

SimpleWay™

gDNA Prep & PCR Set I

(For Whole Blood, Saliva, Hair Root, Oral Epithelial Cell, Animal Tissue, Plant)

| Contents | SW401-100 |
|----------------------------------|----------------|
| SLB | 1.0 mL x 10 ea |
| Proteinase K(20 mg/mL) | 0.55 mL x 1 ea |
| SimpleWay™ 2X PCR Master Mix III | 0.5 mL x 5 ea |
| 5X Band Helper™ | 1.0 mL x 1 ea |
| 6X DNA Loading Dye | 1.0 mL x 1 ea |

Description

SimpleWay™ gDNA Prep & PCR Set I은 다양한 샘플(Whole Blood, Saliva, Hair Root, Oral Epithelial Cell, Animal Tissue, Plant)을 SLB Buffer를 이용하여 간단하게 crude한 gDNA를 추출하고 2X PCR Master Mix III를 이용하여 PCR을 수행할 수 있도록 제작된 Kit입니다.

제품 특징 (Feature)

- 간단한 Genomic DNA 추출 : Boiling Type
- Rapid Preparation
- Safe and economical
- Low Handling error
- For Whole Blood, Saliva, Hair Root, Oral Epithelial Cell, Animal Tissue, Plant

Preparation

1. 사용하기 전, Boiling을 위한 99°C Heat block 또는 PCR 장비를 준비합니다.
2. Kit에 포함된 Proteinase K(Dry 상태)에 D.W 550 µl를 넣어 20 mg/mL농도로 잘 녹인 후 바로 사용하거나 -20°C에 보관하여 사용합니다.
3. Sample(Fresh한 샘플 권장)
 - Whole blood, Saliva 샘플은 10 ~ 50 µl를 사용합니다.
 - Oral Epithelial Cell은 채취용 brush를 사용하여 D.W 500 µl에 현탁하여 10 ~ 50 µl를 사용합니다.
 - Hair Root(모근)는 1 ~ 4 가닥을 사용합니다.
 - Animal Tissue는 30 mg 이하를 사용합니다.
 - Plant leaf은 0.5 ~ 2.0 mm 크기로 잘라서 1 ~ 3 disc를 사용합니다.

Protocol

1. 채취한 샘플을 각 tube 아랫쪽에 위치하도록 넣습니다.
 - 99°C Heat block : 1.5 mL tube 사용
 - PCR 기기 : 0.2 mL PCR tube 또는 96 well plate 사용
2. SLB Buffer 100 µl를 각 샘플에 넣은 후 99°C Heat block 또는 PCR 장비에서 10 min간 반응시킵니다.
 - Boiling rack에 장착하여 끓는 물에서 10 min간 반응가능
 - SLB Buffer는 50 ~ 100 µl 사용가능
 - Hair Root(모근) / Animal Tissue 샘플은 Proteinase K (20 mg/mL) 5 µl를 추가로 첨가하여 함께 반응하도록 합니다.
3. 상온에서 2 min간 식힌 후, 12,000 rpm에서 1 min간 원심분리합니다.
4. 상층액을 template로 사용하여 PCR 합니다.
 - Template는 PCR volume의 10%(v/v)를 초과하지 않도록 해야 합니다.

PCR Mixture & Cycle

| PCR Mixture(Reaction Vol. 50 µl) | Cycle |
|--|-------------------------|
| SimpleWay™ 2X PCR Master Mix III 25 µl | 95 °C 2 min X 1 |
| Primer Mixture (10 pmole/µl) 2 µl | 95 °C 20 sec |
| Template DNA 1 ~ 5 µl | AT 20-40 sec } X 30 ~50 |
| 5X Band Helper™ 0 ~ 20 µl | 72 °C 1min/kb |
| Add D.W to 50 µl | 72 °C 5 min X 1 |
| | 8 °C ∞ |

5X Band Helper™ 사용 예

| Reaction mixture (conc. of 5X Band Helper™) | Mix I (0X) | Mix II (0.5X) |
|---|------------|---------------|
| Template DNA | - µl | - µl |
| SimpleWay™ 2X PCR Master Mix III | 25 µl | 25 µl |
| Primer Mixture (10 pmole/µl) | 2 µl | 2 µl |
| 5X Band Helper™ | 0 µl | 5 µl |
| Add D.W to | 50 µl | 50 µl |

5X Band Helper™ : PCR 증폭용 Additives로 High G+C contents 또는 secondary structure 구조를 지닌 template의 증폭에 매우 효과적입니다. (단, Fidelity기능이 있는 PCR enzyme 사용 시에는 mutation의 위험이 있을 수 있으므로 최소량의 사용을 권장합니다.)

✓ Tip.

- PCR 수행 시 사용하는 Template의 종류 및 농도, 증폭하고자 하는 target size, primer의 Tm에 따라 template의 사용량, AT, Extension time, Taq의 양, Cycle 수, 5X Band Helper™ 양을 조절해 사용합니다.
- 2Kb 이하 gene 증폭시 사용을 권장합니다.
- 추출된 genomic DNA는 장기간 보관이 어려우므로, 추출 후 바로 PCR 하도록 권장합니다.
- PCR을 위한 최소 genomic DNA 추출이므로 전기영동 또는 Nano Drop을 이용한 농도측정에 적합하지 않습니다.
- SLB 시약은 최초 1회 사용 후 상온보관 가능하며, 얼렸다 녹여서 사용할 경우 vortexing하여 사용해 주세요.

▶ Tm값 설정

$$Tm = 4x(G+C) + 2x(A+T)$$

$$AT = Tm - (4 \sim 6 ^\circ C)$$

Expiration Date : -20±5°C 보관 시 1년 6개월

(주)바이오팩트
본사/공장 : 대전광역시 유성구 테크노8로 70