



Cat. No. HP20601 (50 preps)

HiPurify Bacteria DNA Mini Kit

Application

Extract DNA from bacteria

Storage Conditions

Description	Amount	Components	Storage
Buffer BDL	15 mL		RT
Buffer BDB	15 mL		RT
Buffer BDW1	9 mL	사용 전에 96~100% Ethanol 21 mL을 첨가하십시오.	RT
Buffer BDW2	9 mL	사용 전에 96~100% Ethanol 21 mL을 첨가하십시오.	RT
DNA Elution Buffer	7.5 mL		RT
DNA Spin Column	50 ea	Yellow color Spin Column	RT

HiPurify Bacteria DNA Mini Kit

Before Starting

- ◆ Buffer BDW1, Buffer BDW2에 96~100% Ethanol 21 mL을 넣고 잘 섞어줍니다. 용기에 첨가되었음을 표시합니다.

Important Notes

- ◆ 모든 단계에서의 Centrifugation은 실온, 13,500 rpm에서 진행합니다.
- ◆ 각 단계에서 Solution이 Spin Column에 막혀 완전히 하층액으로 통과되지 않을 경우, Centrifuge 시간을 늘려서 Spin Column에 Solution이 남아 있지 않도록 합니다.
- ◆ Buffer BDL에 침전물이 생긴 경우, 약 40°C로 가열하여 완전히 녹여서 사용합니다.

Protocol

- 1 Pellet 샘플에 Buffer BDL 200 μ L에 샘플을 첨가하여 Pipetting으로 샘플을 풀어줍니다.
<Note> Gram negative/positive bacteria: 세포벽이 잘 깨지지 않으면 Proteinase K (미포함, 각 제품 매뉴얼에 따라 수행), Bead homogenizer (미포함, 0.1 mm zirconium bead 권장)를 처리하면 더 많은 양의 DNA를 얻을 수 있습니다. Bead homogenizer를 사용할 경우, Buffer BDL을 200 μ L 더 첨가하여 진행합니다. (Gram positive bacteria의 경우 Bead homogenizer 사용 권장)
 Bead homogenizer 처리를 한 후, 상등액 200 μ L를 새 1.5 mL microtube에 옮겨줍니다.
- 2 실온에서 30분간 Incubation합니다. 약 5-10분마다 10~30초간 Vortex하여 줍니다.
- 3 샘플에 Buffer BDB를 200 μ L 첨가하여 10~30초간 Vortex합니다. 이 때, 침전물이 생성될 수 있으나 추출에는 영향이 없으며, 이후 과정에서 침전물이 사라집니다.
- 4 96~100% Isopropanol 200 μ L를 첨가한 후, 10~30초간 Vortex합니다.
- 5 모든 Lysate를 DNA Spin Column에 옮겨줍니다.
- 6 30초간 Centrifuge한 후에 하층액을 제거합니다.
- 7 Buffer BDW1을 500 μ L 첨가하여 30초간 Centrifuge한 후에 하층액을 제거합니다.
- 8 Buffer BDW2를 500 μ L 첨가하여 1분간 Centrifuge한 후에 하층액을 제거합니다.
- 9 새 1.5 mL microtube에 DNA Spin Column을 옮기고 DNA Elution Buffer 50~100 μ L를 첨가합니다.
- 10 1분간 Incubation한 후에, 1분간 Centrifuge하여 DNA를 Elution합니다.
- 11 상단의 DNA Spin Column을 제거하고 Eluent를 보관합니다.

