

Exgene<sup>™</sup> Rice SV mini

## Kit Contents

품 목	구 성	보관방법
Buffer GL *	50 ml	실온
Buffer PP	25 ml	실온
Buffer TB *	35 ml	실온
Buffer CW ** †	25 ml	실온
Buffer AE ***	15 ml	실온
Proteinase K ****	24 mg	-20℃
PK storage buffer	1.5 ml	실온
EzSep <sup>™</sup> Filter column (Blue)	100 ea	실온
Column type G (Green)	100 ea	실온
1.5 ml microcentrifuge tube	100 ea	실온

\* 버퍼 GL과 TB는 낮은 온도에서 석출될 수 있으니, 20℃ 이상에서 보관하고, 만약 석출 되었을 경우 37℃ 이상에서 완전히 녹인 후 사용하여야 합니다.

\*\* 버퍼 CW의 경우, 사용 전에 bottle에 표기된 volume에 따라 ethanol을 첨가하시기 바랍니다.

† 버퍼 CW에는 sodium azide가 보존제로 함유되어 있습니다.

\*\*\* 10mM Tris-HCl, pH 9.0, 0.5 mM EDTA

\*\*\*\* Proteinase K vial에 1.2 ml의 PK storage buffer를 넣고 완전히 녹인 뒤, -20℃에서 보관합니다.

Exgene<sup>™</sup> Rice SV mini

## Protocol

## 실험 전 준비사항

- 56°C bath 준비
- 버퍼 GL, TB는 낮은 온도에서 석출될 수 있으므로 20°C 이상에서 보관하며, 만약 석출 시 37°C에서 완전히 풀어준 뒤 사용한다.
- 버퍼 CW의 경우, 사용 전에 bottle에 표기된 volume에 따라 ethanol을 첨가하시기 바랍니다.
- Proteinase K는 PK storage buffer에 완전히 녹인 후, -20°C에서 보관하며, 나머지는 실온 보관

1. 2.0 ml screw tube에 metal bead (5~6 mm) 1개와 백미 한 알을 넣고, Bead-beater 혹은 milling machine을 이용하여 백미를 파쇄한다.
2. 파쇄된 백미에 400 µl의 Buffer GL과 10 µl의 Proteinase K (20 mg/ml)를 넣고 vortexing하여 잘 섞은 뒤, 56°C에서 30분간 반응한다.
3. Lysate를 실온으로 식힌 뒤, 140 µl의 Buffer PP를 첨가한 뒤 15초간 최대 속도로 vortexing한 후, 모든 용액을 EzSep<sup>™</sup> Filter column으로 옮긴다.
4. 2분간 14000 x g에서 원심분리 한 뒤, collecting tube에 있는 pass-through 400 µl를 새 1.5 ml tube에 옮겨 담는다.
5. 250 µl의 Buffer TB를 넣고 vortexing하여 잘 섞어준다.
6. mixture를 spin column에 넣고 14000 x g에서 30초간 원심분리한 뒤, collecting tube를 비우고 다시 컬럼에 끼운다.
7. 650 µl의 Buffer CW를 넣고 14000 x g에서 30초간 원심분리한 뒤, collecting tube를 비우고 다시 컬럼에 끼운다.
8. 300 µl의 Buffer CW를 넣고 14000 x g에서 1분간 원심분리한 뒤, 스피ن 컬럼을 새 1.5 ml tube에 옮긴다.
9. 50 µl의 Buffer AE를 컬럼 멤브레인 중앙부에 넣고 1분간 반응 후, 14000 x g에서 1분간 원심분리하여 DNA를 용리시킨다.