



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.



Total RNA Prep Kit [Column Type]

MEMO

 Table of Contents.

• 제품 구성품	-----	1
• Know-How	-----	2
• Total RNA Preparation for Plant Tissue	-----	3
• Total RNA Preparation for Animal Tissue	-----	5
• Total RNA Preparation for Bacterium	-----	7
• Total RNA Preparation for Tissue Culture Cell	-----	9
• Option	-----	11
• 주의사항	-----	12

Total RNA Prep Kit Column Type

[Cat. No. RP103-050, RP103-100]

☑ 구성품 용량

Contents	RP103-050	RP103-100
RB	30 mL	60 mL
RW	30 mL	30 mL
RNase free water	20 mL	30 mL
Proteinase K (10 mg/mL)	1 ea	2 ea
Lysozyme (100 mg/mL)	1 ea	2 ea
DNase I (1 unit/μL)	50 μL	100 μL
10X DNase I Reaction Buffer	0.5 mL	1 mL
Capsule Column	10 x 5 ea	10 x 10 ea
Collection Tube	50 ea/Bottle	50 ea x 2 ea
Quick Guide	1 매	1 매

※ **2-Mercaptoethanol(2-ME), 100% Ethanol**은 별도 구매하여야 합니다.

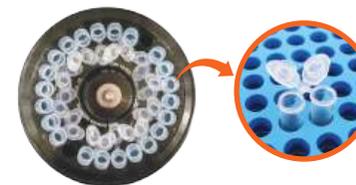
1. RB Solution은 반드시 2-mercaptoethanol(2-ME)를 첨가하여 사용해야 하며, 혼합된 RB/2-ME Solution은 4°C에서 보관하고 일주일이상 사용하지 않도록 합니다.

(첨가비율 : 10 μL, 2-ME/1 mL, RB Solution, 실험 전 혼합하여 사용하는 것을 권장)

2. RW Bottle에는 반드시 100% Ethanol을 첨가하여 사용하도록 합니다.

☑ 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. 적정량의 Fresh한 sample로 추출하기를 권장드립니다.

3. Sample 손상을 줄이기 위해 저온에서 Grinding 한 후 실험을 진행하시는 것이 좋습니다. (아래 예시 참조)



액체 질소를 이용하여 막자사발에서 Grinding



저온 Grinding이 가능한 GeneReady Ultracool

4. Kit안의 Enzyme은 D.W(Buffer)로 녹인 후 -20°C에 보관합니다.

5. 유효기한이 지나지 않은 제품을 사용합니다.

6. RB Buffer는 증발에 의해 Lysis(특히, 단단한 조직)에 영향을 미칠 수 있으므로 사용 후 반드시 Cap을 꼭 닫아주세요. Kit의 사용빈도수가 적을 경우에는 소량 덜어서 사용하시길 권장합니다.

7. 기타 High yield를 위한 Know-How는 카달로그의 Q.C data page를 참고하세요.

Total RNA Prep Kit for Plant Tissue

[Cat. No. RP103-050, RP103-100]

✓ Preparation.

- Sample
 - Plant Tissue는 < 100 mg 이하로 사용
 - 적당한 용기에서 liquid nitrogen으로 최대한 곱게 갈아주며, RNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 다음 작업 수행

✓ Protocol.

Cell Lysis

- Sample (< 100 mg) + RB (+ 2-ME) 350 μ l
 → Vortex (30 sec ~ 1 min) 후 60°C, 3 min incubation
 ※ Tip : High starch, polyphenol/polysaccharide 샘플은 60°C, 5 ~ 10 min incubation
- cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube로 이동
 (Plant Tissue debris 제거 시 HiFilter를 사용하면 효과적으로 제거 ※ OPTION(11 p.참조))
- 100% Ethanol 250 μ l 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min)

Column Binding

- Step 3의 lysate/ethanol을 Capsule column에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
 내려간 Solution 제거 → Capsule column 다시 장착

Column Washing

- Caupsole column에 RW (+Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
 내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착

DNase I(RNase free) Treatment

- Reaction Mixture 제조 → Column에 첨가 → RT, 10 min 간 incubation
 (Total 100 μ l/rxn = 10X DNase I Reaction Buffer 10 μ l + DNase I(1 unit/ μ l) 1 μ l + RNase free water 89 μ l)

Column Washing

- Caupsole column에 RW (+Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
 내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착
 동일한 방법으로 한번 더 Washing

- cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전*) → Collection tube 제거
 Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착

※ 공회전* : RW를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

RNA Elution

- RNase free water 50 ~ 100 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
 cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → column 제거
 Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → -70°C에서 보관

Step 1



Plant Tissue(<100 mg)
+ RB(+ 2-ME) 350 μ l



Vortex (30 sec ~ 1 min)
60°C, 3~10 min incubation

Step 2



cfg* (14,000 rpm, 3 min, 4°C)
상층액을 새로운 tube에 옮김



Step 3



+ 100% Ethanol 250 μ l 첨가
Vortex (30 sec~1 min)



Step 4



Capsule column에
+ lysate/ethanol mix
(Step 3) 첨가



cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거
Capsule column 다시 장착

Step 5



+ RW 500 μ l

cfg* (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거
Capsule column 다시 장착

Step 6



+DNase I
Reaction Mix 첨가
RT, 10 min incubation



Step 7



+ RW 500 μ l
cfg* (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거
Capsule column 다시 장착



Step 8



cfg* (14,000 rpm, 3 min, 4°C
-공회전**)

Spin column을 새로운
1.5 ml Micro tube에 장착



Step 9



+ RNase free water 50 ~ 100 μ l
Incubation (상온, 1 min)



cfg* (14,000 rpm, 1 min, 4°C)



RNA Elution

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

✓ Preparation.

1. Kit에 포함된 Proteinase K(Dry 상태)에 D.W를 넣어 final 10 mg/ml의 농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 최초 사용 후에는 -20°C 에 보관사용
2. Sample
 - Animal Tissue는 < 30 mg 이하로 사용
 - 적당한 용기에서 liquid nitrogen으로 최대한 곱게 갈아주며, RNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 다음 작업 수행

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Sample (< 30 mg) + RB (+ 2-ME) 350 μ l + Proteinase K(10 mg/ml) 5 μ l
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) 후 56°C, 10 min incubation
- 2 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube로 이동
(Animal Tissue 찌꺼기 제거 시, HiFilter를 사용하면 효과적으로 제거 ※ OPTION(11 p.)참조)
- 3 : 100% Ethanol 250 μ l 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min)

Column Binding

- 4 : Step 3의 lysate/ethanol을 Capsule column에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → Capsule column 다시 장착

Column Washing

- 5 : Capsule column에 RW (+Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착

DNase I(RNase free) Treatment

- 6 : Reaction Mixture 제조 → Column에 첨가 → RT, 10 min 간 incubation
(Total 100 μ l/rxn = 10X DNase I Reaction Buffer 10 μ l + DNase I(1 unit/ μ l) 1 μ l + RNase free water 89 μ l)

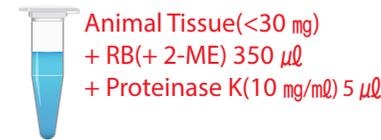
Column Washing

- 7 : Capsule column에 RW (+Ethanol) 500 μ l 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing
- 8 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전* : RW를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

RNA Elution

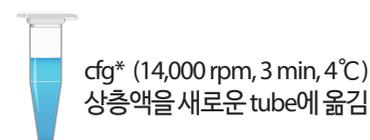
- 9 : RNase free water 50 ~ 100 μ l 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → -70°C에서 보관

Step 1



Vortex (30 sec ~ 1 min)
56°C, 10 min incubation

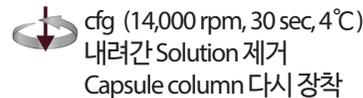
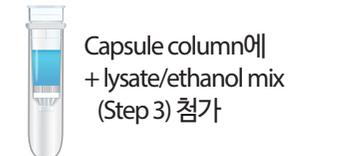
Step 2



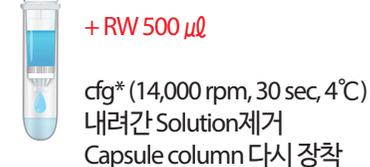
Step 3



Step 4



Step 5



cfg* (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거
Capsule column 다시 장착

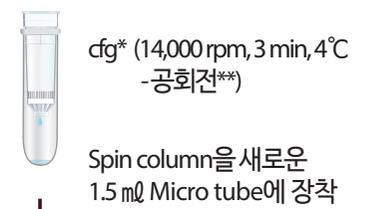
Step 6



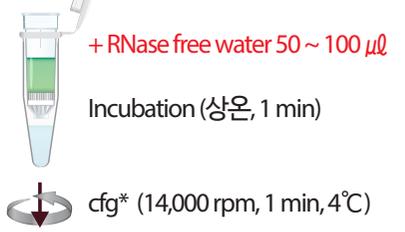
Step 7



Step 8



Step 9



RNA Elution

* cfg : 원심분리

**공회전 : Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(EtOH제거)

✓ Preparation.

1. Kit에 포함된 Lysozyme (Dry 상태)에 D.W를 넣어 final 100 mg/ml의 농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 최초 사용 후에는 -20°C 에 보관사용
- Gram-Negative Bacteria : ~ 500 µg/ml, • Gram-Positive Bacteria : ~ 3 mg/ml

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Harvest Bacteria (< 1 X 10⁹) + TE buffer 100 µl + Lysozyme(100 mg/ml) 2 µl
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) → 상온, 3~5 min incubation
- Gram-negative bacteria : 3~5 min, • Gram-positive bacteria : 5~10 min
- 2 : RB (+ 2-ME) 350 µl 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min) → cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube로 이동
- 3 : 100% Ethanol 250 µl 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min)

Column Binding

- 4 : Step 3의 lysate/ethanol을 Capsule column에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C) 내려간 Solution 제거 → Capsule column 다시 장착

Column Washing

- 5 : Capsule column에 RW (+Ethanol) 500 µl 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C) 내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착

DNase I(RNase free) Treatment

- 6 : Reaction Mixture 제조 → Column에 첨가 → RT, 10 min 간 incubation
(Total 100 µl/rxn = 10X DNase I Reaction Buffer 10 µl + DNase I(1 unit/µl) 1 µl + RNase free water 89 µl)

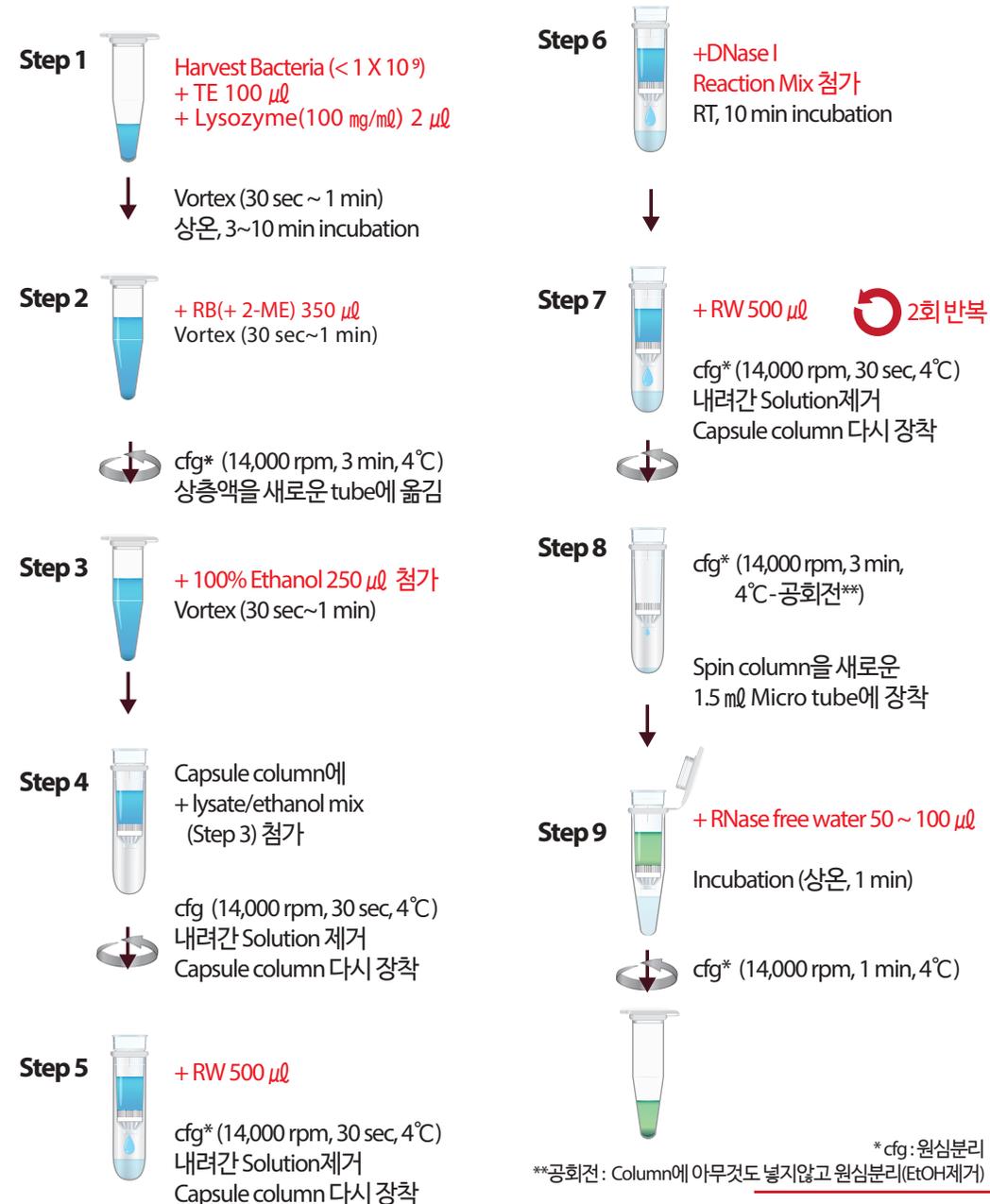
Column Washing

- 7 : Capsule column에 RW (+Ethanol) 500 µl 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C) 내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing

- 8 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전*) → Collection tube 제거
Spin column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전* : RW를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

RNA Elution

- 9 : RNase free water 50 ~ 100 µl 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → -70°C에서 보관



✓ Preparation.

1. Kit에 포함된 Proteinase K (Dry 상태)에 D.W를 넣어 final 10 mg/ml의 농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 최초 사용 후에는 -20°C 에 보관사용
2. RNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하며 실험을 진행

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Harvest cells (1×10^7) + RB (+ 2-ME) 350 μl + Proteinase K(10 mg/ml) 5 μl
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) → 56°C, 10 min incubation
- 2 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액을 새로운 1.5 ml micro tube로 이동
- 3 : 100% Ethanol 250 μl 첨가 → Vortex (30 sec ~ 1 min)

Column Binding

- 4 : Step 3의 lysate/ethanol을 Capsule column에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → Capsule column 다시 장착

Column Washing

- 5 : Capsule column에 RW (+Ethanol) 500 μl 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → 새로운 Collection tube에 Spin column 다시 장착

DNase I(RNase free) Treatment

- 6 : Reaction Mixture 제조 → Column에 첨가 → RT, 10 min 간 incubation
(Total 100 $\mu\text{l}/\text{rxn}$ = 10X DNase I Reaction Buffer 10 μl + DNase I(1 unit/ μl) 1 μl + RNase free water 89 μl)

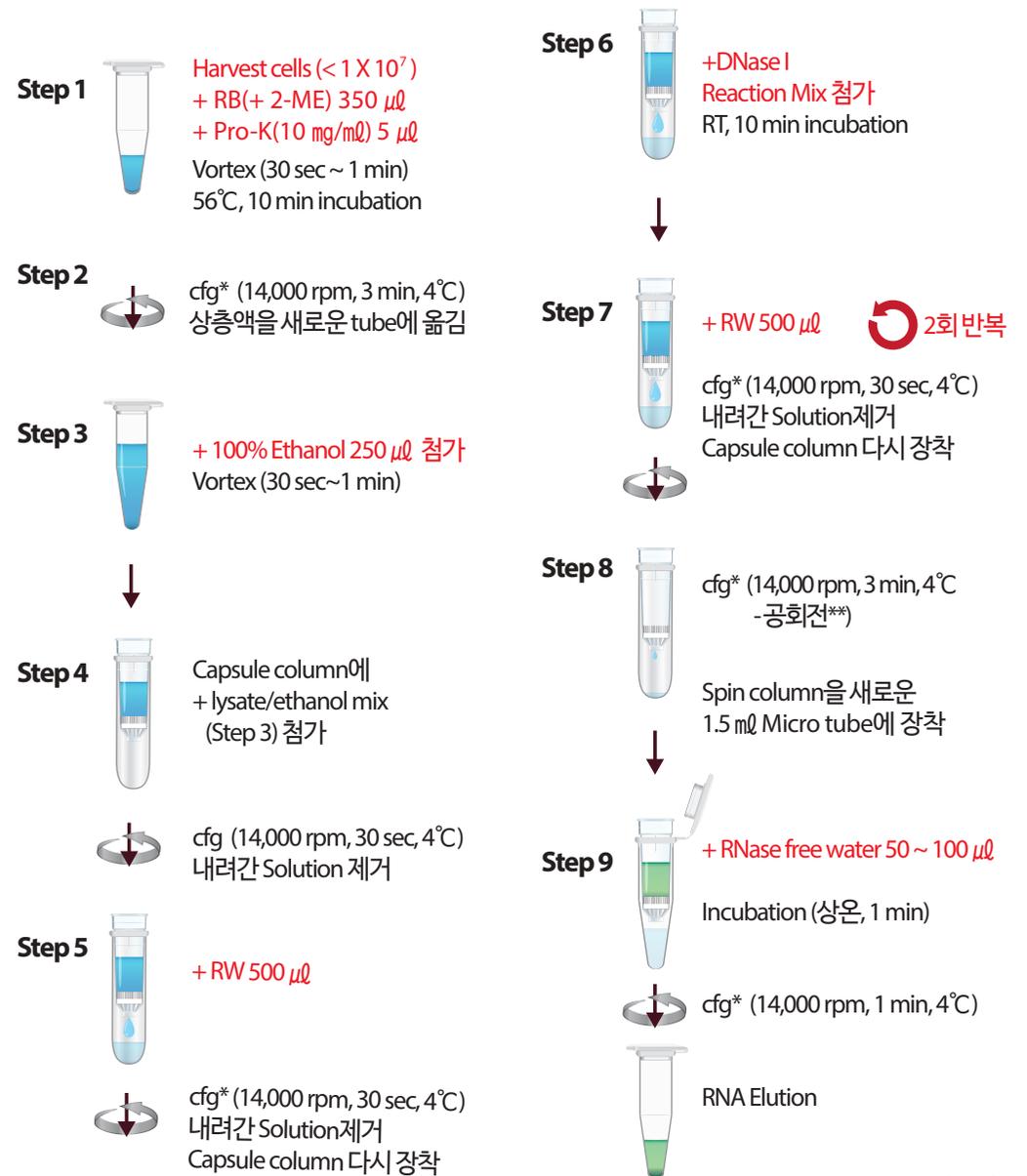
Column Washing

- 7 : Capsule column에 RW (+Ethanol) 500 μl 첨가 후 cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거 → Collection tube에 Capsule column 다시 장착
동일한 방법으로 한번 더 Washing

- 8 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전*) → Collection tube 제거
Capsule column을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전* : RW를 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Spin Column을 원심분리 수행

RNA Elution

- 9 : RNase free water 50 ~ 100 μl 첨가 → Incubation (상온, 1 min)
cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → column 제거
Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → -70 °C에서 보관



* cfg : 원심분리
**공회전 : Column에 아무것도 넣지않고 원심분리(타OH제거)

OPTION

Remove Cell Lysate



HiFilter
[Cat. No. RP119-100]

- Lysis 과정에서 발생된 Plant/Animal Tissue debris를 제거해 줌으로써 추출 효율을 높일 수 있음.
- Protocol에서 100% Ethanol첨가(Step 3) 전 step에 사용
cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C) → 상층액만 HiFilter에 첨가 후 cfg
14,000 rpm, 30 sec, 4°C → 내려간 Solution을 새로운 1.5 ml micro tube로 이동

HiFilter & Collection Tube의 역할

- Lysis 과정 중 cell debris 제거
- Plant/Animal Tissue에서 capsule column 사용 전단계에서 사용
- Cell debris에 의한 column 막힘을 예방
- 최종 RNA 추출 효율을 높임
- DNA/RNA가 Binding 되지 않는 Filter

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.

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- Proteinase K / Lysozyme는 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.



(주)바이오팩트
본사/공장 : 대전광역시 유성구 테크노8로 70