

Hybrid-R™

Size: 100 prep

V2.0K 2023.07

7. 700 µl의 혼합액을 Column Type F (mini)로 옮깁니다.
8. 상온에서 10,000 x g 이상으로 30초간 원심분리합니다.
원심분리 후 collection tube에 담긴 용액은 제거하고, column과 collection tube를 재결합합니다.
9. 남은 혼합액을 이용하여 7~8번 실험 과정을 반복합니다.
Collection tube의 용액을 제거하고, column과 재결합합니다.
10. 500 µl의 Buffer SW1을 mini column에 넣어줍니다.
11. 상온에서 10,000 x g 이상으로 30초간 원심분리합니다.
12. 500 µl의 Buffer RNW를 mini column에 넣어줍니다.
13. 상온에서 10,000 x g 이상으로 30초간 원심분리합니다.
원심분리 후 collection tube에 담긴 용액은 제거하고, column과 collection tube를 재결합합니다.
14. 상온에서 10,000 x g 이상으로 1분간 원심분리 한 후, column을 제품 내 제공된 새로운 1.5 ml microcentrifuge tube에 옮겨줍니다.
이 과정의 원심분리를 통해 column에 남아있는 에탄올을 제거합니다. 잔류 에탄올은 이후 실험 과정에서 실험의 방해 요소로 작용할 수 있습니다.
15. 50~100 µl의 Nuclease-free water를 mini column에 넣고 1분간 반응시킵니다.
16. 상온에서 10,000 x g 이상으로 1분간 원심분리합니다.
즉시 사용할 RNA eluate는 4°C에 보관하시고, 장기간 보관을 위해서는 -70°C에 보관하시기 바랍니다.

신고 사항

품목명	핵산추출시약
모델명	305-101 (Hybrid-R™)
허가번호	체외 제신 16-44호
사용목적	인체유래 검체에서 분자진단을 위하여 핵산(DNA, RNA)을 추출하는 시약

본 제품은 체외진단의료기기임.

제조사 | (주)진올바이오테크놀로지
 경기도 하남시 하남대로 947 하남 테크노밸리U1센터 A동 A1201~1204호
 TEL_02.407.0096 FAX_02.407.0779
 www.geneall.com



제품 구성

구성 품목	구성	보관 방법
RiboEx™	100 ml	2~8°C
Buffer RB1 (concentrate) *	15 ml	상온 (15~25°C)
Buffer SW1	55 ml	
Buffer RNW (concentrate) *†	12 ml	
Nuclease-free water	20 ml	
Mini column type F (with collection tube)	100	
1.5 ml microcentrifuge tube	100	
Protocol Handbook	1	

* Buffer RB1과 RNW를 사용하기 전에는, 각 버퍼 병에 제시한대로 일정량의 에탄올 (ACS grade 이상)을 첨가한 후 사용하시기 바랍니다.

† 해당 버퍼에는 아지드화나트륨 (NaN₃)이 보존제로 함유되어 있습니다.

부가적으로 필요한 실험 재료 및 장비

- 시약 : 클로로포름 또는 1-브로모-3-클로로프로페인 (BCP), 무수에틸알코올 (ACS grade 이상)
- 일회용 제품 : RNase-free 파이펫 팁
- 장비 : 시료 파쇄 장비, 원심분리기 (냉장/상온), 보호 장비 (예 : 실험복, 실험용 장갑, 보호 안경, 기타 등등), vortex mixer

제품 특징

Hybrid-R™	
유형	Spin
최대 적용 샘플 양	~100 mg 동물 조직 또는 1 x 10 ⁷ 배양세포
최대 column 적용 양	~700 µl
최소 elution 양	~30 µl
컬럼의 최대 RNA 수용량	~500 µg

품질 관리

GeneAll® Hybrid-R™ 제품은 RNase-free 조건상태의 엄격한 생산 공정으로 제조되며, 제조 환경은 철저한 정기 검사를 통하여 철저히 유지되고 있습니다. 엄격한 품질 관리 규정을 통과한 제품만을 제공합니다.

보관 방법

본 제품의 RiboEx™ 를 제외한 나머지 구성품을 모두 상온 보관하도록 권장합니다.

GeneAll® RiboEx™ 은 최적의 상태를 유지하기 위하여 빛이 차단된 곳에서 냉장 보관 (2~8℃) 하시기 바랍니다.

Hybrid-R™ 제품의 품질보증 만료 일자 는 본 제품 상자에 표기되어 있습니다.

사용 시 주의 사항

1. 본 제품은 체외진단용 이외의 목적으로 사용하지 않습니다.
2. 추출된 핵산을 바로 실험에 사용할 경우 4℃에 보관하길 바라며, 장기 보관시에는 -70℃에 보관합니다.
3. 제품 개봉 후에는 미생물과 같은 오염물질에 주의합니다.
4. 본 제품 사용 시 반드시 실험용 장갑과 실험복 등을 착용하며 검체와 시약을 다른 후에는 손을 씻습니다.
5. 본 제품의 시약은 페놀과 구아니딘염을 함유하고 있으므로 표백제 또는 강산성 물질과 함께 폐기하지 않습니다.
6. 실험 과정 중 RNase의 오염으로 결과에 영향을 줄 수 있으므로 주의합니다.
7. 제품은 권장하는 조건에서 보관하고 유효 기간이 지난 제품은 사용하지 않습니다.

제품 설명

GeneAll® Hybrid-R™ 제품은 동물 조직 또는 배양세포에서 total RNA를 추출하도록 고안된 제품입니다.

본 제품은 강력한 lysis power를 갖는 RiboEx™ 를 사용하여 lysis 효율을 높였으며, 핵산 정제방법은 간편하고 효율적인 glassfiber membrane technology를 적용하여 total RNA를 30분 이내에 빠르고 간편하게 추출할 수 있도록 개발되었습니다.

실험 방법은 페놀과 구아니딘염이 포함된 RiboEx™ 로 시료의 lysis 과정을 진행한 후, 클로로포름처리로 aqueous phase와 organic phase로 층 분리 합니다. 이 때 DNA와 단백질이 interphase와 organic phase에 존재하고, RNA는 aqueous phase에 존재하게 됩니다. RNA가 포함된 aqueous phase와 Buffer RB1을 섞은 다음 mini column에 RNA binding을 시킨 후, Buffer SW1과 Buffer RNW를 적용하여 column membrane의 washing 과정을 진행합니다. 최종적으로 Nuclease-free water를 이용하여 RNA elution을 진행합니다.

GeneAll® Hybrid-R™ 제품은 100 mg의 동물 조직 또는 1×10^7 의 배양세포에서 total RNA를 추출할 수 있도록 최적화되었으며, 100 mg 동물 조직 시료에서 최대 500 µg까지 total RNA의 추출이 가능합니다.

분리된 RNA는 Poly A⁺ RNA, Northern blotting, dot blotting, in vitro translation, cloning, RT-PCR, RNase protection assays 등 다양한 실험에 적용 가능합니다.

RNase 오염을 막기 위한 조치

RNase 오염은 RNA 추출 과정에서 예상치 못하게 발생할 수 있으며, 그로 인하여 실험 결과에 결정적인 영향을 미칠 수 있습니다. 항상 실험용 장갑을 착용하여 피부로부터 발생할 수 있는 오염을 방지하시기 바라며, RNA 실험만을 위한 독립된 기자재 사용을 권장합니다. 기자재를 다른 실험과 혼용할 경우 RNase 오염이 발생할 수 있으니 주의하시기 바랍니다.

사용 방법

1. ~100 mg의 동물 조직 또는 $\sim 1 \times 10^7$ 의 배양 세포를 1 ml의 RiboEx™ 에 넣고, 균질화 합니다.

* 동물조직 시료

~100 mg의 동물 조직에 1 ml의 RiboEx™ 넣고, 파쇄기를 이용하여 균질화합니다. 샘플 양은 RiboEx™ 적용량의 10% (w/v)를 초과하지 않도록 주의합니다.

[신선한 조직을 사용할 때]

조직을 절개한 후 즉시 다음과 같은 과정 등을 처리하여 RNase 활성을 억제합니다.

- RiboEx™ 에서 조직을 즉시 균질화를 합니다.
- 조직을 액체질소를 이용하여 신속하게 동결시킵니다.
- 바로 실험이 어려울 경우 RNase의 활성을 억제하는 보존용액에 저장합니다.

* 배양세포 시료

[부착 세포]

배지를 제거하고, 10 cm²의 culture dish 당 1 ml의 RiboEx™ 을 첨가하여 파이펫으로 세포를 균질화합니다.

이 과정에서 RiboEx™ 의 양이 불충분할 경우 DNA 오염의 원인이 되기 때문에 정확한 양을 사용합니다.

[부유 세포]

원심분리를 통해서 배지를 제거하고 수집된 $\sim 1 \times 10^7$ 배양세포 또는 박테리아 세포에 1 ml의 RiboEx™ 를 첨가하고 파이펫 또는 vortex mixer를 이용하여 섞어줍니다.

* 샘플을 lysis 하기 전에 PBS를 이용하여 남아 있는 배지를 제거하는 과정은 샘플의 RNA를 손상시킬 수 있습니다. 따라서 RiboEx™ 처리 전에 샘플 washing 과정은 진행하지 않도록 합니다.

2. 균질화된 샘플을 상온에 5분간 반응시킵니다.

RiboEx™ 내에 균질화된 샘플은 -70℃에서 1개월 동안 보관이 가능합니다.

3. (선택 사항:) 4℃에서 12,000 x g로 10분간 원심분리 한 후, 상층액을 새로운 1.5 ml microcentrifuge tube로 옮깁니다.

4. 200 µl의 클로로포름을 균질화된 샘플에 첨가하여, 15초간 vortex mixer를 통해 완전히 섞어준 후, 상온에서 2분간 반응시킵니다.

200 µl의 클로로포름 대신 100 µl의 BCP (1-브로모-3-클로로프로페인)를 사용할 수 있습니다.

5. 4℃에서 12,000 x g로 15분간 원심분리 한 후, 상층액 (무색)을 새로운 1.5 ml microcentrifuge tube로 옮깁니다.

6. 5번 과정에서 얻은 상층액과 동일 양의 Buffer RB1을 넣은 후, inverting을 통하여 완전히 섞어줍니다.

Buffer RB1을 샘플에 처리한 후에는 원심분리를 진행하지 마시기 바랍니다.