

# Quick Guide

Beyond the PCR technology,  
BIOFACT promises the progress for your research.



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)



\* Upgrade \* **Plasmid Mini Prep Kit**  
[For Column, FB Plate]

# Plasmid Mini Prep Kit

[Cat. No. PM101-100, PM105-100, PM311-48h, PM119-200]

## MEMO

### ✓ Table of Contents.

• 제품 구성품	-----	1
• Know-How	-----	2
• Plasmid Mini Prep for Column [Ver. 1.0]	-----	3
• Plasmid Mini Prep for Column [Ver. 2.0]	-----	7
• Plasmid Mini Prep for Multi-well DNA Binding plate [Vacuum]	-----	11
• Plasmid Mini Prep for Multi-well DNA Binding plate [Centrifuge]	-----	13
• Troubleshooting	-----	15
• 주의사항	-----	16

# Plasmid Mini Prep Kit

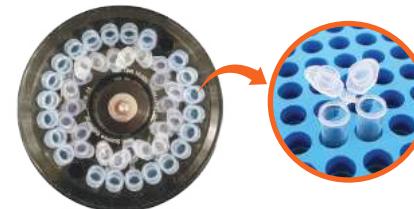
[Cat. No. PM101-100, PM105-100, PM311-48h, PM119-200]

## ✓ 구성품 용량

	PM101-100	PM101-200	PM105-100	PM105-200	PM311-48h
Prep	100	200	100	200	4,800
SP1	30 mL	60 mL	-	-	450 mL
SP2	30 mL	60 mL	-	-	450 mL
SGP3	45 mL	90 mL	-	-	650 mL
B1	-	-	40 mL	80 mL	-
B2	-	-	40 mL	80 mL	-
Help B	50 mL	50 mL	50 mL	50 mL	-
EB	25 mL	25 mL	25 mL	25 mL	200 mL
NWB	100 mL	200 mL	100 mL	200 mL	(*)WB Bottle 1 ea
RNase A	1 ea	1 ea	1 ea	1 ea	45 mg
Blue Indicator	-	-	1 ea	2 ea	-
Spin Column	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea	-
Collection Tube	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea	50 ea x 2 ea	50 ea x 4 ea	-
FB plate	-	-	-	-	-
Collection plate	-	-	-	-	-
Sealing Film	-	-	-	-	-
Quick Guide	1 매	1 매	1 매	1 매	1 매

## ✓ 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. WB(80% EtOH)는 실험시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다.(\*)

3. Cell culture time은 12 ~ 16 hr로 합니다.

4. Culture volume은 3 mL ~ 5 mL로 합니다.

5. SP1에 RNase A 첨가 후 냉장보관합니다. ([ver.2.0] B2 시약도 동일하게 보관)

6. 상층액과 cell debris 분리가 잘 되지 않을 경우 4°C 냉장고 또는 ice에 incubation하였다가 진행 합니다.

7. EB 사용전에 column을 공회전하여 EtOH을 충분히 제거합니다.(\*)

8. 유효기한이 지나지 않은 제품을 사용합니다.

9. SP2 또는 B1 시약 첨가 후 vortexing을 강하게 할 경우 DNA가 degradation될 수 있으므로 주의합니다.

10. SP2, SGP3는 주변 온도가 낮아지면 SDS로 인해 결정이 생길 수 있습니다. 이런 경우에 전자렌지 또는 Dry oven에서 heating시켜 완전히 녹인 후 사용합니다.

11. DNA elution 시 EB 를 50°C에서 10분 정도 pre-heating 시킨 후 elution하면 효율이 높아집니다. (특히, Large sized plasmid의 경우)

12. 기타 High yield를 위한 Know-How는 카탈로그의 QC data page를 참고하세요.

(\*) 80% EtOH로 WB 사용할 경우에만 해당

※ 200 Prep용 제품은 PM101-200[Ver.1.0], PM105-200[Ver.2.0], PM119-200으로 주문 가능합니다.

※ PM119-200 제품의 Spin Column 은 With Attached Cap 입니다.

※ FB plate, Collection plate, Sealing Film은 별도 구매 가능 합니다.

# Plasmid Mini Prep Kit [Ver.1.0]

※ Washing Buffer : NWB로 사용할 경우

[Cat. No. PM101-100, PM101-200, PM119-200]

## ✓ Preparation.

- Kit에 포함된 RNase A (dry 상태)를 Buffer SP1에 섞어준 후에 사용하시고 4°C에 보관

## ✓ Protocol.

### Cell Lysis

- 미생물 배양액 (1 ~ 3 mL) → cfg (10,000 rpm, 1 min) → media 제거  
SP1 (containing RNase A) 250 μL 혼합 → Pellet 혼탁
- SP2 250 μL 첨가 → 4 ~ 6회 Inverting (Vortex 금지)  
SGP3 350 μL 첨가 → 4 ~ 6회 Inverting (Vortex 금지)  
cfg (13,000 rpm, 3 ~ 5 min)

### Column Binding

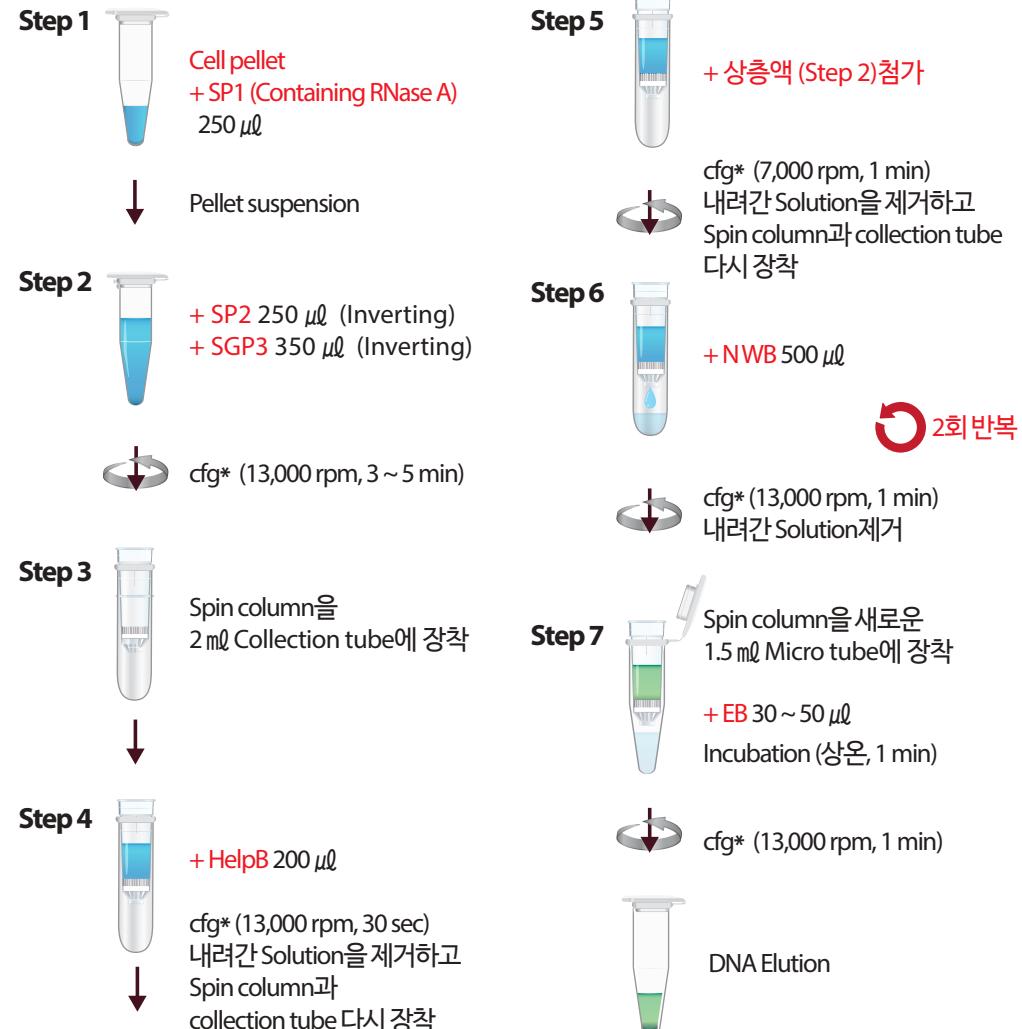
- Spin column을 2 mL Collection tube에 장착
- HelpB 200 μL 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec)  
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- Step 2의 상층액을 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)  
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

### Column Washing

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

### DNA Elution

- Spin column을 새로운 1.5 mL Micro tube에 장착  
EB 30 ~ 50 μL 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

# Plasmid Mini Prep Kit [Ver.1.0]

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

[Cat. No. PM101-100, PM101-200, PM119-200]

## ✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. Kit에 포함된 RNase A (dry 상태)를 Buffer SP1에 섞어준 후에 사용하시고 4°C에 보관

## ✓ Protocol.

### Cell Lysis

1 : 미생물 배양액 (1 ~ 3 mL) → cfg (10,000 rpm, 1 min) → media 제거  
 SP1 (containing RNase A) 250 μL 혼합 → Pellet 혼탁

2 : SP2 250 μL 첨가 → 4 ~ 6회 Inverting (Vortex 금지)  
 SGP3 350 μL 첨가 → 4 ~ 6회 Inverting (Vortex 금지)  
 cfg (13,000 rpm, 3 ~ 5 min)

### Column Binding

- 3 : Spin column을 2 mL Collection tube에 장착
- 4 : HelpB 200 μL 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec)  
 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 5 : Step 2의 상층액을 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)  
 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

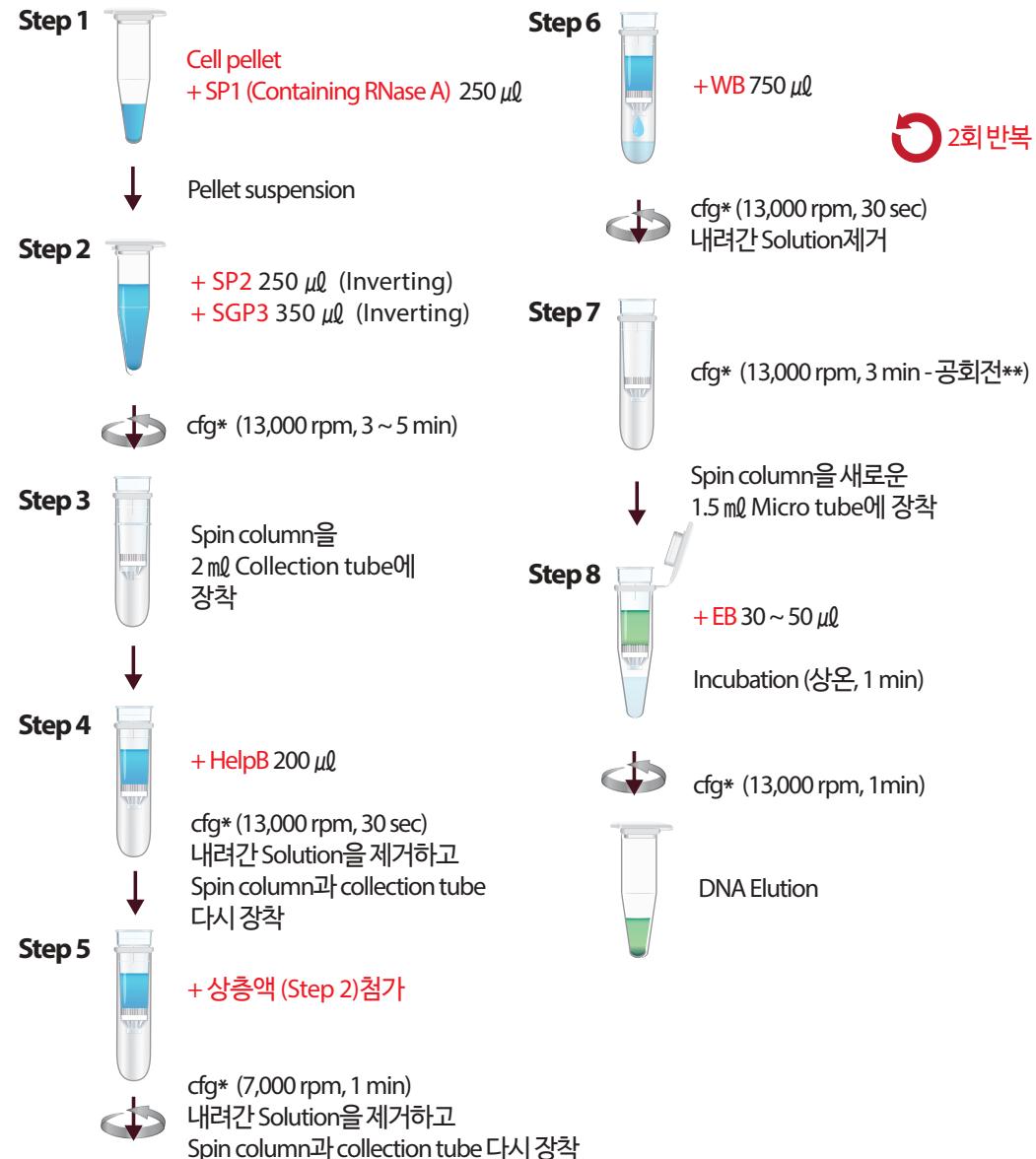
### Column Washing

- 6 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 750 μL 첨가  
 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 : EB 30 ~ 50 μL 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(EtOH제거)

※ Washing Buffer : NWB로 사용할 경우

[Cat. No. PM105-100, PM105-200]

### ✓ Preparation.

1. Kit에 포함된 RNase A (dry 상태)을 Buffer B2에 섞어준 후에 사용하시고 4°C에 보관
2. Kit에 포함된 Blue Indicator (dry 상태)는 100% EtOH로 녹인 후, B1에 모두 넣어 섞은 후에 사용  
Blue Indicator는 pH 변화를 바로 확인하여 실험상의 오류를 줄이기 위해 편의상 제공하는 것으로 사용하지 않으셔도 무방합니다.

### ✓ Protocol.

#### Cell Harvest & Resuspension

- 1 : 미생물 배양액 (1 ~ 3 mL) → cfg (10,000 rpm, 1 min) → media 제거(100 ~ 200 μL 남김)  
→ Vortex (10 ~ 30 sec) 하여 pellet을 완전히 혼탁

#### Cell Lysis

- 2 : B1 350 μL 첨가 → 5 ~ 10회 Inverting (Vortex 사용금지)
- B2 350 μL 첨가 → 5 ~ 10회 Inverting (Vortex 사용금지)
- cfg (13,000 rpm, 3 ~ 5 min)

#### Column Binding

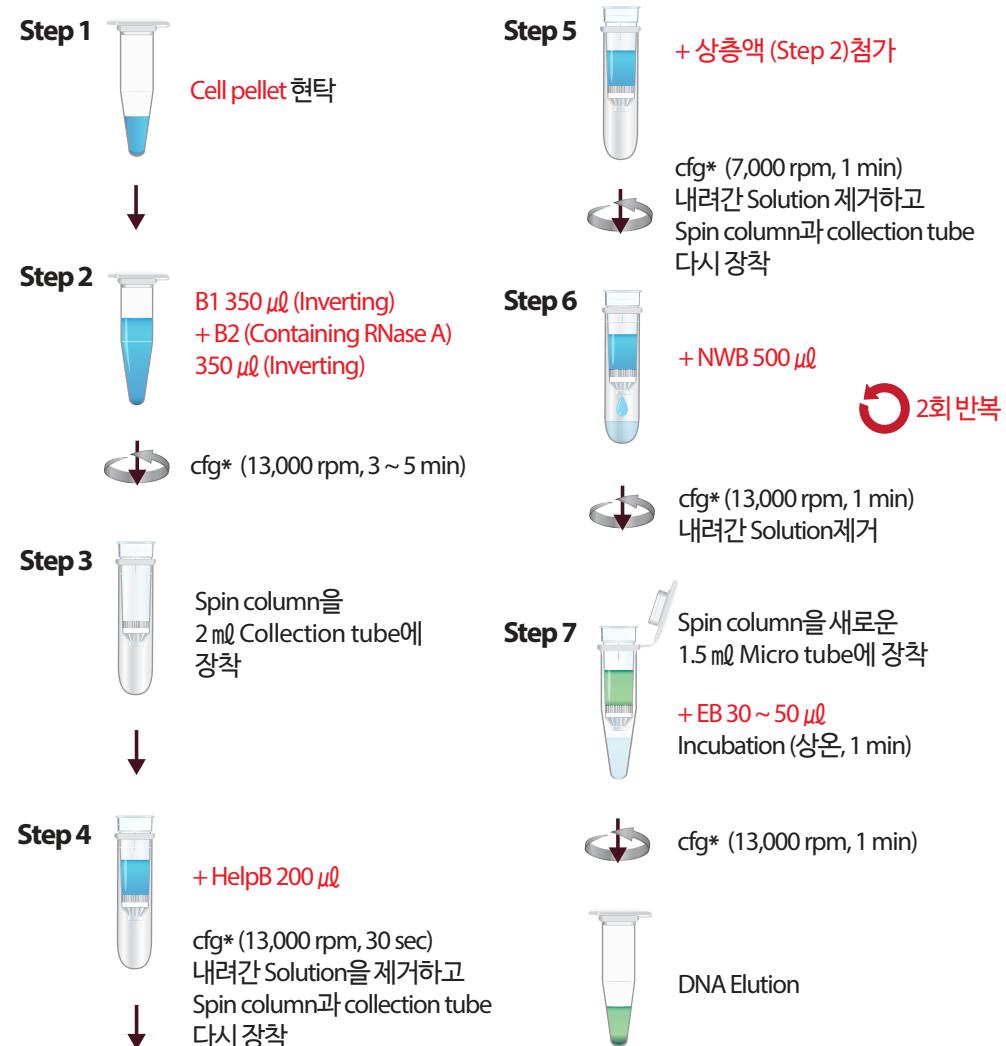
- 3 : Spin column을 2 mL Collection tube에 장착
- 4 : HelpB 200 μL 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec)  
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 5 : Step 2의 상층액을 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)  
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

#### Column Washing

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

#### DNA Elution

- 7 : Spin column을 새로운 1.5 mL Micro tube에 장착  
EB 30 ~ 50 μL 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

# Plasmid Mini Prep Kit [Ver.2.0]

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

[Cat. No. PM105-100, PM105-200]

## ✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80 % Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. Kit에 포함된 RNase A (dry 상태)를 Buffer B2에 섞어준 후에 사용하시고 4°C에 보관
3. Kit에 포함된 Blue Indicator (dry 상태)는 100% EtOH로 녹인 후, B1에 모두 넣어 섞은 후에 사용  
Blue Indicator는 pH 변화를 바로 확인하여 실험상의 오류를 줄이기 위해 편의상 제공하는  
것으로 사용하지 않으셔도 무방합니다.

## ✓ Protocol.

### Cell Harvest & Resuspension

- 1 : 미생물 배양액 (1~3 mL) → cfg (10,000 rpm, 1 min) → media 제거 (100~200 μL 남김)  
→ Vortex (10~30 sec) 하여 pellet을 완전히 혼탁

### Cell Lysis

- 2 : B1 350 μL 첨가 → 5~10회 Inverting (Vortex 사용금지)
- B2 350 μL 첨가 → 5~10회 Inverting (Vortex 사용금지)
- cfg (13,000 rpm, 3 ~ 5 min)

### Column Binding

- 3 : Spin column을 2 mL Collection tube에 장착
- 4 : HelpB 200 μL 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec)  
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착
- 5 : Step 2의 상층액을 Spin column에 첨가 → cfg (7,000 rpm, 1 min)  
내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착

### Column Washing

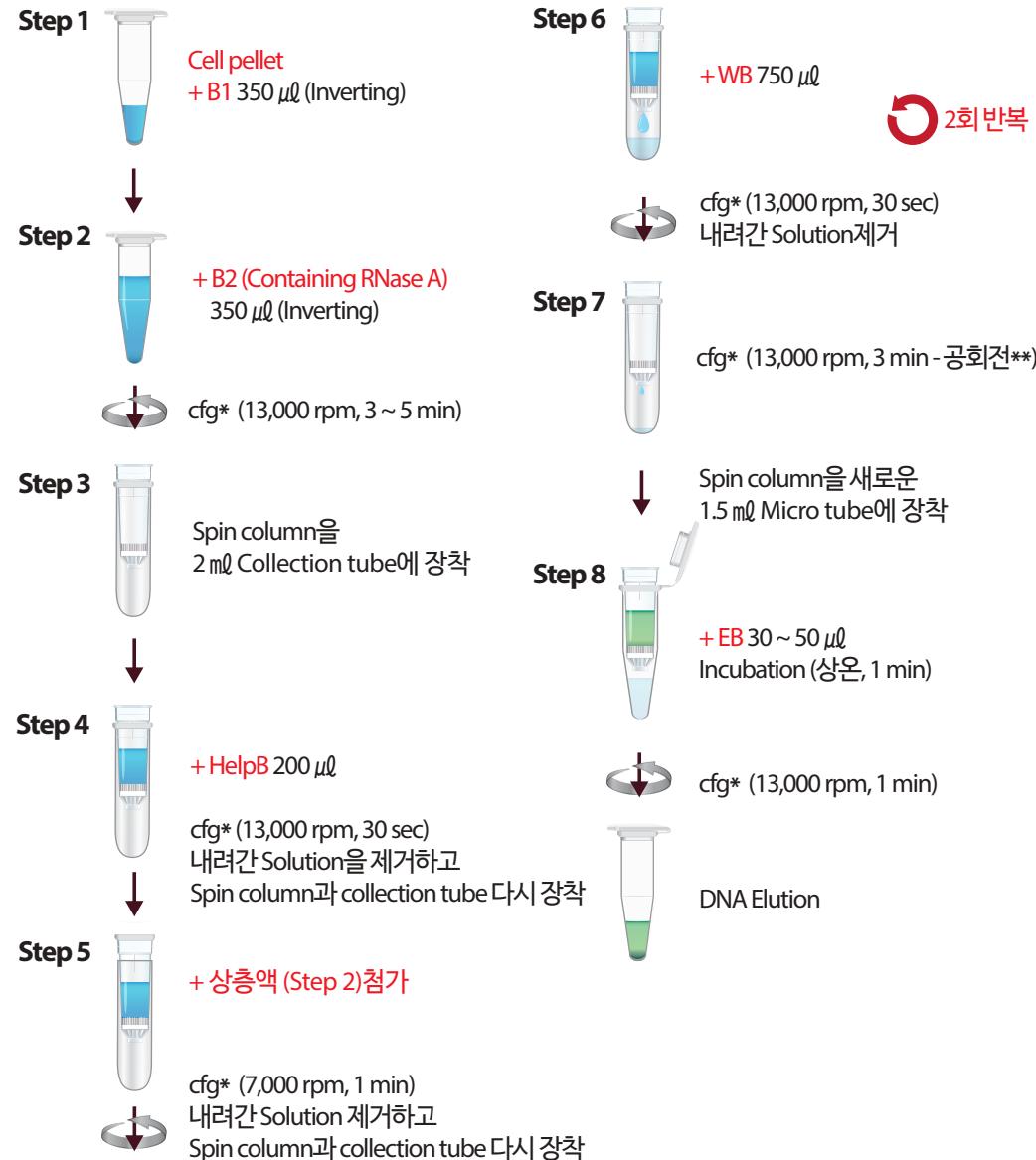
- 6 : Spin column에 WB (80% Ethanol) 750 μL 첨가  
cfg (13,000 rpm, 30 sec) → 내려간 Solution 제거 → Spin column 다시 장착  
동일한 방법으로 한번 더 Washing

- 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 Spin column에 아무것도 넣지 않고 원심분리 수행

### DNA Elution

- 8 : EB 30~50 μL 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(EtOH제거)

# Plasmid Mini Prep Solution [Vacuum]

※ Washing Buffer : 80% EtOH로 사용할 경우

[Cat. No. PM311-48h]

## ✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. Kit에 포함된 RNase A (Powder 상태)를 Buffer SP1에 섞어준 후에 사용하시고 4°C에 보관

## ✓ Protocol.

### Cell Lysis

- 1 : 미생물 배양액 1 mL (96 deep well culture Plate)  
→ cfg (3,600 rpm, 15 min) 후 media 제거  
→ SP1 (containing RNase A) 80 μL 첨가 → Pellet 혼탁
- 2 : SP2 80 μL 첨가 → 4 ~ 6회 Inverting (Vortex 금지)  
SGP3 110 μL 첨가 → 4 ~ 6회 Inverting (Vortex 금지)  
cfg (3,600 rpm, 15 min)

### Column Binding

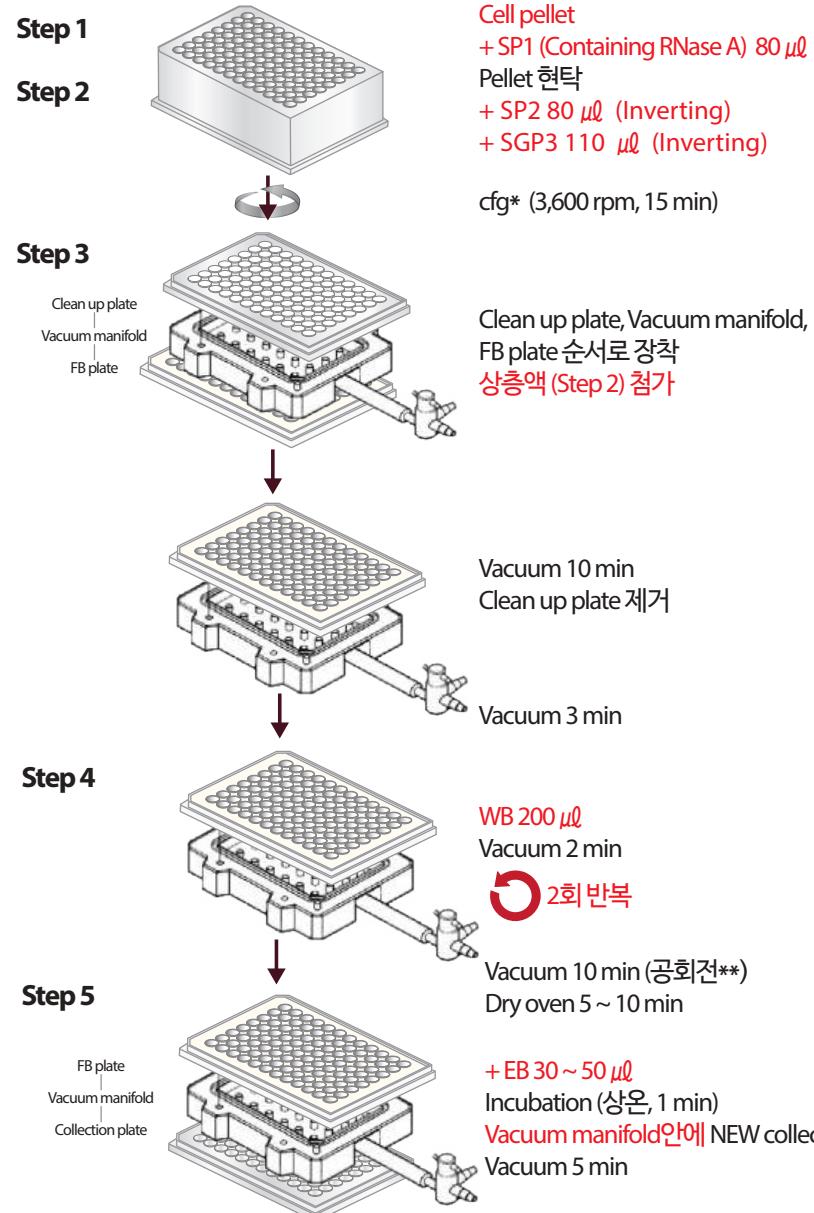
- 3 : Clean up plate에 Step 2의 상층액을 첨가  
Clean up plate – 96 well vacuum manifold – FB plate 순서로 장착  
(Option : Clean up Plate를 사용하지 않을 경우 FB plate에 Step 2의 상층액을 첨가 후 원심분리 수행)  
Vacuum (10 min) → Clean up Plate 제거  
FB plate만 96 well vacuum manifold 위에 장착 → Vacuum (3 min)

### Column Washing

- 4 : WB (80% Ethanol) 200 μL 을 FB plate에 첨가 → Vacuum (2 min)  
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 5 : Vacuum (10 min - 공회전\*) → FB plate 건조 (Dry oven 5 ~ 10 min)  
(Option : 3,000 rpm, 10 min 원심분리할 경우 좀 더 효과적으로 WB를 제거)  
※ 공회전\* : WB를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 plate를 vacuum(원심분리) 수행

### DNA Elution

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



\* cfg : 원심분리

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

# Plasmid Mini Prep Solution [Centrifuge]

※ Washing Buffer : 80% EtOH로 사용할 경우

[Cat. No. PM311-48h]

## ✓ Preparation.

1. WB Bottle에는 반드시 80% Ethanol을 소량씩 자주 만들어 사용
2. Kit에 포함된 RNase A (Powder 상태)를 Buffer SP1에 섞어준 후에 사용하시고 4°C에 보관

## ✓ Protocol.

### Cell Lysis

- 1 : 미생물 배양액 1 mL (96 deep well culture Plate)  
→ cfg (3,600 rpm, 15 min) 후 media 제거  
→ SP1 (containing RNase A) 80 μL 첨가 → Pellet 혼탁
- 2 : SP2 80 μL 첨가 → 4~6회 Inverting (Vortex 금지)  
SGP3 110 μL 첨가 → 4~6회 Inverting (Vortex 금지)  
cfg (3,600 rpm, 15 min)

### Column Binding

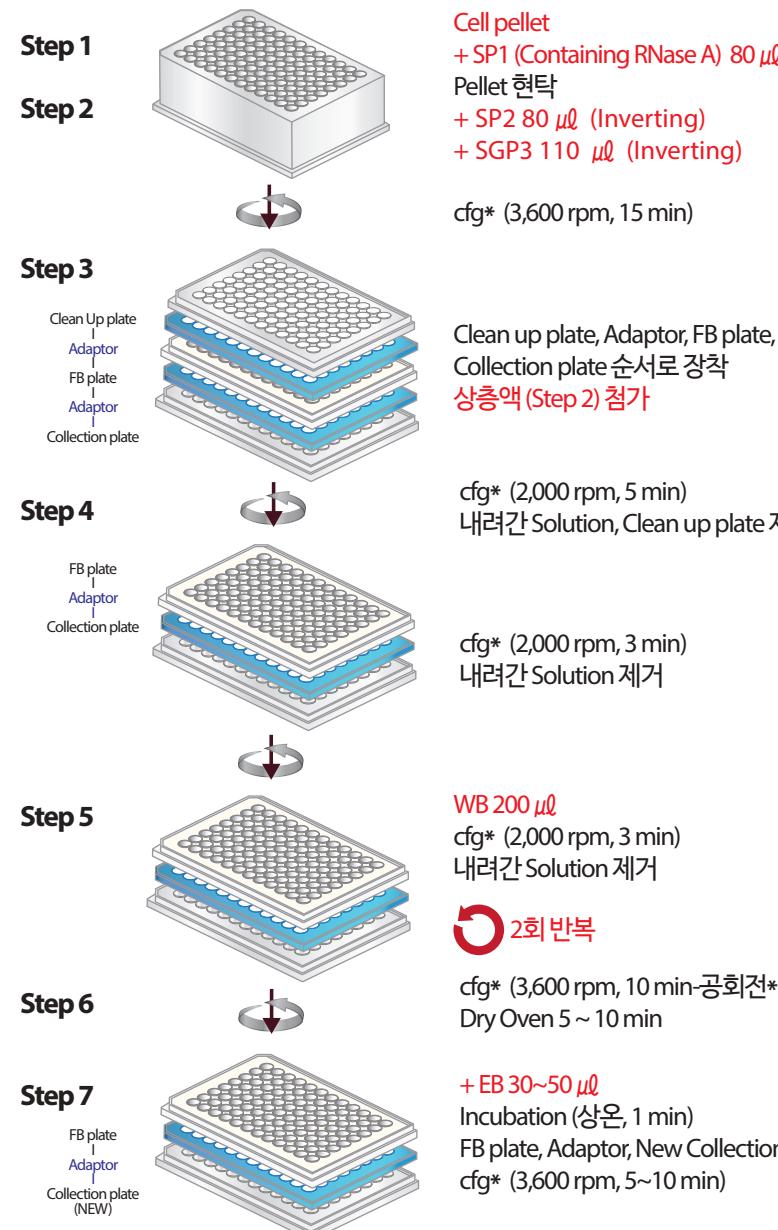
- 3 : Clean up plate에 Step 2의 상층액 첨가  
Clean up plate – Adaptor – FB plate – Adaptor – Collection plate  
순서로 장착 → cfg (2,000 rpm, 5 min)  
(Option : Clean up plate를 사용하지 않을 경우 FB plate에 Step 2의 상층액을 첨가 후 원심분리 수행)  
Collection plate로 내려간 Solution은 제거  
Clean up plate - Adaptor 제거
- 4 : FB plate – Adaptor - Collection plate 순서로 장착  
cfg (2,000 rpm, 3 min-공회전\*) → Collection plate에 있는 Solution은 제거  
→ FB plate와 Adaptor를 다시 장착

### Column Washing

- 5 : 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
- 6 : 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 시약이 제거된 plate를 vacuum(원심분리) 수행

### DNA Elution

- 7 : 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



\* cfg: 원심분리  
\*\* 공회전: Column에 아무것도 넣지 않고 원심분리(혹은 Vacuum (EtOH 제거))

# Plasmid Mini Prep Kit

[Cat. No. PM101-100, PM105-100, PM119-200]

## ✓ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	<p><b>01. Washing buffer를 만든지 오래 된 것은 아닌가요?(*)</b> 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><b>02. Cell culture 시간이 너무 짧은 것은 아닌가요?</b> <i>E.coli</i>의 적정 배양시간은 12~16 hr입니다. 이 시간보다 짧을 경우 Cell 양이 적어서 DNA 농도가 낮게 추출 됩니다. 반면 overgrowth하는 경우에는 plasmid의 양과 구조의 문제가 발생 할 수도 있습니다.</p> <p><b>03. Antibiotics(marker)의 activity는 확인해 보셨나요?</b> 항생제의 활성이 상실되었을 경우 항생제 저항 유전자가 없는 cell도 같이 자라게 되므로 원하는 DNA가 적게 추출 될 수 있습니다. 항생제의 활성 및 사용농도를 확인하십시오.</p> <p><b>04. Column에 solution을 넣고 원심분리 시 rpm을 너무 높게 돌린 것은 아닌가요?</b> Column에 binding 시킬 solution을 넣고 7,000 rpm 보다 높게 돌려도 되나 천천히 원심분리하면 column filter에 DNA가 binding 할 수 있는 기회가 많아져 yield가 높아지게 됩니다.</p> <p><b>05. EB를 Column 벽면으로 분주하셨나요?</b> Column Type의 경우 filter에 DNA가 결합해 있습니다. 따라서 filter를 충분히 적실 수 있도록 column 중앙부분(filter 부분)에 EB를 넣어서 사용해 보세요.</p> <p><b>06. Low copy plasmid 인가요?</b> Plasmid가 Low copy origin일 경우, 일반적으로 추출하시는 세포양보다 더 많은 양을 cultured하거나, 적은 양의 EB로 elution하여 농축하십시오.</p>
Genomic DNA in the eluate	<p><b>01. SP2를 넣고 강하게 Mix 하셨나요?</b> SP2(Lysis buffer)를 첨가한 후에는 조심스럽게 inverting해야 합니다. 만약 vortexing을 할 경우 chromosomal DNA 조각이 elution solution에 섞여 나올 수 있습니다.</p> <p><b>02. Lysis time을 너무 오래 둔 것은 아닌가요?</b> Lysis time을 3분을 초과해서는 안됩니다. SP2 buffer 첨가 후 바로 SGP3를 혼합 하십시오.</p>
Eluted RNA	<p><b>01. RNase A를 포함한 SP1(혹은 B2)를 어디에 보관하셨나요?</b> RNase A를 포함한 SP1은 냉장보관(4°C)을 하여야 RNase A의 activity가 보존됩니다. 새로운 SP1(혹은 B2)는 사용 전에 RNase A의 첨가 여부를 꼭 확인하십시오.</p>
Low Quality DNA	<p><b>01. Washing 단계 후 공회전을 하셨나요?(*)</b> 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 elution하면 됩니다.</p> <p><b>02. HelpB 처리를 하셨나요?</b> 공급된 Spin column의 공기중 노출 시간이 길어질수록 purity가 떨어질 수 있으며, 이러한 경우 실험 전 column에 HelpB 전처리 후 사용합니다.</p>

(\* ) 80% EtOH로 WB 사용할 경우만 해당

## ✓ 주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

### 제품보증 및 책임사항

- 제품의 유효기간은 구입일로부터 1년 6개월이다. (단, PM311-48h는 2년 3개월이다.)
- 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 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.

