



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.



HiGene™ DualPrep FFPE DNA/RNA Extraction Kit

[Column Type]

✓ **Table of Contents.**

• 제품 구성품 및 용량	1
• Preparation & Protocol	2
• Troubleshooting	6
• 주의사항	7

✓ **제품 구성품 및 용량**

Component	RP161-050 [50 Prep]
Deparaffinization Solution (= DP Solution)	25 mL
DNA/RNA Lysis Buffer	35 mL
DNA Pre-Washing Buffer	30 mL
DNA/RNA Washing Buffer, (-) ethanol	24 mL
RNA Binding Buffer	35 mL
Nuclease free water	10 mL
Proteinase K Digestion Buffer	5.5 mL
MicroSpin Column	50 ea x 2 ea
Collection Tube	50 ea x 3 ea
Proteinase K (20 mg/mL)	1 ea
Quick Guide	1 매

DualPrep FFPE DNA/RNA Extraction Kit

[Cat. No. RP161-050]

Deparaffinization

Sample (< 25 mg)
+ DP Solution 400 μ l
→ Vortex (30 sec)
→ Incubation (55°C, 1 min)
→ Spin down → 상층액 제거

Tissue Digestion

+ Nuclease free water 95 μ l
+ Pro-K Digestion Buffer 95 μ l
+ Pro-K (20 mg/ml) 10 μ l
→ Incubation (55°C, 1 hr)
→ Incubation (94°C, 20 min)
+ Lysis Buffer (+ 2-ME) 600 μ l
→ Vortex (30 sec)
→ Spin down

Column Binding & Washing

상층액
→ MicroSpin Column
cfg* (14,000 rpm, 30 sec, 4°C)

[DNA Extraction]

New Collection tube 장착 후
+ DNA Pre-Washing Buffer 500 μ l
cfg* (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거
+ DNA/RNA Washing Buffer 500 μ l
2회 반복
cfg* (13,000 rpm, 30 sec)
내려간 Solution 제거

[RNA Extraction]

+ RNA Binding Buffer 600 μ l
→ MicroSpin Column
cfg* (13,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거
+ DNA/RNA Washing Buffer 500 μ l
2회 반복
cfg* (13,000 rpm, 30 sec, 4°C)
내려간 Solution 제거

cfg* (13,000 rpm, 3 min, 4°C- 공회전**)

DNA/RNA Elution

MicroSpin Column을 새로운
1.5 ml Micro tube에 장착

+ Nuclease free water 10 ~50 μ l
Incubation (RT, 1 min)

DNA / RNA
Elution
cfg* (13,000 rpm, 1 min, 4°C)

✓ Preparation.

- DNA/RNA Washing Buffer는 반드시 100% Ethanol 96 ml [50 Prep 기준]을 첨가하여 사용
- DNA/RNA Lysis Buffer 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)
- Kit에 포함된 Proteinase K (Dry 상태)에 D.W를 넣어 잘 녹인 후 바로 사용하거나, 최초 사용 후에는 -20°C 에 보관사용
- Sample : 절편 8 ea 이하(각 절편의 두께는 10 μ m 이하, 표면적은 250 mm² 이하)

✓ Protocol.

Deparaffinization

- Sample(절편 8 ea 이하, < 25 mg) + Deparaffinization Solution 400 μ l → Vortex (30 sec)
→ Incubation (55°C, 1 min) → Spin down → 상층액 제거

※ 주의 사항 : 조직에서 paraffine을 최대한 제거해 주세요.

주변 온도가 20°C 이하일 경우, Deparaffinization Solution을 55°C에서 pre-warming 후 사용해 주세요.

Tissue Digestion

- Tissue Digestion Mixture 200 μ l → Incubation (55°C, 1 hr) → Incubation (94°C, 20 min)

[Tissue Digestion Mixture 조성]

Proteinase K Digestion Buffer	190 μ l
Proteinase K (20 mg/ml)	10 μ l
Total	200 μ l

- Lysis Buffer (+ 2-ME) 600 μ l → Vortex (30 sec) → Spin down

* cfg : 원심분리

DualPrep FFPE DNA/RNA Extraction Kit

[Cat. No. RP161-050]

DNA/RNA Column Binding

4-1 : For DNA Prep

[Step 3] Lysate를 MicroSpin Column에 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 새로운 collection tube에 MicroSpin Column을 다시 장착한 후, [Step 5-1] 진행
(Column을 통과한 solution은 RNA 추출을 위해 버리지 않고, [Step 4-2]로 진행)

4-2 : For RNA Prep

[Step 4-1] 단계에서 원심분리 후 Collection tube에 내려온 solution을 RNA Binding Buffer 600 µl와 혼합 (pipetting) → 새로운 MicroSpin Column에 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 solution은 버리고, [Step 5-3] 진행

DNA Column Washing

5-1 : MicroSpin Column에 DNA Pre-Washing Buffer 500 µl 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 MicroSpin Column 다시 장착
5-2 : MicroSpin Column에 DNA/RNA Washing Buffer 500 µl 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 MicroSpin Column 다시 장착 (2 회 반복)
→ [Step 6]로 진행

RNA Column Washing

5-3 : MicroSpin Column에 DNA/RNA Washing Buffer 500 µl 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 MicroSpin Column 다시 장착

[Optional]

아래와 같이 DNase I Reaction Mixture를 제조하여, MicroSpin Column에 첨가 → Incubation (RT, 10 min)

[DNase I Reaction Mixture 조성]

10X DNase I Reaction Buffer	10 µl
DNase I	2 µl
Nuclease free water	88 µl
Total	100 µl

※ 별도 구매 가능 : HiGene™ DNase I (RNase-free, Cat. No. RP117-20h)

5-4 : MicroSpin Column에 DNA/RNA Washing Buffer 500 µl 첨가 → cfg (13,000 rpm, 30 sec, 4°C)
→ 내려간 Solution 제거 → Collection tube에 MicroSpin Column 다시 장착
(DNase I을 처리한 경우, 한번 더 진행)
→ [Step 6]로 진행

6 : cfg (13,000 rpm, 3 min, 4°C - 공회전**) → Collection tube 제거
[MicroSpin Column]을 새로운 1.5 ml micro tube에 장착 (DNA/RNA를 별도 tube로 진행)

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

Nucleic Acid Elution

7 : Nuclease free water 10 ~ 50 µl 첨가 → Incubation (RT, 1 min) → cfg (13,000 rpm, 1 min, 4°C) → Column 제거

8 : DNA는 -20°C 이하에서 보관, RNA는 -70°C 이하에서 보관

* cfg : 원심분리

✓ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield	01. Sample Input - 너무 많은 샘플이나 불완전한 lysis/homogenization은 컬럼을 막아 DNA/RNA 효율을 떨어뜨릴 수 있습니다. Sample 용량을 적게 사용하거나, DNA/RNA Lysis Buffer 용량을 늘려서 사용하세요. 02. High-Protein Content - DNA/RNA 정제하기 전에 Proteinase K 처리를 먼저합니다. 프로토콜을 참고해 주세요.
DNA Contamination	01. RNA 정제과정에서 DNA 제거를 위한 방법 - 정제과정에서 컬럼 내 DNase I을 처리하거나, 정제 후 DNase I 처리를 한 후 한번 더 정제하도록 합니다. - 샘플양이 많을 경우, DNA/RNA Lysis Buffer 용량을 늘려 조직이 완전히 lysis 되도록 해야하며, RNA Binding Buffer도 동일한 비율로 증가하여 사용하도록 합니다.
RNA Degradation	01. RNA degradation을 방지하기 위한 방법 샘플을 수집한 후, DNA/RNA Lysis Buffer를 즉시 처리하여 샘플의 안정성을 유지해야 합니다. Proteinase K를 처리한 샘플은 냉동 보관이 가능합니다.
Proteinase K Digestion Buffer	01. 침전물이 확인되나요? 침전물이 확인될 경우, 37°C에서 완전히 녹인 후 사용하십시오.
Long PCR	01. 추출된 DNA/RNA는 long PCR에 사용할 수 없는 이유는 무엇입니까? - 추출된 DNA/RNA의 quality는 샘플의 유형이나 양, 보관된 시간에 따라 크게 달라질 수 있습니다. - FFPE 샘플이 1년 이상 시간이 경과될 경우, 1 Kb보다 큰 PCR target은 증폭이 어려울 수 있습니다.
Low Quality DNA/RNA	01. 왜 추출된 DNA/RNA purity가 낮은가요? - 추출된 DNA/RNA의 salt 농도가 높을 경우, purity가 낮게 확인됩니다. DNA/RNA Washing Buffer를 사용하여 column을 세척할 때, MicroSpin Column 벽면을 따라 용액을 추가 하고, 실온에서 5 분간 방치하여 남아있는 salt 양을 최대한 제거하도록 합니다. - Eluted DNA/RNA에 Ethanol이 남아 있을 경우, purity가 낮게 확인됩니다. 컬럼에 Nuclease free water를 첨가하기 전에 공회전 시간을 반드시 지키도록 합니다. - 조직에서 파라핀을 최대한 제거한 후, 추출을 진행하도록 합니다.

✓ 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 은 1차 사용 후 냉동 (냉장)보관하며 사용한다.
(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