

Quick Guide

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




HiGene™ DualPrep DNA/RNA Mini Kit

- Cultured Cell
- Plant Tissue
- Animal Tissue



Please contact us,
if you have any question and need help.

 T)1670-5695

 www.bio-ft.com

 info@bio-ft.com

✓ Table of Contents.

- 제품 구성품 1
- Purification of gDNA/Total RNA from Cultured Cell 2
(Animal Cell, Gram(-) Bacterium)
- Purification of gDNA/Total RNA from Plant Tissue 5
(Leaf/Stem/Root/Seed)
- Purification of gDNA/Total RNA from Animal Tissue 8
- Troubleshooting 12
- 주의사항 13

✓ 구성품 용량

Component	RP141-050 [50 Prep]
Lysis Buffer-1	18 mℓ
Lysis Buffer-2 [For Plant]	25 mℓ
gDNA 1st WB-1	30 mℓ
gDNA 1st WB-2 [For Plant]	30 mℓ
gDNA 2nd WB	빈 bottle
Elution Buffer	10 mℓ
HiSpin Column [For gDNA]	50 ea x 1 ea
RNA Binding Buffer-1	30 mℓ
RNA Binding Buffer-2 [For Plant]	30 mℓ
RW	15 mℓ
RNase free water	10 mℓ
Capsule Column [For RNA]	10 ea x 5 sheet
Proteinase K(20 mg/mℓ)	1 ea
Lysozyme(100 mg/mℓ)	1 ea
Quick Guide	1 매

* Cultured Cell [Animal Cell/Gram(-) Bacterium]

✓ Preparation.

- Lysis Buffer-1 시약은 반드시 2-mercaptoethanol(2-ME)를 첨가하여 사용해야 하며, 혼합된 시약은 4°C에서 보관하고 일주일 이상 사용하지 않도록 함 (2-ME 혼합 비율 : Lysis Buffer의 1/100)
- RW Bottle에는 반드시 100% Ethanol 45 mL [50 Prep 기준]을 첨가하여 사용
gDNA 2nd WB는 빈 bottle로 제공되며, 80% Ethanol을 제조하여 사용
- Kit에 포함된 Lysozyme/Proteinase K (Dry 상태)에 D.W를 넣어 잘 녹인 후 바로 사용하거나, 최초 사용 후에는 -20°C 에 보관사용
- Sample
 - Animal Cell : $< 1 \times 10^7$
 - Gram(-) Bacterium : $< 1 \times 10^9$

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1-1 : [Animal Cell] Harvest cells + Lysis Buffer-1 (+ 2-ME) 300 μ l + Pro-K(20 mg/mL) 5 μ l
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) → Incubation (56°C, 10 min)
- 1-2 : [Gram(-) Bacterium] Harvest cells + Elution Buffer 100 μ l + Lysozyme(100 mg/mL) 2 μ l
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) → Incubation (RT, 5 min)
→ Lysis Buffer-1 (+ 2-ME) 200 μ l → Vortex (30 sec ~ 1 min)

gDNA/Total RNA Column Binding

2-1 : For gDNA Prep

- [Step 1] Lysate를 HiSpin Column(Clear ring)에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 새로운 collection tube에 HiSpin Column(Clearing ring)을 다시 장착한 후, [Step 3-1] 진행
(Column을 통과한 solution은 Total RNA 추출을 위해 버리지 않고, [Step 2-2] 로 진행)

2-2 : For Total RNA Prep

- [Step 2-1] 단계에서 원심분리 후 Collection tube에 내려온 solution을 RNA Binding Buffer-1 500 μ l와 혼합 (pipetting) → Capsule Column(Pink ring)에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 solution은 버리고, [Step 3-3] 진행

*cfg: 원심분리

gDNA Column Washing

- 3-1 : HiSpin Column(Clear ring)에 gDNA 1st WB-1 500 μ l 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 HiSpin Column(Clear ring) 다시 장착
- 3-2 : HiSpin Column(Clear ring)에 gDNA 2nd WB 500 μ l 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 HiSpin Column(Clear ring) 다시 장착(2 회 반복)
→ [Step 4]로 진행

Total RNA Column Washing

- 3-3 : Capsule Column(Pink ring)에 RW 500 μ l 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 Capsule Column(Pink ring) 다시 장착
[Optional]
아래와 같이 Reaction Mixture를 제조하여, Capsule Column(Pink ring)에 첨가 → Incubation (RT, 10 min)
- Reaction Mixture (Total 100 μ l/Prep.) : (10X DNase I Reaction Buffer 10 μ l + DNase I 2 μ l + RNase free water 88 μ l)
※별도 구매 가능 : HiGene™ DNase I (RNase-free, Cat. No. RP117-20h)
- 3-4 : Capsule Column(Pink ring)에 RW 500 μ l 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 Capsule Column(Pink ring) 다시 장착
- 4 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전**) → Collection tube 제거
[HiSpin/Capsule Column]을 새로운 1.5 mL micro tube에 장착
※ 공회전** : Ethanol을 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Column을 원심분리 수행

Nucleic Acid Elution

- 5-1 : Elution Buffer(For gDNA) 50 μ l 첨가 → Incubation (RT, 1 min) → cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → Column 제거
- 5-2 : RNase free water(For RNA) 50 μ l 첨가 → Incubation (RT, 1 min) → cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → Column 제거
- 6 : Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → gDNA -20°C에서 보관, Total RNA -70°C 이하에서 보관

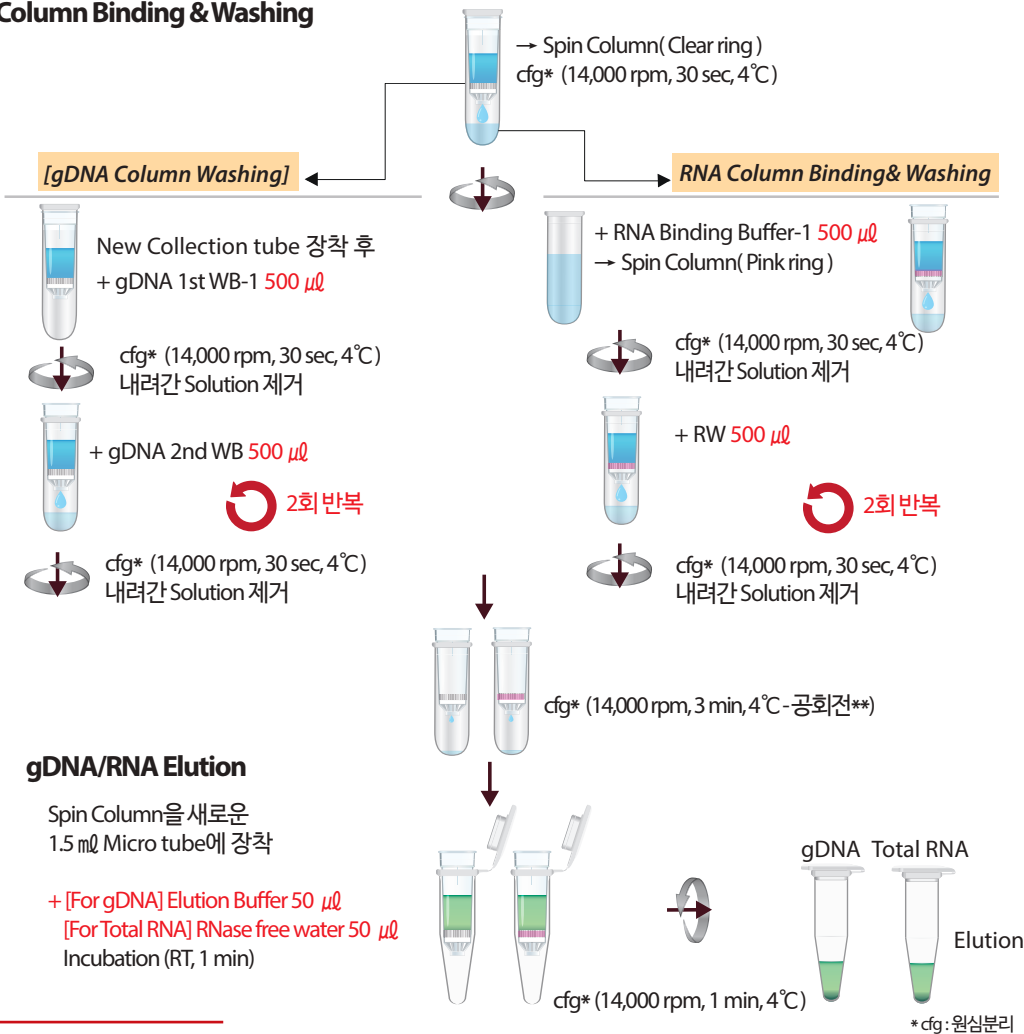
*cfg: 원심분리

Cell Lysis

[Animal Cell]
Harvest cell
+ Lysis Buffer-1 (+ 2-ME) 300 μ l
+ Pro-K(20 mg/ml) 5 μ l
→ Vortex (30 sec ~ 1 min)
→ Incubation(56°C, 10 min)

[Gram(-) Bacterium Cell]
Harvest cell
+ Elution Buffer 100 μ l
+ Lysozyme(100 mg/ml) 2 μ l
→ Vortex & Incubation(RT, 5 min)
+ Lysis Buffer-1 (+ 2-ME) 200 μ l
→ Vortex (30 sec ~ 1 min)

Column Binding & Washing



*** Plant Tissue(Leaf/Stem/Root/Seed)**

✓ Preparation.

- Lysis Buffer-2(For Plant) 시약은 반드시 2-mercaptoethanol(2-ME)를 첨가하여 사용해야 하며, 혼합된 시약은 4°C에서 보관하고 일주일 이상 사용하지 않도록 함 (2-ME 혼합 비율 : Lysis Buffer의 1/100)
- RW Bottle에는 반드시 100% Ethanol 45 ml [50 Prep 기준]을 첨가하여 사용
gDNA 2nd WB는 빈 bottle로 제공되며, 80% Ethanol을 제조하여 사용
- 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

- Plant Tissue(< 100 mg) + Lysis Buffer-2[For Plant] (+ 2-ME) 400 μ l → Vortex (30 sec ~ 1 min)
→ Incubation (65°C, 10 min)
→ cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C)

gDNA/ Total RNA Column Binding

2-1 : For gDNA Prep

[Step 1] 상층액을 HiSpin Column(Clear ring)에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 새로운 collection tube에 HiSpin Column(Clearing ring)을 다시 장착한 후, [Step 3-1] 진행
(Column을 통과한 solution은 Total RNA 추출을 위해 버리지 않고, [Step 2-2] 로 진행)

2-2 : For Total RNA Prep

[[Step 2-1] 단계에서 원심분리 후 Collection tube에 내려온 solution을 RNA Binding Buffer-2[For Plant] 500 μ l 와 혼합(pipetting) → Capsule Column(Pink ring)에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 solution은 버리고, [Step 3-3] 진행

*cfg: 원심분리

gDNA Column Washing

- 3-1 : HiSpin Column(Clear ring)에 gDNA 1st WB-2 [For Plant] 500 μl 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 HiSpin Column(Clear ring) 다시 장착
- 3-2 : HiSpin Column(Clear ring)에 gDNA 2nd WB 500 μl 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 HiSpin Column(Clear ring) 다시 장착 (2 회 반복)
→ [Step 4]로 진행

Total RNA Column Washing

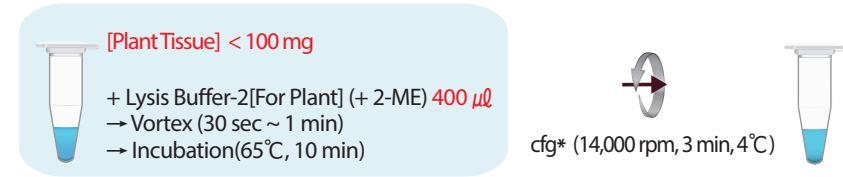
- 3-3 : Capsule Column(Pink ring)에 RW 500 μl 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 Capsule Column(Pink ring) 다시 장착
[Optional]
아래와 같이 Reaction Mixture를 제조하여, Capsule Column(Pink ring)에 첨가 → Incubation (RT, 10 min)
- Reaction Mixture (Total 100 μl/Prep.) : (10X DNase I Reaction Buffer 10 μl + DNase I 2 μl + RNase free water 88 μl)
※별도 구매 가능 : HiGene™ DNase I (RNase-free, Cat. No. RP117-20h)
- 3-4 : Capsule Column(Pink ring)에 RW 500 μl 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 Capsule Column(Pink ring) 다시 장착
- 4 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전**) → Collection tube 제거
[HiSpin/Capsule Column]을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착
※ 공회전** : Ethanol을 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Column을 원심분리 수행

Nucleic Acid Elution

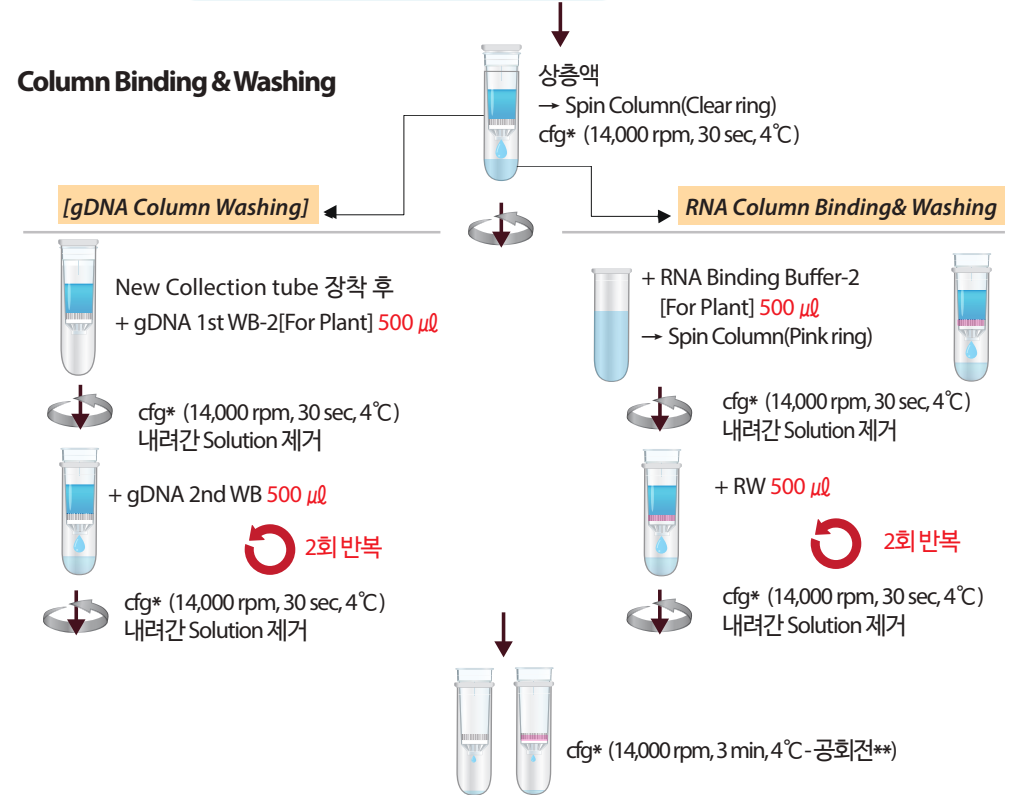
- 5-1 : Elution Buffer(For gDNA) 50 μl 첨가 → Incubation (RT, 1 min) → cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → Column 제거
- 5-2 : RNase free water(For RNA) 50 μl 첨가 → Incubation (RT, 1 min) → cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → Column 제거
- 6 : Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → gDNA -20°C에서 보관, Total RNA -70°C 이하에서 보관

* cfg : 원심분리

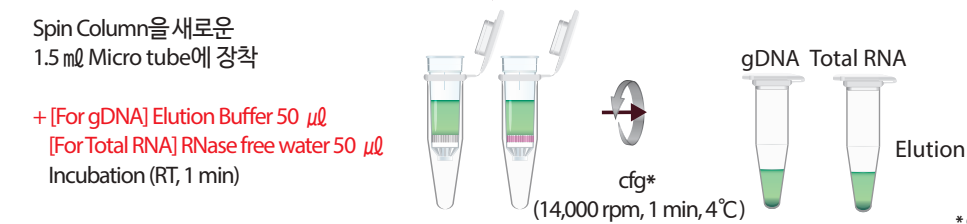
Cell Lysis



Column Binding & Washing



gDNA/RNA Elution



* Animal Tissue

✓ Preparation.

- Lysis Buffer-1 시약은 반드시 2-mercaptoethanol(2-ME)를 첨가하여 사용해야 하며, 혼합된 시약은 4°C에서 보관하고 일주일 이상 사용하지 않도록 함 (2-ME 혼합 비율 : Lysis Buffer의 1/100)
- RW Bottle에는 반드시 100% Ethanol 45 mL [50 Prep 기준]을 첨가하여 사용
gDNA 2nd WB는 빈 bottle로 제공되며, 80% Ethanol을 제조하여 사용
- 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

- Animal Tissue (< 30 mg) + Lysis Buffer-1 (+ 2-ME) 300 μ L + Pro-K(20 mg/mL) 5 μ L
→ Vortex (30 sec ~ 1 min) → Incubation (56°C, 10 min)
→ cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C)

gDNA/ Total RNA Column Binding

2-1: For gDNA Prep

- [Step 1] 상층액을 HiSpin Column(Clear ring)에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 새로운 collection tube에 HiSpin Column(Clearing ring)을 다시 장착한 후, [Step 3-1] 진행
(Column을 통과한 solution은 Total RNA 추출을 위해 버리지 않고, [Step 2-2] 로 진행)

2-2: For Total RNA Prep

- [Step 2-1] 단계에서 원심분리 후 Collection tube에 내려온 solution을 RNA Binding Buffer-1 500 μ L 와 혼합 (pipetting) → Capsule Column(Pink ring)에 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 solution은 버리고, [Step 3-3] 진행

gDNA Column Washing

- 3-1 : HiSpin Column(Clear ring)에 gDNA 1st WB-1 500 μ L 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 HiSpin Column(Clear ring) 다시 장착
- 3-2 : HiSpin Column(Clear ring)에 gDNA 2nd WB 500 μ L 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 HiSpin Column(Clear ring) 다시 장착 (2 회 반복)
→ [Step 4]로 진행

Total RNA Column Washing

- 3-3 : Capsule Column(Pink ring)에 RW 500 μ L 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 Capsule Column(Pink ring) 다시 장착
[Optional]
아래와 같이 Reaction Mixture를 제조하여, Capsule Column(Pink ring)에 첨가 → Incubation (RT, 10 min)
- Reaction Mixture (Total 100 μ L/Prep) : (10X DNase I Reaction Buffer 10 μ L + DNase I 2 μ L + RNase free water 88 μ L)
※별도 구매 가능 : HiGene™ DNase I (RNase-free, Cat. No. RP117-20h)

- 3-4 : Capsule Column(Pink ring)에 RW 500 μ L 첨가 → cfg (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 Capsule Column(Pink ring) 다시 장착

- 4 : cfg (14,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전**) → Collection tube 제거
[HiSpin/Capsule Column]을 새로운 1.5 mL micro tube에 장착
※ 공회전** : Ethanol을 완전히 제거하기 위해 시약이 제거된 Column을 원심분리 수행

Nucleic Acid Elution

- 5-1 : Elution Buffer(For gDNA) 50 μ L 첨가 → Incubation (RT, 1 min) → cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → Column 제거
- 5-2 : RNase free water(For RNA) 50 μ L 첨가 → Incubation (RT, 1 min) → cfg (14,000 rpm, 1 min, 4°C) → Column 제거
- 6 : Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → gDNA -20°C에서 보관, Total RNA -70°C 이하에서 보관

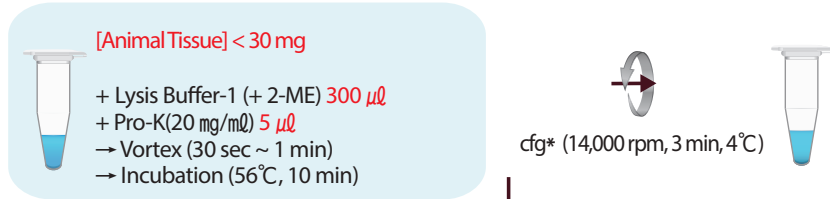
* cfg: 원심분리

* cfg: 원심분리

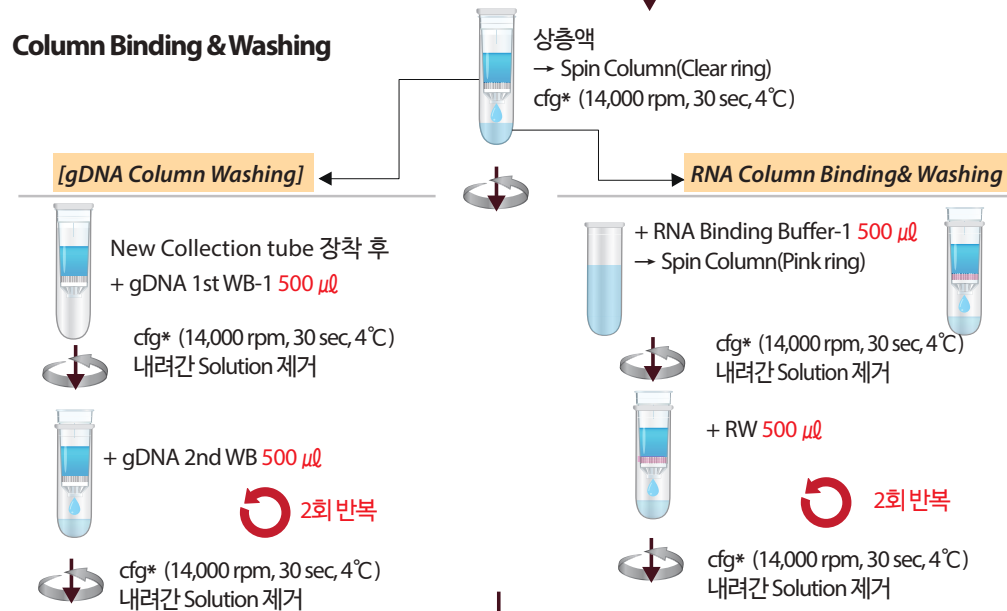
DualPrep DNA/RNA Mini Kit for Animal Tissue

[Cat. No. RP141-050]

Cell Lysis



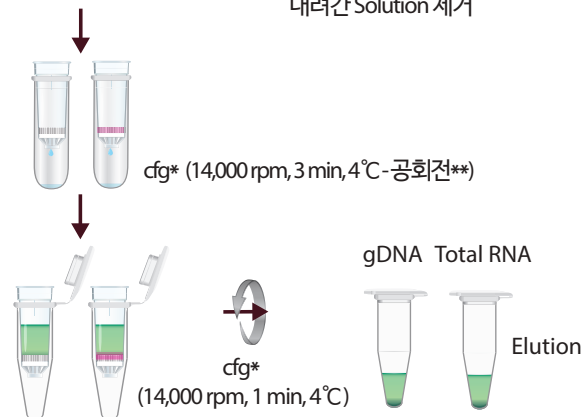
Column Binding & Washing



gDNA/RNA Elution

Spin Column을 새로운
1.5 ml Micro tube에 장착

+ [For gDNA] Elution Buffer 50 μ l
[For Total RNA] RNase free water 50 μ l
Incubation (RT, 1 min)



* cf^g: 원심분리

MEMO

✓ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA/RNA	01. Washing buffer를 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. Column이 개봉한 지 오래되었나요? Column type의 경우 Column이 공기중에 장기간 노출되면 시간이 흐를수록 산화되거나 불순물들이 흡착되어 DNA/RNA 결합을 저해 합니다.
	03. Elution Buffer 또는 RNase Free Water를 Column 벽면에 분주하셨나요? Column type의 경우 filter에 DNA가 결합해 있습니다. 따라서 filter를 충분히 적실 수 있도록 Column 중앙부분에 분주하여 사용하십시오.
	04. Enzyme(Proteinase K, Lysozyme)은 어디에 보관하셨나요? Prep에 사용되는 enzyme은 dry 된 상태에서는 상온 보관이 가능하지만, D.W로 녹인 후에는 냉장 및 냉동 보관하셔야 합니다. 그렇지 않으면 Enzyme activity가 낮아져 Prep yield에 영향을 줍니다.
	05. DNase I Incubation을 너무 오래하셨나요? DNase I Incubation 시간을 15 min 이상 진행하지 않도록 주의하십시오.
Nicked DNA Degraded DNA	01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요? Plasticware 나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고, Plasticware는 사용 전 Autoclave하여 사용하십시오.
Low Quality DNA/RNA	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.

✓ 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 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 은 1차 사용 후 냉동(냉장)보관하며 사용한다.
(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.



(주)바이오팩트
본사/공장 : 대전광역시 유성구 테크노8로 70