옆면을 heating해주세요.
Dry oven에 건조 시 오염 방지를 위해 aluminium foil을 덮어 건조해 주세요.

DNA Elution

- 7: Stand에서 1.5ml tube를 분리 후 ME Buffer를 50 μ l 첨가
→ Vortexing (5 sec) or Tapping, Incubation (상온, 1 min)
→ Magnetic bead를 stand에 장착 후 1 min 뒤 eluted DNA를 새로운 1.5ml tube에 옮김
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

✓ Work Flow



Gel Extraction Kit by Magnetic Bead

[Cat. No. GP756-200]

☑ 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.
- Magnetic Separation Stand를 dry oven이나 heat gun에 장시간 노출할 경우 화상 주의

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- 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.

