



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™ Viral RNA/DNA Prep Kit

[For Column Type]

MEMO

☑ **Table of Contents.**

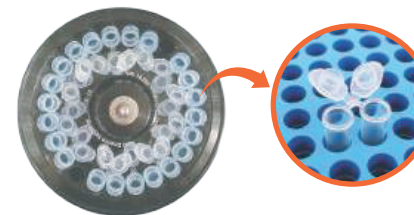
| | | |
|--------------------------|-------|---|
| • 구성품 용량 | | 1 |
| • Know-How | | 2 |
| • Troubleshooting | | 3 |
| • Preparation & Protocol | | 5 |
| • 주의사항 | | 7 |

✓ 구성품 용량 (mL)

| Contents | VN101-100 |
|-------------------------|--------------|
| VL | 30 mL |
| VW-1 | 60 mL |
| VW-2(100% Ethanol) | 빈 Bottle로 제공 |
| 100% Ethanol | 제공되지 않음 |
| RNase free water | 10 mL |
| Proteinase K (20 mg/mL) | 4 EA |
| Capsule Column | 100 Preps |
| Quick Guide | 1 매 |

✓ Know-How for Preparation

1. Column Type Kit를 이용하여 추출할 경우 Elution 시 tube의 cap이 깨지지 않도록 하는 방법



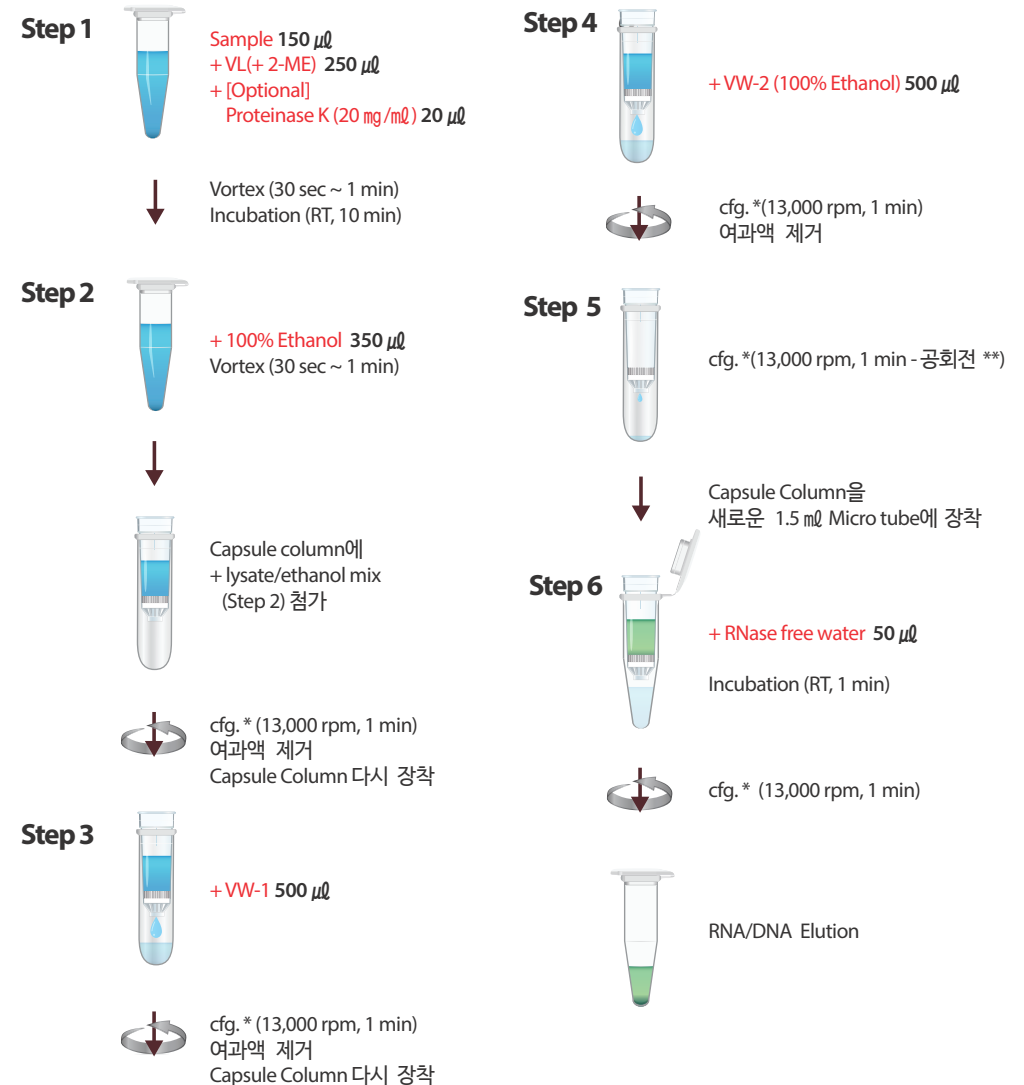
* Centrifuge 시 1.5 mL tube cap을 교차하여 꽂아주시면 cap이 깨지는 것을 최소화 할 수 있습니다 .

2. 적정량의 Fresh한 sample로 추출하기를 권장드립니다 .
3. RNase free water 사용 전에 column을 공회전하여 EtOH을 완전히 제거합니다 .
4. Kit안의 Enzyme은 D.W(Buffer)로 녹인 후 -20°C에 보관합니다 .
5. 유효기한이 지나지 않은 제품을 사용합니다 .
6. VL은 주변 온도가 낮아지면 SDS로 인해 결정이 생길 수 있습니다 .
이런 경우에는 전자렌지 또는 Dry oven에서 녹인 후 사용합니다 .
7. RNA/DNA elution 시 RNase free water를 50°C에서 10분정도 pre-heating 시킨 후 elution하면 효율이 높아집니다 . (특히 , Large DNA fragment 의 경우 효율이 현저히 높아집니다 .)
8. 기타 High yield를 위한 Know-How는 카달로그의 Q.C data page를 참고하세요 .

✔ Troubleshooting

| Trouble | Check List |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Low Yield RNA/DNA | <p>01. Fresh 한 Sample을 사용하셨나요? Virus가 오래될 경우 viral DNA or RNA가 깨져 prep의 효율이 떨어지게 됩니다 . 또한 Virus sample을 얼렸다 녹였다 할 경우 prep의 효율이 떨어지게 됩니다 . 3회 이상 시료를 녹이지 않도록 소량 분주하여 사용하시길 바랍니다 .</p> |
| | <p>02. Binding Buffer 및 VW-2를 100% EtOH로 사용하셨나요? 100% Ethanol 이외의 alcohol 또는 Ethanol의 %가 낮을 경우 효율이 떨어질 수 있습니다 . 반드시 100% Ethanol을 사용하시길 바랍니다 .</p> |
| | <p>03. Enzyme(Proteinase K)은 어디에 보관하셨나요 ? Prep에 사용되는 Enzyme들의 경우, dry 상태에서는 상온 보관이 가능하지만 D.W로 녹이거나 , Buffer를 첨가한 이후에는 냉장 또는 냉동 보관하셔야 합니다 . 그렇지 않을 경우 enzyme activity가 떨어져 prep 효율에 영향을 줄 수 있습니다 . 장기간 보관 시, 냉동보관을 권장드립니다 .</p> |
| | <p>04. VL(= Lysis buffer) 첨가 후 Incubation은 충분히 하셨나 요? Incubation 시간이 짧을 경우 virus가 덜 분해되어 prep의 효율이 떨어질 수 있습니다 . Protocol에 있는 시간을 지켜주시길 바랍니다 .</p> |
| Nicked DNA Degraded DNA | <p>05. Elution 단계에서 RNase free water를 직접 column membrane에 분주하셨나요? RNase free water를 직접 membrane에 분주하지 않을 경우 Elution이 제대로 되지 않을 수 있습니다 . RNase free water를 membrane에 직접 분주하시고 상온에서 1분간 반응 시켜 주시길 바랍니다 .</p> |
| | <p>01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요 ? Tip과 micro tube와 같은 Plasticware나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고 , plasticware는 사용 전 autoclave 하여 사용하세요 .</p> |
| Low Quality RNA/DNA | <p>01. Washing 단계 후 Ethanol을 충분히 건조하셨나요? Elution된 RNA/DNA에 Ethanol이 포함되어 있을 경우 다음 단계의 실험 진행에 문제가 발생할 수 있습니다 . 이를 해결하기 위해 Washing 단계 후 충분히 건조하여 Elution 하면 됩니다 .</p> |

✔ Work Flow



* cfg. : 원심분리

**공회전 : Column에 아무것도 넣지않고 원심분리 (EtOH제거)

✓ Preparation.

- 1-1 Serum, plasma, urine, cell-culture media, cell free body fluids
Sample 150 μ l를 이용하여 Viral RNA/DNA를 정제하도록 디자인 되었습니다.
(Sample양이 150 μ l 이하일 경우, 1X PBS로 맞춘 후 Prep을 수행하시길 바랍니다.)
- 1-2. Urine Cell
Urine sample 1 ml를 원심분리 (3,000 rpm, 3 min)를 수행 후, 상층액을 제거합니다.
Cell (Pellet)에 1X PBS 150 μ l에 suspension하여 샘플 준비합니다.
2. VL solution 1 ml당 100% 2-ME 10 μ l를 실험 전에 혼합하여 사용하는 것을 권장합니다.
2-ME를 사용하지 않더라도 viral RNA/DNA가 추출 되지만, human 시료에서 viral RNA/DNA를 추출 할 경우, 2-ME 사용 시 intracellular RNase의 빠른 불활성화 (inactivation)와 잠재적인 PCR 저해물질들을 제거로 고품질의 RNA를 추출 하여, real-time PCR로 검출 시 더 좋은 검출 민감도를 얻을 수 있습니다.
3. VW-2 Bottle(빈 Bottle로 제공)에는 100% Ethanol을 넣어 사용하시길 바랍니다.

✓ Protocol.

Cell Lysis

- 1 : Sample 150 μ l에 VL 250 μ l를 첨가하고, Vortex (30 sec ~ 1 min)를 수행한 후, 상온에서 10 min간 Incubation 한다.
- * [Optional] : Enveloped Virus의 경우, Proteinase K solution(20 mg/ml)을 20 μ l 첨가한 후 Incubation 한다.

Column Binding & Washing

- 2 : Lysate(Step 1)에 100% Ethanol 350 μ l 첨가 후 Vortex(30 sec ~ 1 min)를 수행하고, Mixture를 Capsule Column으로 옮긴 후 원심분리 (13,000 rpm, 1 min) 를 수행한다.
→ 원심분리 이후 Collection Tube의 여과액 (Flowthrough solution)을 제거한다.

Column Washing

- 3 : Capsule Column에 VW-1 500 μ l 첨가 후 원심분리 (13,000 rpm, 1 min)를 수행하고, Collection Tube의 여과액을 제거한다.
- 4 : Capsule Column에 VW-2(= 100% Ethanol) 500 μ l 첨가 후 원심분리 (13,000 rpm, 1 min)를 수행하고 Collection Tube의 여과액을 제거한다.
- 5 : 원심분리 (13,000 rpm, 1 min - 공회전 *)를 수행한 후, Collection Tube를 제거하고 Spin Column을 새로운 1.5 ml Micro tube에 장착한다.

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

✓ Protocol.

Viral RNA/DNA Elution

- 6 : 상기 Column에 RNase free water 50 μ l를 첨가하여 상온에서 1 min간 반응시킨다.
13,000 rpm, 1 min간 원심분리하여 핵산을 Elution 한다.
→ 추출된 핵산 중 Viral DNA의 경우 -20°C에, Viral RNA의 경우 -70°C 이하에서 보관한다.

☑ 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 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 사용할 것

사용자 유의사항



- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- Proteinase K는 1차 사용 후 냉동(냉장) 보관하며 사용하도록 한다.
(장시간 사용하지 않을 경우, 냉동보관하도록 한다.)
- 냉동 제품을 자주 얼리고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 추출은 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.



MEMO