



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.



*Da*Bead™ Genomic DNA Prep Kit For Plant **(D)**

[Magnetic Bead Type]

Magnetic Stand

- 1.5/2.0 ml stand

MEMO

Table of Contents.

• 구성품 용량	1
• Know-How for Preparation	2
• Preparation & Protocol for 1.5 / 2.0 ml Magnetic Separation Stand	3
• Troubleshooting	5
• Equipment and Reagent to Be supplied by User	6
• Application	7
• 주의사항	8

☑ 구성품 용량 (mL)

Contents	GD703-100 ①
Lysis Buffer	65 mL
Binding Buffer	65 mL
Washing Buffer 1	30 mL
Washing Buffer 2	20 mL
Washing Buffer 3 (빈 Bottle 제공)	1 EA
Elution Buffer	20 mL
RNase A (40 mg/mL)	1 EA
Proteinase K(20 mg/mL)	1 EA
Magnetic Bead	1 mL X 3 EA
Quick Guide	1 매

☑ Know-How for Preparation

1. Washing Buffer 2는 실험 시작 전 fresh하게 만들어서 사용하시기 바랍니다.
2. Sample 준비 시 fresh한 시료를 최대한 곱게 갈아 사용하도록 합니다.
3. 100% Isopropanol / 100% Ethanol을 첨가 후, 오랜 시간 방치할 시 bead끼리 뭉치는 현상이 발생할 수 있으므로 5분 이상 방치 하지 마세요.
4. Lysis Buffer는 주변 온도가 낮아지면 결정이 생길 수 있습니다.
이런 경우에 전자레인지 또는 dry oven에서 heating시켜 녹인 후 사용합니다.
5. Elution한 DNA의 yield가 300 ng/μL 이상일 경우, 전기영동 시 정확한 확인이 어려울 수 있으므로 dilution하여 loading합니다.
6. Elution 마지막 단계에서 Magnetic Bead가 뭉치거나, 분리가 완벽히 되지 않을 경우에는 vortexing 시간을 늘린 후 Magnetic Bead Stand에서 binding시킵니다.
7. Elution volume은 DNA yield에 따라 감소/증가하여 사용하도록 합니다.
(DNA 수율이 높을 경우 점성이 생겨 bead 회수에 어려움이 있을 수 있으므로 elution volume을 증가시켜주는 것이 좋습니다.)
8. 완전히 제거되지 않은 Ethanol은 다음 단계 실험에 영향을 미칠 수 있으므로 충분히 제거합니다.
9. Step 2 에서 [Optional] Chloroform 첨가는 cell debris나 변성된 protein, polysaccharide를 효과적으로 제거할 수 있는 방법입니다.
10. 모든 Magnetic Bead 제품군은 scale-up이 가능합니다.
11. 기타 문의사항은 (주)바이오팩트 학술서비스팀 (☎ 1670-5695)로 연락주세요.
12. 구성품은 제품 type별로 달라질 수 있습니다.

✓ **Preparation.**

1. Washing Buffer 1 bottle에는 반드시 **100% Ethanol 30 mL** (100 prep 기준)을 넣어 사용
2. Washing Buffer 2 bottle에는 반드시 **100% Ethanol 80 mL** (100 prep 기준)을 넣어 사용
3. Washing Buffer 3 bottle에는 반드시 **100% Ethanol** 넣어 사용 (빈 bottle로 제공)
4. Kit에 포함된 enzyme(freezing dry 상태)은 D.W에 녹여 사용하시고, 4°C (or -20°C) 에 보관
5. Sample
 - Sample (Plant Seed)은 10-50 mg 이내로 사용
 - 그외 다른 샘플은 < 80 mg 사용하여 테스트후 적정 용량 선택

✓ **Protocol.**

Lysis & Magnetic Bead Binding

- 1: **Sample(10-50 mg) + Lysis Buffer 600 µL + RNase A(40 mg/mL) 5 µL + Pro-K(20 mg / mL) 5 µL**
→ Vortex (10 sec) → Incubation (RT, 10 min)
- 2: 원심분리(13,000 rpm, 3 min)
→ 상층액을 1.5 mL 새로운 tube에 옮긴 후 **Binding Buffer 600 µL** 첨가
→ Vortex (10 sec)
- 3: **Magnetic bead 30 µL** 첨가 후 vortex (10 sec)
→ 1.5mL tube를 Magnetic Separation Stand에 장착 (30 sec ~ 1 min간 binding)
→ Stand에 tube가 장착된 상태로 5회 앞뒤로 inverting하여 tube cap의 bead 회수
→ 1 min 후 stand에 장착된 상태로 solution 제거 (pipetting하여 제거 권장)

Magnetic Bead Washing & Dry

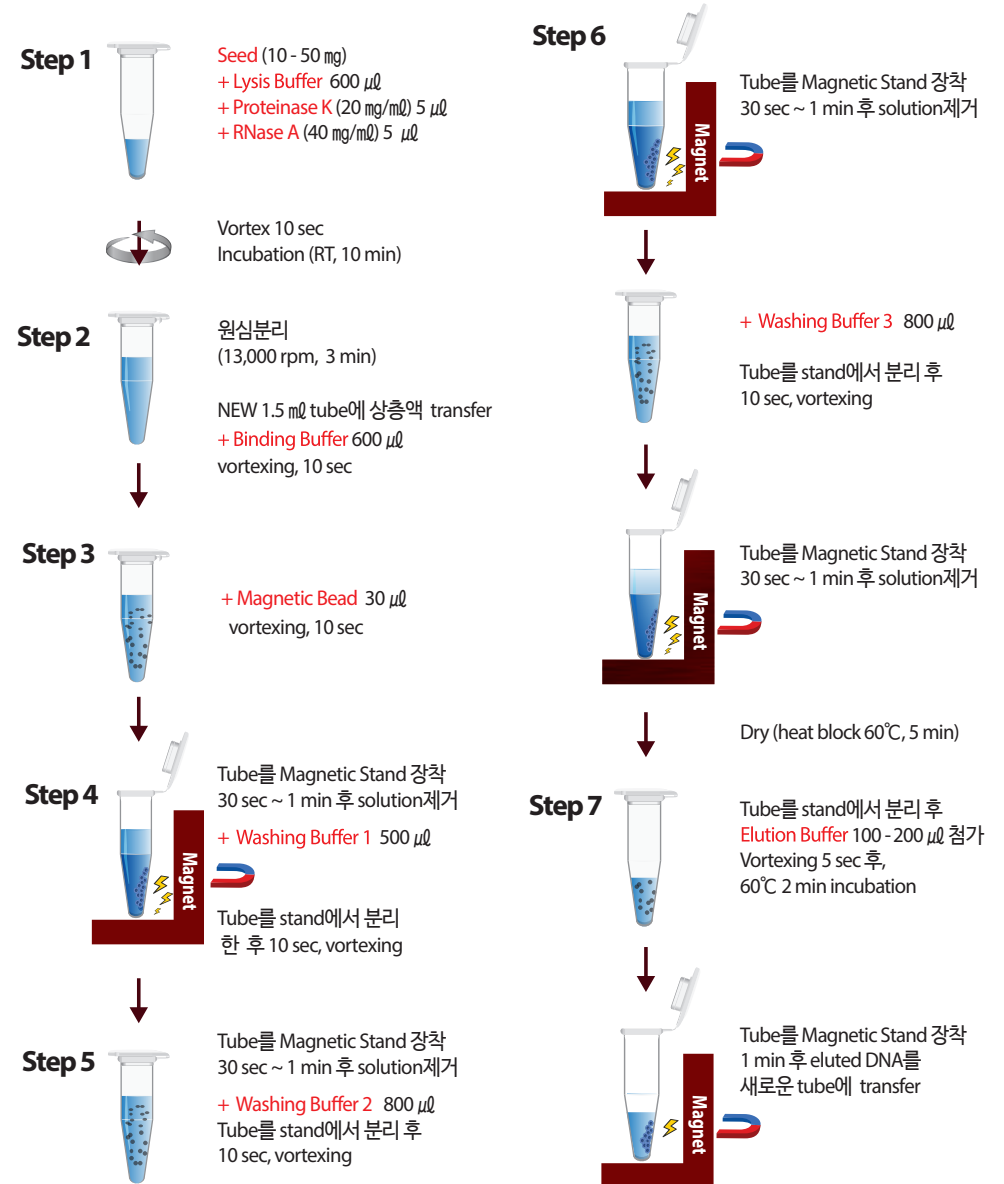
- 4: **Washing Buffer 1 500 µL** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 solution 제거
- 5: **Washing Buffer 2 800 µL** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 solution 을 pipette으로 완전히 제거
- 6: **Washing Buffer 3(100% Ethanol) 800 µL** 첨가 → Stand에서 tube를 분리 후 10 sec간 vortexing
→ Stand에 다시 장착 후 30 sec ~ 1 min 뒤 Solution 을 pipette으로 완전히 제거
→ 건조(dry oven (60°C) 10 min / heat block (60°C) 5 min / dryer 3 min)

DNA Elution

- 7: Stand에서 1.5 mL tube를 분리 후 **Elution Buffer** 를 100 - 200 µL 첨가
Vortexing (5 sec) or tapping → Incubation (60°C, 2 min)
→ Magnetic Bead를 stand에 장착 후 1 min 뒤 eluted DNA를 새로운 1.5 mL tube에 옮김
→ Agarose Gel에 전기영동하여 농도 확인 → 4°C 또는 -20°C에서 보관

[Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/100로 희석하여 1 µL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

✓ **Work Flow**



✓ Troubleshooting

Trouble	Check List
Low Yield DNA	<p>01. Washing Buffer를 만드지 오래 된 것은 아닌가요? Washing Buffer 2 (80% Ethanol)를 만드지 오래 되었을 경우 evaporation으로 인해 Ethanol의 농도가 낮아져 yield가 떨어지게 됩니다. Washing Buffer 2를 새로 만들어 사용해 보세요.</p> <p>02. Washing Buffer 2에 Ethanol을 첨가 하셨나요? Washing Buffer 2에는 사용 전 반드시 protocol에 기재된 용량만큼 96 - 100% Ethanol을 첨가하셔야 합니다.</p> <p>03. 100% Ethanol / Magnetic Bead 첨가한 후 충분히 vortexing 하셨나요? Magnetic Bead에 DNA가 충분히 binding 될 수 있도록 충분히 vortex 하여야 합니다.</p> <p>04. Enzyme(RNase A, Proteinase K)은 어디에 보관하셨나요? 추출에 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 추출 효율에 영향을 줄 수 있습니다. 장기간 사용하지 않을 경우, 냉동보관을 권장드립니다.</p> <p>05. Washing step에서 Magnetic Bead가 소실되지 않았나요? Magnetic Bead가 Magnetic Separation Stand에 완전히 부착되도록 stand에 장착 후 30 sec ~ 1 min 정도 충분한 binding 시간을 주어야 합니다. 또한 실험 진행중 bead가 tube cap부분에 부착되어 소실될 수 있으므로 Magnetic Separation Stand에 장착 후 stand채로 앞뒤로 inverting하여 stand에 장착되지 않은 bead도 회수할 수 있도록 합니다.</p> <p>06. Buffer를 충분히 섞어주셨나요? Buffer와 Magnetic Bead를 넣고 suspension을 많이 할수록 높은 수율의 Genomic DNA를 얻을 수 있습니다.</p>
Nicked DNA Degraded DNA	<p>01. Nuclease가 오염된 것은 아닌가요? Plasticware나 buffer에 nuclease가 오염되었는지 확인하고, plasticware는 사용 전 autoclave 하여 사용하세요.</p>
Eluted RNA	<p>01. RNase A / Proteinase K 첨가 후 Incubation은 충분히 하셨나요? 동결건조된 enzyme은 D.W에 녹인 후 냉장(냉동)보관하여 사용하며, 사용 시 protocol에 기재된 반응 온도와 시간을 지키도록 합니다.</p>
Low Quality DNA	<p>01. Washing 단계 후 EtOH을 충분히 건조 하셨나요? Elution된 DNA에 EtOH이 포함되어 있을 경우 다음 단계의 실험 진행에 문제가 발생할 수 있습니다. 이를 해결하기 위해 washing 단계 후 dry oven, dryer, heat block을 이용하여 EtOH을 완전히 건조한 후 elution 하면 됩니다.</p>

✓ Troubleshooting

Trouble	Check List
Hard to separate the magnetic beads.	<p>01. DNA의 농도가 너무 높나요? DNA의 농도가 높은 경우 washing 및 elution 시 Magnetic Bead가 잘 분리되지 않을 수 있습니다. 5 sec간 vortexing 후 spin down하여 Magnetic Separation Stand에 재장착 합니다.</p> <p>02. Elution volume이 너무 적은 것은 아닌가요? 추출된 DNA의 양이 많은 경우, Magnetic Bead에 binding된 DNA가 완전히 elution되지 않을 수 있습니다. elution volume을 늘려 진행하거나 elution이 끝난 bead에 elution buffer를 넣고 elution 단계를 한번 더 진행합니다.</p>

✓ Equipment and Reagent to Be supplied by User

- Magnetic Separation Stand
- Vortex Mixer
- Heat Block
- 1.5 / 2.0 ml tube
- Pipette & Tips
- Ethanol (96 - 100%)
- Option : Dryer, Dry oven

Application

<Plant genomic DNA Prep Kit 별 사용 가능한 식물 종류>

++, +++ (추출 효율)

		Plant [GD703-100]	GMO Kit I [GD706-100]	Rice [GD707-480]	Seed [GD709-100]	
	Cat.no	Plant A type [GD703-100 ①]	Plant B type [GD703-100 ②]	Plant C type [GD703-100 ③]	Plant D type [GD703-100 ④]	Plant E type [GD703-100 ⑤]
type	sample name					
잎	감나무	++				
잎	고구마	++				
잎	고추	++				
잎	국화	++	++		+++	
잎	깨	++		+++		
잎	동백나무	++				
잎	돼지풀	+++				
잎	메론	++		+++		
잎	밀			++		+++
잎	밤나무	++				
잎	배추	++				
잎	백합	+++				
잎	버팀목	++				
잎	벼	+++		++		
잎	병풀	++				
잎	부추	++				
잎	브로콜리	++				
잎	사과나무	+++				
잎	미선나무					+++
잎	사탕수수	++	++	++		
	Cat.no	Plant A type [GD703-100 ①]	Plant B type [GD703-100 ②]	Plant C type [GD703-100 ③]	Plant D type [GD703-100 ④]	Plant E type [GD703-100 ⑤]
type	sample name					
잎	상추/적상추	+++				
잎	수박			++		+++
잎	시금치	++				
잎	양배추	++				
잎	오이	++				
잎	잡초	++				
잎	참외	++				
잎	청경채	++				
잎	컬리플라워	++				
잎	콩		+++	+++		
잎	토마토			++		+++
잎	틀립	+++				
잎	파	++				
줄기	고구마	++				
줄기	망두릅	++				
줄기	미나리	++				
줄기	유채 (GMO)	++				
종자	수박			++		+++
종자	가지				+++	
종자	강낭콩/망콩		+++			

		Plant [GD703-100]	GMO Kit I [GD706-100]	Rice [GD707-480]	Seed [GD709-100]	
	Cat.no	Plant A type [GD703-100 ①]	Plant B type [GD703-100 ②]	Plant C type [GD703-100 ③]	Plant D type [GD703-100 ④]	Plant E type [GD703-100 ⑤]
type	sample name					
종자	고추			+++	++	
종자	깨/들깨				++	
종자	당근		++		+++	
종자	대두		++			
종자	맵쌀			+++		
종자	무/얼무				++	
종자	밀			+++	++	
종자	배추				++	
종자	백출				++	
종자	보리			+++		
종자	비타민채				++	
종자	비트				+++	
종자	상추				++	
종자	쌀/참쌀			++		
종자	알팔파				++	
종자	유채 (GMO)		++			
종자	적갓				+++	
종자	콩		+++	++		++
종자	파				+++	
종자	팥		++			+++
	Cat.no	Plant A type [GD703-100 ①]	Plant B type [GD703-100 ②]	Plant C type [GD703-100 ③]	Plant D type [GD703-100 ④]	Plant E type [GD703-100 ⑤]
type	sample name					
종자	현미			++	+++	
종자	호박					+++
종자	흑미/흑미참쌀			++		
열매	가지	++	+++			
열매	옥수수		++		++	
뿌리	냉이	++				
뿌리	달래	+++				
뿌리	씀바귀	++				
뿌리	인삼	++				
뿌리	파	++				
꽃잎	봉선화					++
꽃잎	토마토	++		+++		
껍질	귤	++				
구황작물	감자		++			
구황작물	고구마		++			
기타	건목재	+				
버섯류	새송이버섯	++				+++
버섯류	느타리버섯	++				+++
버섯류	만송이버섯	++				+++

- 위 데이터는 당사 테스트가 완료된 샘플입니다.
 - 보유하신 샘플에 따라 추출 효율에 차이가 있을 수 있습니다.
 - 샘플 테스트를 권장합니다. (학술서비스팀으로 문의주세요.)

☑ 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 피할 것.
- 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.
- Magnetic Separation Stand, 96well Magnetic Stand, 96well Magnetic Pipettor를 dry oven이나 heat gun에 장시간 노출할 경우 화상 주의

사용자 유의사항




- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- Kit에 포함된 Enzyme은 1차 사용 후 냉동(냉장)보관하며 사용하도록 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.



MEMO

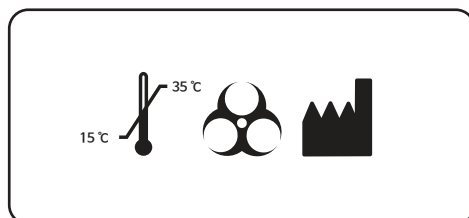


Please contact us,
if you have any question and need help.

 T)1670-5695

 www.bio-ft.com

 info@bio-ft.com



Quick Guide

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



*Da*Bead™ Genomic DNA Prep Kit For Plant (D)

[For Magnetic Bead]

Magnetic Pipettor
- 8well type

✓ Contents

Lysis Buffer (60 mL), **RNase A** (40 mg/mL) (1ea), **Proteinase K** (20 mg/mL) (1ea), **Adaptor 8 strip tip** (12ea), Quick Guide (1매)
Reagent Plate (6ea) : [1/7 well : Binding Buffer], [2/8 well : Washing Buffer 1], [3/9 well : Washing Buffer 2],
 [4/10 well : Washing Buffer 3], [5/11 well : Elution Buffer], [6/12 well : Magnetic Bead]

✓ Preparation

1. Kit에 포함된 enzyme (freezing dry상태) 은 D.W에 녹여 사용하고 4°C (or -20°C)에 보관
2. Lysis Buffer는 Prep 당 600 µL 사용 기준이며, 그 이상 사용시 별도 구매
3. Sample
 - Sample (Plant Seed)은 10-50 mg 이내로 사용
 - 적당한 용기에서 파쇄기 또는 Liquid nitrogen으로 Fresh-Freeze tissues를 최대한 곱게 갈아주며, DNase 활성에 의한 DNA 분해를 최소화하기 위해 샘플을 차갑게 유지하고 신속하게 작업수행
4. DaBead™ 8well Magnetic Pipettor 사용

✓ Protocol.

Lysis & Magnetic Bead Binding

1 : 1.5 mL tube에 **Sample + Lysis Buffer 600 µL + RNase A (40 mg/mL) 5 µL + Proteinase K (20 mg/mL) 5 µL** 혼합
 → Vortex(10 sec) → Incubation(RT, 10 min)
 → 원심분리(13,000 rpm, 3 min)
 ※ Tip : Incubation 중간 중간 vortexing을 진행하면 효율이 증가합니다.

- 2 : Step1의 상층액 500 µL를 Deep Well Plate 1/7 열로 transfer
- 3 : Deep Well Plate 6/12 열에 Adaptor 8-strip tip이 장착된 Pipettor를 이용하여 Magnetic Bead를 회수하고,
 1/7 열에서 Adaptor 8-strip tip을 분리
 → Tapping (30회 이상)
 → Adaptor 8-strip을 Pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수

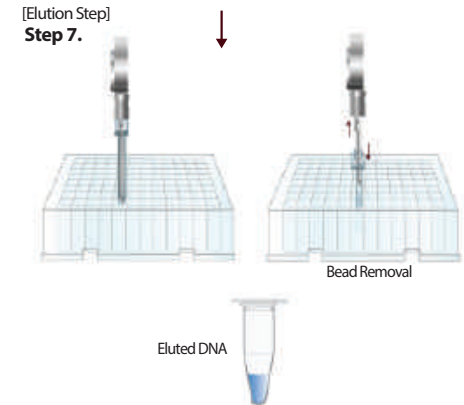
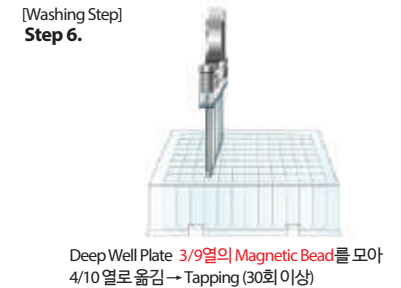
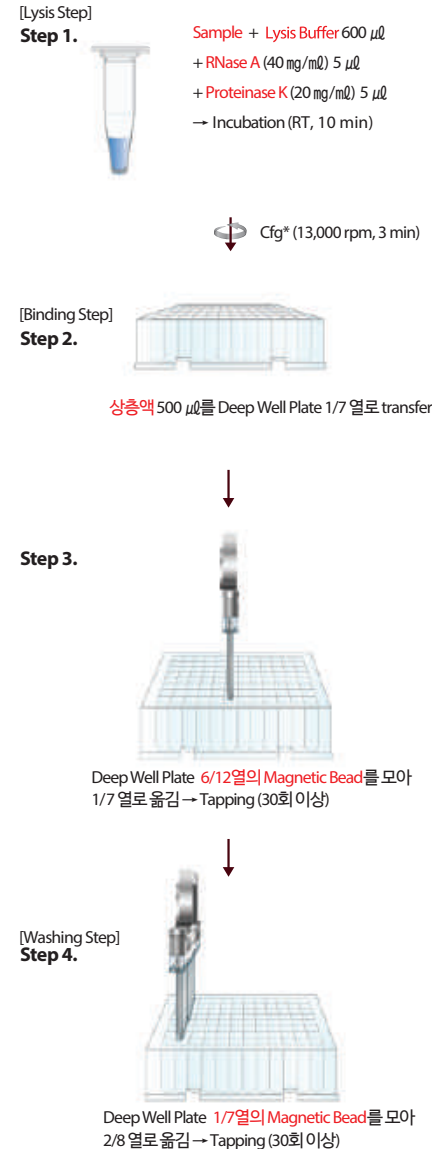
Magnetic Bead Washing

- 4 : **Washing Buffer 1**이 분주되어 있는 Deep Well Plate 2/8 열에 Bead가 부착된 Adaptor 8-strip tip에서 Pipettor 분리
 → Tapping (30회 이상)
 → Adaptor 8-strip tip을 Pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수
- 5 : **Washing Buffer 2**가 분주되어 있는 Deep Well Plate 3/9 열에 Bead가 부착된 Adaptor 8-strip tip에서 Pipettor 분리
 → Tapping (30회 이상)
 → Adaptor 8-strip tip을 Pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수
- 6 : **Washing Buffer 3**이 분주되어 있는 Deep Well Plate 4/10 열에 Bead가 부착된 Adaptor 8-strip tip에서 Pipettor 분리
 → Tapping (30회 이상)
 → Adaptor 8-strip tip을 Pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수 → Bead Dry(~ 5 min)
 [Optional] 8 Well Magnetic Pipettor를 실험대 선반(철판)에 부착하여 bead dry 하시면 편리합니다.

DNA Elution

- 7 : **Elution Buffer**가 분주되어 있는 Deep Well Plate 5/11 열에 Bead가 부착된 adaptor 8-strip에서 Pipettor 분리
 → Tapping (30회 이상)
 → Adaptor 8-strip를 Pipettor에 다시 장착 후 Bead 회수
 → Eluted DNA를 새로운 1.5 mL tube로 transfer
 → Agarose gel에 전기 영동하여 농도확인(4°C 또는 -20°C에서 보관)
 [Optional] Sample에 따라 Elution 후 RNA가 보일 경우, 제공된 RNase A 일부를 1/100로 희석하여 1 µL 첨가하여 상온에서 5 ~ 30 min Incubation 후 확인

✓ Work Flow



※ Tapping

• Adaptor 8-strip tip 양쪽 끝 또는 한쪽 끝을 잡고 위아래로 흔들어 Buffer 와 Bead를 잘 혼합해 줍니다.