

## 주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

### 제품보증 및 책임사항

- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 모든 제품의 결과를 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 접촉 시 : 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.
- 냉동 제품을 자주 열고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
- 필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작은 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.

## No Amplification

### Template

- 01. Starting template check**  
농도가 낮거나 quality가 낮은 경우 증폭이 되지 않을 수 있습니다. 다시 추출하거나 사용량을 늘려 재수행합니다.
- 02. PCR Inhibitor**  
Template의 purity가 좋지 않은 경우 증폭이 되지 않을 수 있습니다. Template를 D.W에 희석하여 PCR하거나 다시 추출하여 수행합니다.

### Primer

- 01. Primer Concentration Check**  
Primer의 농도가 너무 높거나 낮은 경우 PCR 효율이 감소될 수 있습니다. 적정 농도가 조정하여 사용합니다.
- 02. Primer design**  
Primer를 새로 디자인하여 재수행합니다. Primer binding site에 구조(GC-rich contents, 2차구조 등)가 있을 경우 binding site를 변경하여 새로 primer를 design하며, 일반적으로 Primer의 size는 17~25 bp, 증폭 size는 80 ~ 150 bp가 되도록 설계합니다.
- 03. Primer degraded**  
Primer를 다시 희석하거나 새로 합성하여 사용합니다.

### 온도/시간 check

- 01. 초기 activation 시간 check**  
자사 Real-Time PCR Master Mix (Pre-Mix)의 Enzyme은 chemical-mediated Hot Start Taq으로 초기 activation 시간을 15 min으로 설정해야 합니다. (Antibody-mediated Hot start Taq은 2min)
- 02. Annealing Temperature(AT)**  
 $Tm=(A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$ , AT= $Tm-(4-6^{\circ}C)$  이 산술법으로 설정 후 에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2 $^{\circ}C$  낮추어 진행합니다. qPCR의 AT는 일반적으로 50 ~ 65  $^{\circ}C$ 가 되도록 설정합니다.

## NTC (Non-Template Control)

### Primer dimer

- 01. Primer dimer 유무 확인**  
Melting curve 혹은 agarose gel을 확인하여 primer dimer의 유무를 확인하고 결과에 영향을 미칠 경우, 다시 set-up하거나 primer를 새로 design합니다.

### Contamination

01. 새로운 시약으로 재수행
02. 반응액은 clean bench에서 진행
03. UDG System  
Cross-over contamination 방지를 위한 UDG System이 적용된 제품을 사용합니다.

## Non-Specific amplification / Primer dimer

### 온도/시간 check

- 01. Annealing Temperature(AT)**  
Annealing temperature가 너무 낮을 경우 비특이적인 band가 증폭될 수 있습니다. AT를 2 $^{\circ}C$ 씩 높여 테스트하거나 온도 gradient를 이용하여 최적 AT를 설정합니다.

### Primer

- 01. Primer design**  
Melting curve / 전기영동을 통해 비특이적인 산물의 증폭 여부를 확인합니다. Target gene만 증폭될 수 있도록 primer를 다시 design하여 수행합니다.
- 02. Primer Concentration**  
높은 농도의 primer를 사용할 경우 primer dimer가 형성될 수 있습니다. Primer를 serial dilution하여 dimer가 사라지는 농도를 테스트한 후 재수행 합니다.

## PCR efficiency above 105 %

### Template / Primer

01. Primer dimer 유무 check
02. Non-Specific band 유무 check  
Melting curve를 확인하여 primer dimer의 유무를 확인하고 결과에 영향을 미칠 경우 PCR조건을 다시 set-up합니다.
03. Template의 농도 check  
Template의 농도를 재확인하고 새로운 샘플로 다시 수행합니다.

## PCR efficiency below 90 %

### Primer

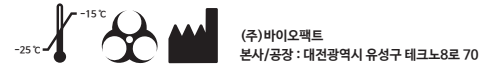
- 01. Primer Concentration**  
Primer의 농도가 너무 높거나 낮은 경우 PCR 효율이 감소될 수 있습니다. 적정 농도가 조정하여 사용합니다.
- 02. Primer design**  
Primer를 새로 디자인하여 재수행합니다. Real-Time PCR 정 conventional PCR로 target gene의 amplification 여부를 확인합니다.

### Product Size

- 01. Amplicon size check**  
Amplicon은 80~150 bp가 되도록 design하는 것을 권장합니다. Amplicon의 size가 작을수록 높은 증폭 효율을 보이며, 500 bp를 초과하지 않도록 합니다.

### Extension Time

- 01. Extension Time check**  
Extension Time이 짧을 경우 PCR 효율이 감소될 수 있습니다. 조건 설정 시 Extension Time을 늘려 진행합니다.



## 주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

### 제품보증 및 책임사항

- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 모든 제품의 결과를 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 접촉 시 : 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.
- 냉동 제품을 자주 열고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
- 필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작은 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.

## No Amplification

### Template

- 01. Starting template check**  
농도가 낮거나 quality가 낮은 경우 증폭이 되지 않을 수 있습니다. 다시 추출하거나 사용량을 늘려 재수행합니다.
- 02. PCR Inhibitor**  
Template의 purity가 좋지 않은 경우 증폭이 되지 않을 수 있습니다. Template를 D.W에 희석하여 PCR하거나 다시 추출하여 수행합니다.

### Primer

- 01. Primer Concentration Check**  
Primer의 농도가 너무 높거나 낮은 경우 PCR 효율이 감소될 수 있습니다. 적정 농도가 조정하여 사용합니다.
- 02. Primer design**  
Primer를 새로 디자인하여 재수행합니다. Primer binding site에 구조(GC-rich contents, 2차구조 등)가 있을 경우 binding site를 변경하여 새로 primer를 design하며, 일반적으로 Primer의 size는 17~25 bp, 증폭 size는 80 ~ 150 bp가 되도록 설계합니다.
- 03. Primer degraded**  
Primer를 다시 희석하거나 새로 합성하여 사용합니다.

### 온도/시간 check

- 01. 초기 activation 시간 check**  
자사 Real-Time PCR Master Mix (Pre-Mix)의 Enzyme은 chemical-mediated Hot Start Taq으로 초기 activation 시간을 15 min으로 설정해야 합니다. (Antibody-mediated Hot start Taq은 2min)
- 02. Annealing Temperature(AT)**  
 $Tm=(A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$ , AT= $Tm-(4-6^{\circ}C)$  이 산술법으로 설정 후 에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2 $^{\circ}C$  낮추어 진행합니다. qPCR의 AT는 일반적으로 50 ~ 65  $^{\circ}C$ 가 되도록 설정합니다.

## NTC (Non-Template Control)

### Primer dimer

- 01. Primer dimer 유무 확인**  
Melting curve 혹은 agarose gel을 확인하여 primer dimer의 유무를 확인하고 결과에 영향을 미칠 경우, 다시 set-up하거나 primer를 새로 design합니다.

### Contamination

01. 새로운 시약으로 재수행
02. 반응액은 clean bench에서 진행
03. UDG System  
Cross-over contamination 방지를 위한 UDG System이 적용된 제품을 사용합니다.

## Non-Specific amplification / Primer dimer

### 온도/시간 check

- 01. Annealing Temperature(AT)**  
Annealing temperature가 너무 낮을 경우 비특이적인 band가 증폭될 수 있습니다. AT를 2 $^{\circ}C$ 씩 높여 테스트하거나 온도 gradient를 이용하여 최적 AT를 설정합니다.

### Primer

- 01. Primer design**  
Melting curve / 전기영동을 통해 비특이적인 산물의 증폭 여부를 확인합니다. Target gene만 증폭될 수 있도록 primer를 다시 design하여 수행합니다.
- 02. Primer Concentration**  
높은 농도의 primer를 사용할 경우 primer dimer가 형성될 수 있습니다. Primer를 serial dilution하여 dimer가 사라지는 농도를 테스트한 후 재수행 합니다.

## PCR efficiency above 105 %

### Template / Primer

01. Primer dimer 유무 check
02. Non-Specific band 유무 check  
Melting curve를 확인하여 primer dimer의 유무를 확인하고 결과에 영향을 미칠 경우 PCR조건을 다시 set-up합니다.
03. Template의 농도 check  
Template의 농도를 재확인하고 새로운 샘플로 다시 수행합니다.

## PCR efficiency below 90 %

### Primer

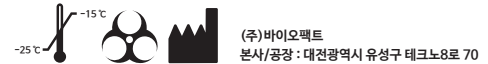
- 01. Primer Concentration**  
Primer의 농도가 너무 높거나 낮은 경우 PCR 효율이 감소될 수 있습니다. 적정 농도가 조정하여 사용합니다.
- 02. Primer design**  
Primer를 새로 디자인하여 재수행합니다. Real-Time PCR 정 conventional PCR로 target gene의 amplification 여부를 확인합니다.

### Product Size

- 01. Amplicon size check**  
Amplicon은 80~150 bp가 되도록 design하는 것을 권장합니다. Amplicon의 size가 작을수록 높은 증폭 효율을 보이며, 500 bp를 초과하지 않도록 합니다.

### Extension Time

- 01. Extension Time check**  
Extension Time이 짧을 경우 PCR 효율이 감소될 수 있습니다. 조건 설정 시 Extension Time을 늘려 진행합니다.



# Quick Guide

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



## BioFACT™

### Bst DNA Polymerase, Large Fragment

[Cat. No. BP101-16h, BP101-80h]

Contents	BP101-16h	BP101-80h
BioFACT™ <i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment (8 unit/ $\mu$ l)	1,600 units	8,000 units
10X <i>Bst</i> Reaction Buffer	0.5 ml x 1 ea	1.0 ml x 3 ea
Each 10 mM dNTP Mix	0.9 ml x 1 ea	0.9 ml x 5 ea

**Description :** BioFACT™ *Bst* DNA Polymerase, Large Fragment is the portion of the *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase protein that contains the 5' → 3' polymerase activity, but lacks 5' → 3' exonuclease activity. *Bst* DNA polymerase, Large Fragment is prepared from an *E.coli* strain containing the *Bacillus stearothermophilus* DNA polymerase gene, lacking the 5' → 3' exonuclease domain.

### Protocol [Typical LAMP Protocol]

1) Add following components for a single 25  $\mu$ l reaction.

PCR Mixture	Vol. 25 $\mu$ l	Final Conc.
DNA Template	X $\mu$ l	> 10 copies/rxn
10X <i>Bst</i> Reaction Buffer	2.5 $\mu$ l	1X
Each 10 mM dNTP Mix	4.5 $\mu$ l	each 1.8 mM
FIP/BIP Primer(25X)	1 $\mu$ l	1.6 $\mu$ M
Loop F/R Primer(25X)	1 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
F3/B3 Primer(25X)	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
<i>Bst</i> Polymerase, Large Fragment (8 unit/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l	8 unit/rxn
Add D.W to		Adjust to final 25 $\mu$ l

2) Incubation the following at 65°C for 30 ~ 60 minutes.

#### Application :

- Loop-mediated isothermal amplification(LAMP)
- Whole genome amplification(WGA)
- Multiple displacement amplification(MDA)
- Ramification amplification(RAM)
- Random-primed DNA labeling

#### General Guidelines :

- ① A LAMP Primer Mix can be prepared with all 4 or 6(with Loop) primers.  
A 25X Primer Mix should contain : 40  $\mu$ M FIP, 40  $\mu$ M BIP, 5  $\mu$ M F3, 5  $\mu$ M B3, 10  $\mu$ M LoopF, 10  $\mu$ M LoopR in TE or water.
- ② Reaction should be setup on ice.
- ③ Running a no-template control is strongly recommended to ensure amplification specificity.
- ④ If optimization is desired, try titrating *Bst* DNA Polymerase (0.04 ~ 0.32 unit/ $\mu$ l) or changing reaction temperature(50 ~ 68°C)

#### Quality Control :

- Purity : > 99% on SDS-PAGE
- Endonuclease-free
- Exonuclease-free
- RNase-free

**Expiration Date :** -20±5°C 보관 시 1년 6개월



Please contact us, if you have any question and need help.  
T)1670-5695 www.bio-ft.com info@bio-ft.com

2023. 03. 15 (설명서 개정일)

# Quick Guide

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



## BioFACT™

### Bst DNA Polymerase, Large Fragment

[Cat. No. BP101-16h, BP101-80h]

Contents	BP101-16h	BP101-80h
BioFACT™ <i>Bst</i> DNA Polymerase, Large Fragment (8 unit/ $\mu$ l)	1,600 units	8,000 units
10X <i>Bst</i> Reaction Buffer	0.5 ml x 1 ea	1.0 ml x 3 ea
Each 10 mM dNTP Mix	0.9 ml x 1 ea	0.9 ml x 5 ea

**Description :** BioFACT™ *Bst* DNA Polymerase, Large Fragment is the portion of the *Bacillus stearothermophilus* DNA Polymerase protein that contains the 5' → 3' polymerase activity, but lacks 5' → 3' exonuclease activity. *Bst* DNA polymerase, Large Fragment is prepared from an *E.coli* strain containing the *Bacillus stearothermophilus* DNA polymerase gene, lacking the 5' → 3' exonuclease domain.

### Protocol [Typical LAMP Protocol]

1) Add following components for a single 25  $\mu$ l reaction.

PCR Mixture	Vol. 25 $\mu$ l	Final Conc.
DNA Template	X $\mu$ l	> 10 copies/rxn
10X <i>Bst</i> Reaction Buffer	2.5 $\mu$ l	1X
Each 10 mM dNTP Mix	4.5 $\mu$ l	each 1.8 mM
FIP/BIP Primer(25X)	1 $\mu$ l	1.6 $\mu$ M
Loop F/R Primer(25X)	1 $\mu$ l	0.4 $\mu$ M
F3/B3 Primer(25X)	1 $\mu$ l	0.2 $\mu$ M
<i>Bst</i> Polymerase, Large Fragment (8 unit/ $\mu$ l)	1 $\mu$ l	8 unit/rxn
Add D.W to		Adjust to final 25 $\mu$ l

2) Incubation the following at 65°C for 30 ~ 60 minutes.

#### Application :

- Loop-mediated isothermal amplification(LAMP)
- Whole genome amplification(WGA)
- Multiple displacement amplification(MDA)
- Ramification amplification(RAM)
- Random-primed DNA labeling

#### General Guidelines :

- ① A LAMP Primer Mix can be prepared with all 4 or 6(with Loop) primers.  
A 25X Primer Mix should contain : 40  $\mu$ M FIP, 40  $\mu$ M BIP, 5  $\mu$ M F3, 5  $\mu$ M B3, 10  $\mu$ M LoopF, 10  $\mu$ M LoopR in TE or water.
- ② Reaction should be setup on ice.
- ③ Running a no-template control is strongly recommended to ensure amplification specificity.
- ④ If optimization is desired, try titrating *Bst* DNA Polymerase (0.04 ~ 0.32 unit/ $\mu$ l) or changing reaction temperature(50 ~ 68°C)

#### Quality Control :

- Purity : > 99% on SDS-PAGE
- Endonuclease-free
- Exonuclease-free
- RNase-free

**Expiration Date :** -20±5°C 보관 시 1년 6개월



Please contact us, if you have any question and need help.  
T)1670-5695 www.bio-ft.com info@bio-ft.com

2023. 03. 15 (설명서 개정일)