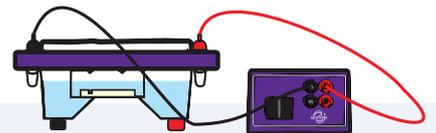


사례별 전기영동 샘플모음

MYLAB™ ELECTROPHORESIS SAMPLER

ED100



실험 목표

이 실험에서 학생들은 아가로스 겔 전기영동을 활용하여 DNA 샘플을 분리하는 네 가지 독특한 실험을 탐구합니다. DNA 밴드 패턴은 법의학, 의학 및 과학 수사를 검토하는 시나리오 내에서 분석됩니다.

- 시나리오 1 : PCR증폭을 통한 DNA 지문 분석
- 시나리오 2 : COVID-19 코로나 핵산 검사
- 시나리오 3 : GMO 식품 검사
- 시나리오 4 : DNA 친자 검사

제품 구성품

- A 시나리오 1 DNA 샘플
- B 시나리오 2 DNA 샘플
- C 시나리오 3 DNA 샘플
- D 시나리오 4 DNA 샘플

UltraSpec-Agarose

Electrophoresis Buffer (50x)

Practice Gel Loading Solution

FlashBlue DNA Stain

SYBR Safe DNA Stain

필요 장비 및 준비물

전기영동 장치, 전원공급장치, 피펫과 피펫팁, 전자저울, 전자레인지(핫플레이트), 250mL삼각플라스크, 안전장갑, 증류수, 염색용 트레이, Transilluminator

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

시나리오 1: PCR 증폭을 통한 DNA 지문 분석

데옥시리보핵산(DNA)은 모든 생물 세포에 존재합니다. 이것은 단백질 합성의 청사진 역할을 하는 유전자 물질입니다. 다형성 DNA 는 개인들 사이에 다른 부위를 가진 염색체 영역을 의미합니다. 유전체 DNA 내에서 이러한 다형성 부위를 여러 개 조사함으로써 개인의 "DNA 지문"을 결정할 수 있습니다. DNA 다형성은 지금은 아버지나 어머니 판정, 친족관계 판별, 인간의 유해물 식별, 그리고 다양한 유전적 질환의 유전 기반 결정에 널리 사용됩니다. 가장 널리 사용되며 영향력 있는 응용 분야는 범죄 수사 분야입니다. 범죄 피해자와 가해자의 DNA 를 확실히 매치하여 형사 및 민사 소송의 결과에 영향을 미치게 됩니다.

DNA 지문 분석은 1984 년에 영국에서 처음으로 법의학 도구로 사용되었습니다. 이는 Dr. Alex Jeffreys 의 개척적인 연구를 따랐습니다. Jeffreys 의 연구를 통해 1987 년 9 월에 발생한 최초의 DNA 지문 분석 사례로 인해 살인범이 체포되었습니다.

미국에서의 최초 유죄 판결은 1987 년 11 월 6 일에 플로리다 오를랜드에서 이루어졌습니다. 그 이후로 DNA 분석은 수천 건의 유죄 판결에 사용되었습니다. 게다가, DNA 지문 분석은 여러 명의 유죄 판결자와 그 중 몇 명의 사형수를 무죄로 몰아준 데 사용되었습니다.

1990 년에 연방수사국(FBI)은 범죄 현장 DNA 와 유죄 판결자의 DNA 프로필을 비교할 수 있는 복합 DNA 인덱스 시스템(CODIS)을 설정했습니다. CODIS 는 당국이 수사 중인 범죄에 대한 용의자가 없는 경우 수십 건의 사건을 해결하는 데 사용되었습니다. 법의학 DNA 지문 분석의 첫 번째 단계는 범죄 현장이나 피해자로부터 혈액이나 다른 조직 샘플을 수집하는 것입니다(그림 3 참조). 흔히 얼룩 형태로 나타나는 혈액 샘플은 세포막을 파괴하고 추가 분석을 위한 DNA 를 획득하기 위해 계면활성제를 포함하는 시약 혼합물로 처리됩니다. 이 기술이 초기 단계에 있을 때에는 제한 단편 길이 다형성 (RFLP) 분석이라는 방법이 사용되었습니다.

또한, RFLP 분석은 DNA 를 제한 효소로 소화하고 아가로스 젤에서 분리한 다음 DNA 를 막에 전달하고 다형성 영역을 감지하기 위해 막 위의 DNA 와 프로브를 융합시키는 과정을 포함합니다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

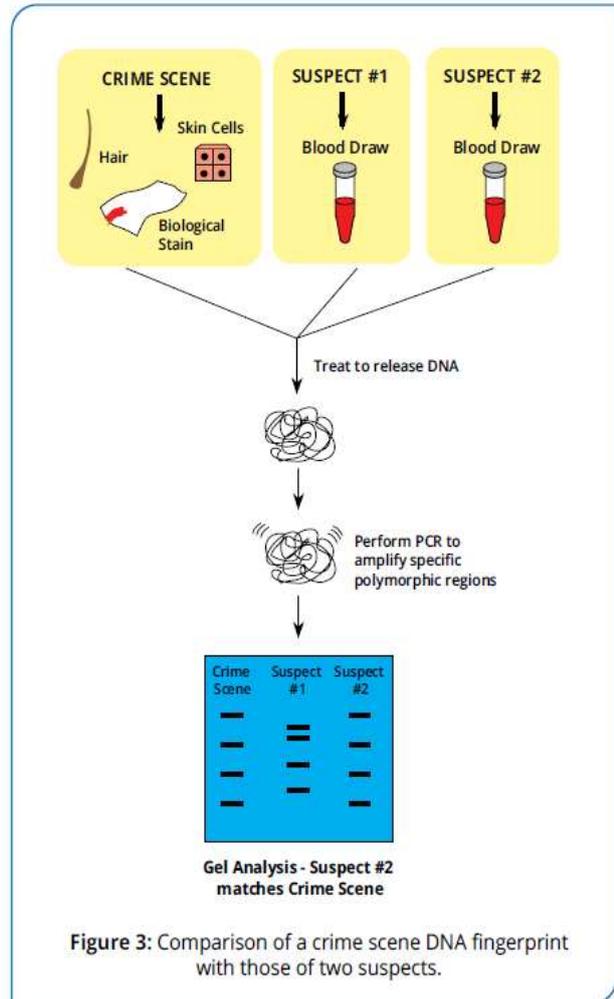


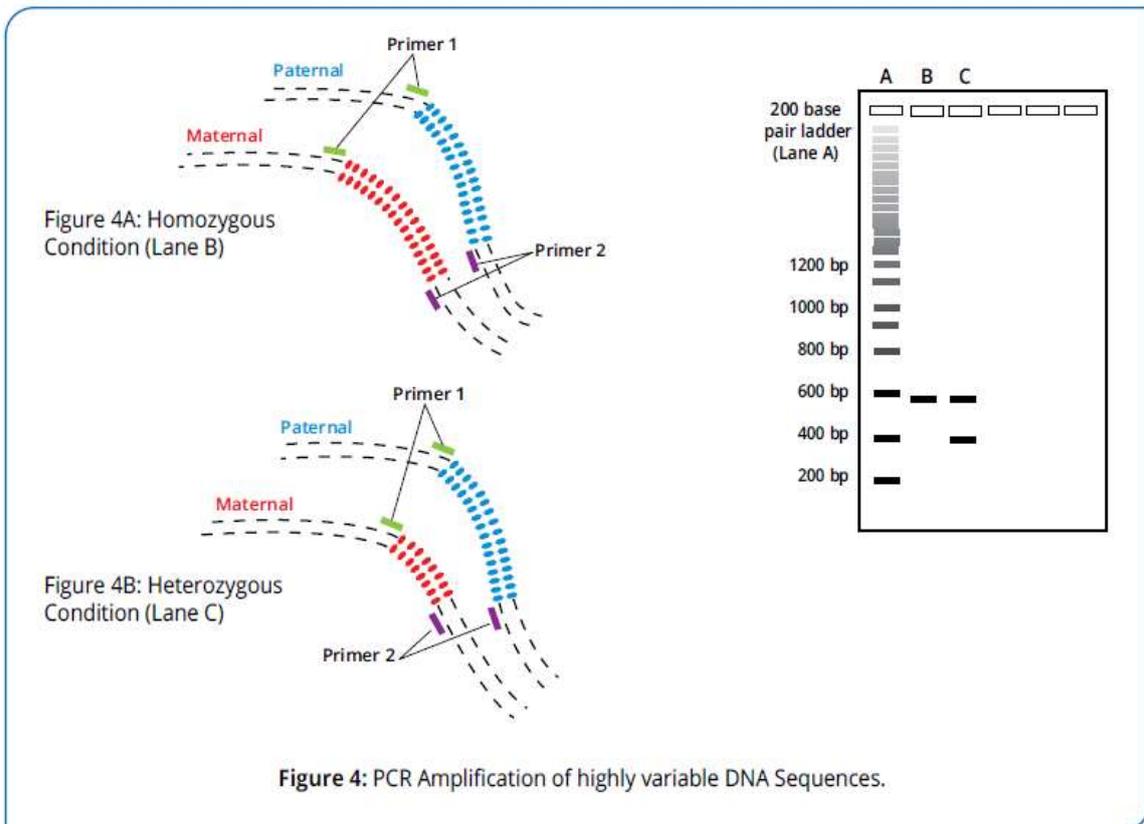
Figure 3: Comparison of a crime scene DNA fingerprint with those of two suspects.

이 절차는 Southern Blot 라고 불리며 상당한 양의 DNA 가 필요하며 완료하는 데 몇 주가 걸립니다.

더 최근에는 DNA 분석을 위해 중합효소연쇄반응(PCR)이 법의학 분야에서 사용되고 있습니다. 이 기술은 RFLP 분석보다 약 500 배 적은 DNA 를 필요로하며 시간이 적게 소요됩니다.

법의학자들은 PCR 을 사용하여 다형성 DNA 영역을 증폭하고 분석합니다(그림 4 참조). 이는 개인마다 길이가 다른 지역으로, 두 가지 범주로 나뉩니다. 1) 가변 수의 연속 반복 (VNTR) 및 2) STR (짧은 연속 반복). VNTR 은 개인들 사이에서 다양한 영역으로, 일반적으로 15 에서 70 개의 염기쌍으로 이루어진 시퀀스를 5 에서 100 번 반복합니다. STR 은 VNTR 과 유사하지만 반복된 단위의 길이가 단지 2 에서 4 뉴클레오티드입니다. 더 짧은 길이 때문에 STR 은 더 쉽게 증폭하고 분석할 수 있으며 이로써 선호되는 지문 분석 방법이 됩니다. 동일한 개인에서 여러 다른 VNTR 또는 STR 을 조사함으로써 수사관은 해당 개인의 고유한 DNA 프로필을 얻으며, 이는 동일한 다른 사람(동일한 쌍둥이를 제외한)과 다른 것입니다.

이 실험에서는 서로 다른 용의자로부터 얻은 PCR 결과를 분석할 것입니다. 고유한 DNA 지문을 범죄 현장에서 수집한 샘플과 비교하여 범죄 발생 시 용의자 중 어느 사람이 있었는지를 결정할 것입니다.



★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

시나리오 2: COVID-19 코로나 핵산 검사

매년 전문가들은 코로나바이러스가 일반적인 감기 증례의 15-30%를 일으킨다고 추정하고 있습니다. 이 증상은 일반적으로 경증이며 발열과 목의 통증을 포함합니다. 때로는 신종 바이러스 변이가 발생하여 심각한 호흡곤란을 일으키기도 합니다(예: 2003 년 SARS 및 2012 년 MERS). SARS-CoV-2 는 전 세계적인 호흡기 질환 발생을 일으킨 신종 코로나바이러스입니다. COVID-19 의 첫 증례는 2019 년 12 월에 진단되었으며 SARS-CoV-2 바이러스의 등장과 연결되었습니다. 세계 보건 기구에 따르면 COVID-19 은 매우 짧은 기간 내에 전 세계로 확산되었습니다. 공중 보건 당국은 현재 감염된 개인을 식별하고 바이러스의 추가 전파를 방지하기 위한 전략을 개발 중에 있습니다.

코로나바이러스는 나선형 캡시드에 싸인 단일 가닥 RNA 게놈을 가지고 있습니다. 캡시드를 둘러싼 호스트 유래의 막 엔벨로프가 있습니다. 이 엔벨로프는 바이러스가 세포에 감염되는 데 도움을 주는 단백질로 덧붙여져 있습니다. 전자 현미경을 사용하면 엔벨로프 단백질이 바이러스 입자 주위에 흐릿한 헤일로로 만듭니다. 과학자들은 이것들을 라틴어 단어 "코로나"로 설명했으며 이 단어는 "crown(왕관)" 또는 "halo(헤일로)"를 의미합니다

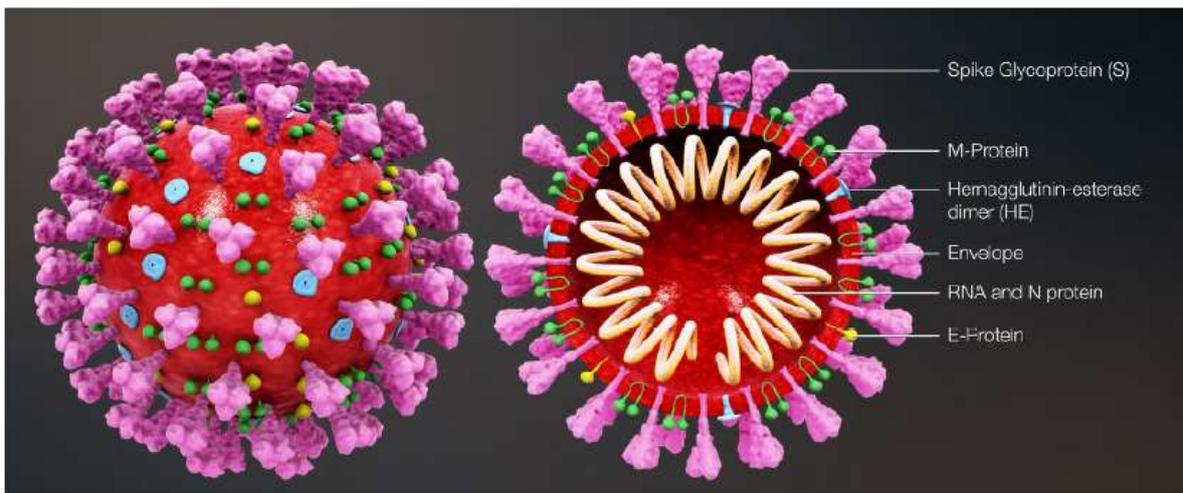


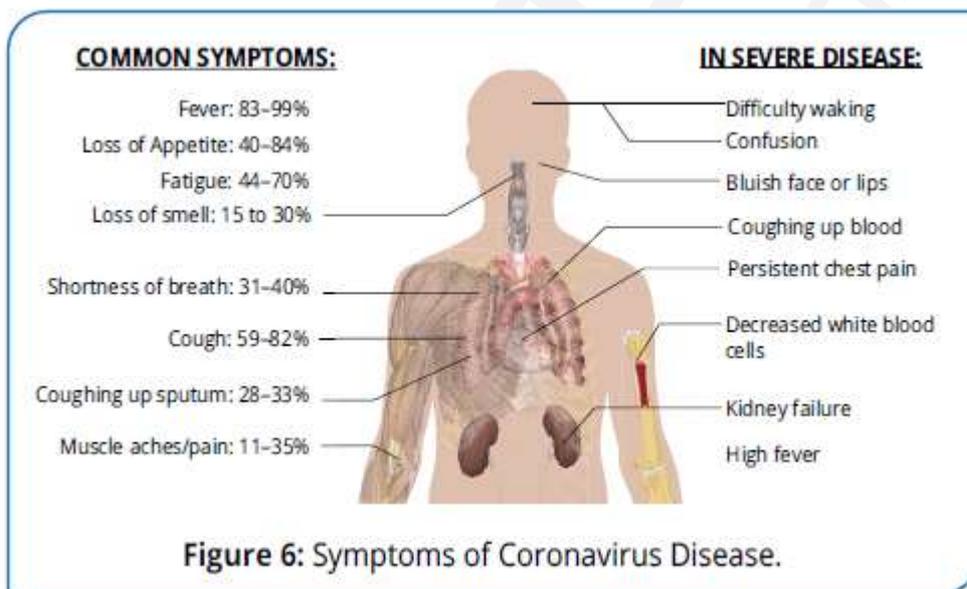
Figure 5: Coronavirus structure.

모든 코로나바이러스와 마찬가지로 SARS-CoV-2 에는 네 가지 주요 구조 단백질이 있습니다. 핵캡시드 단백질(N)의 단량체들이 RNA 게놈을 덮고 보호하기 위해 나선형 캡시드를 형성합니다. 막에는 여러 바이러스 단백질들이 포함되어 있으며, 이에는 스파이크(S), 엔벨로프(E), 그리고 막(M) 단백질이 포함됩니다. 스파이크(S) 단백질은 인간 세포 표면 단백질과 결합하여 바이러스가 유전자 정보를 숙주 세포에 주입할 수 있게 합니다. 막(M) 단백질은 다른 바이러스 단백질과 숙주 세포 요소 간의 상호작용을 조정하여 세포를 바이러스 공장으로 변환시킵니다. 바이로포린으로, 엔벨로프(E) 단백질은 바이러스의 방출을 용이하게 하는 채널을 형성하기 위해 자신과 결합합니다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

다행히도 적절한 예방 조치로 COVID-19의 전파를 예방할 수 있습니다. SARS-CoV-2와 같은 코로나바이러스는 기침이나 재채기할 때 나오는 액체 미립자를 통해 사람 간에 전파됩니다. 비누, 핸드 세정제 및 기타 소독제는 코로나바이러스를 죽이므로 손을 자주 씻는 것이 전파를 제한할 수 있습니다. 오염된 손으로 얼굴을 만지면 바이러스가 점막에 침입할 수 있으므로 눈, 코 및 입에서 손을 멀리 유지하는 것이 중요합니다. 우리는 입과 코를 가리는 천 마스크를 착용하여 기침이나 재채기를 통한 호흡기 미립자의 전파를 방지할 수 있습니다. 또한 주변 사람들에게 감염될 가능성을 줄이기 위해 사회적 거리두기와 같은 조치를 취할 수 있으며, 이는 질병의 전파를 줄일 수 있습니다.

COVID-19의 증상은 발열, 기침 및 숨쉬기 곤란을 포함할 수 있습니다. 심한 경우, 환자는 폐렴, 호흡곤란 및/또는 신장 기능 장애를 가질 수 있습니다 (그림 6 참조). 유감스럽게도, 이 감염은 치명적일 수 있습니다. COVID-19 치료에는 휴식, 수분 보충 및 의약품이 들어가는 일반적인 감기 약물이 포함됩니다. 백신 및 항바이러스 약물의 계속된 개발은 의료진이 감염과 싸울 필요한 도구를 제공합니다. COVID-19 증상이 나타나는 경우, 바이러스 테스트를 받기 위해 의사에게 의료 상담을 받는 것이 좋습니다.



COVID-19 감염을 확인하기 위한 두 가지 종류의 진단 테스트가 있습니다. Reverse Transcription PCR (RT-PCR) 및 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)입니다. RT-PCR 테스트는 현재 전 세계의 공중 보건 연구소에서 사용 중이며 바이러스 유전체의 존재를 확인하여 활성 감염을 나타냅니다. RT-PCR은 매우 민감하며 바이러스의 미량을 감지할 수 있기 때문에 활성 SARS-CoV-2 감염을 감지하기에 이상적인 검사입니다. 양성 테스트 결과는 환자가 심각하게 병에 걸릴 것을 의미하지 않지만, 이러한 진단은 유행병학자가 COVID-19의 전파를 추적하고 제한하는 데 중요합니다.

RT-PCR도 매우 민감하고 정확합니다. 유감스럽게도 Taq 폴리머라아제는 DNA 의존성 DNA 폴리머라아제이기 때문에 SARS-CoV2의 RNA 유전체를 템플릿으로 사용할 수 없습니다. PCR을 ★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc.에 있습니다.

사용하여 COVID-19 을 감지하려면 역전사 효소 (RT)가 RNA 유전체의 상보 DNA (cDNA) 복사본을 합성하는 데 사용됩니다. cDNA 의 소량은 PCR 증폭을 위해 Taq 폴리머라아제, dNTP 및 프라이머와 혼합됩니다. RT-PCR 은 매우 민감하며 바이러스의 매우 낮은 수준을 감지할 수 있기 때문에 SARS-CoV-2 검출의 '금 표준'으로 간주됩니다. 그러나 RT-PCR 테스트는 의료 진단 실험실에서 수행되기 때문에 실제 테스트는 몇 시간 걸리지만 결과를 얻는 데 몇 일이 걸릴 수 있습니다.

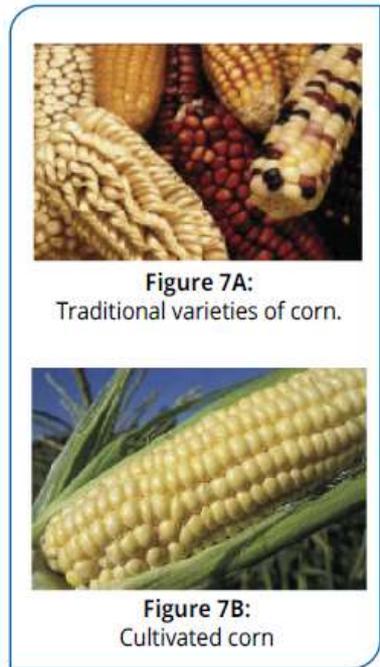
일반적으로 사용되는 RT-PCR 테스트는 하나의 PCR 테스트에 세 가지 프라이머 세트를 결합한 다중 PCR 로 알려져 있습니다. 처음 두 세트의 프라이머는 SARS-CoV-2 N 단백질 내의 지역을 대상으로합니다. 내부 제어로, 세 번째 프라이머 세트는 인간 주택 유지 관리 유전자 RNase P (RP)를 증폭합니다. PCR 샘플에 세 프라이머 세트를 결합하면, SARS-CoV-2 바이러스가 환자 샘플에 존재하는지 여부에 따라 다른 길이의 DNA 조각이 생성됩니다.

이 모의 의료 테스트에서는 COVID-19 증상이 있는 세 명의 환자로부터 샘플을 분석하기 위해 전기영동을 사용합니다. 샘플은 비인두 스왑을 사용하여 수집되었으며, 핵산은 추출되어 RT-PCR 을 사용하여 분석되었습니다. 샘플을 전기영동에서 분석한 후 진단이 이루어집니다. 바이러스에 감염된 환자의 경우 테스트에서 바이러스 유전체와 내부 제어를 모두 감지하므로 겔에서 세 개의 밴드가 생성됩니다 (SARS-CoV N 유전자에서 두 개 및 인간 제어 유전자에서 하나). 반면, SARS-CoV-2 에 감염되지 않은 환자의 경우 내부 제어에서만 겔에서 하나의 밴드가 있을 것입니다.

시나리오 3: GMO 식품검사

지난 백 년 동안 유전 연구는 우리에게 유전체 (유전자에 의해 인코딩 된 생물체의 유전적 물질)와 그 역할에 대한 우리의 이해를 크게 높였습니다. DNA 서열에서의 변이, 즉 돌연변이는 생물체가 환경과 상호 작용하는 방식에 변화를 일으킬 수 있습니다. 대부분의 돌연변이는 생물체에 부정적인 영향을 미칩니다. 그러나 가끔 돌연변이는 특정 환경에서 생존을 촉진하는 이점을 부여할 수 있습니다.

오랜 시간 동안 인간은 전통적인 식물과 동물 사육 기술을 통해 유전적 변이를 인식하고 활용해왔습니다. 세기 동안 선택적 번식과 전통적인 교배가 작물 수확량을 늘리거나 다른 원하는 특성을 부여하는 데 사용되었습니다. 예를 들어, 우리가 오늘 먹는 옥수수는 인공 선택에 의해 생산되었습니다. 예로부터 농부들은 한 식물이 더 큰 곡물을 생산하고 다른 식물은 더 맛있는 옥수수를 생산하는 것을 알아차렸을지도 모릅니다. 이 두 식물을 교배함으로써, 이러한 농부들은 다음 세대에서 그 특성들(관찰 가능한 특성)을 장려했습니다. 이로써 최고의 제품을 생성하는 데 도움이 되었습니다. 많은 귀한 옥수수 알을 가진 식물을 얻게 된 것입니다. 이렇게 하여 지난 50 년 동안, 전 세계 인구가 두 배 이상 증가한 반면 농지는 10%만 증가한 기간 동안 선택적 번식과 새로운 농업 기술은 식량 수확량을 개인 당 25% 증가시킬 수 있었습니다!



예전에는 원하는 특성을 부여하기 위해 필요한 계승 변화를 얻기 위해 선택적 번식을 몇 년이나 걸렸지만, 생명공학의 등장으로 이 속도가 가속화되었습니다. 유전자 공학의 도입으로 과학자들은 원하는 특성을 직접 조작하기 위해 DNA 서열을 직접 조작할 수 있게 되었습니다. 이러한 조작된 유전자, 즉 트랜스젠(transgenes)은 재조합 DNA 기술을 사용하여 몇 주 안에 삽입, 삭제 또는 돌연변이를 일으킬 수 있습니다. 트랜스진이 체내에서 올바르게 발현되려면 전사를 위해 트랜스진으로 RNA 폴리머라아제를 모으는 프로모터 서열과 전사를 종료하도록 RNA 폴리머라아제에 신호를 보내는 터미네이터 서열이 포함되어야 합니다. 카울리플라워 모자이크 바이러스(CaMV)의 프로모터와 아그로박테리움 투메파키엔스 노팔린 합성효소 유전자(NOS)로부터 얻은 터미네이터는 다양한 종류의 식물의 전사 기계에서 인식되기 때문에 유전공학자들에 의해 널리 사용됩니다.

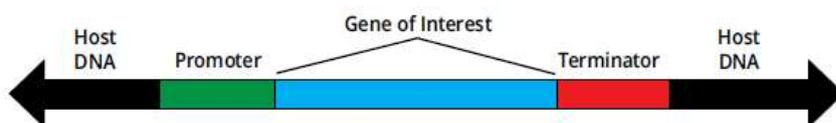


Figure 8: Features of a Transgene.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

현재의 식물 생명공학 기술은 많은 식량 작물의 생산량과 영양 가치를 높일 것으로 기대됩니다. 예를 들어 토마토의 세포벽에서 물펙틴을 소화하는 효소 폴리갈락투로나아제(PG)는 과일을 부드럽고 운송 중에 더 쉽게 손상되게 만듭니다. Flavr Savr 토마토는 PG 효소의 생성을 "끄는" 방식으로 엔지니어링되어 부드러워짐을 느리게 합니다. 따라서 토마토는 덜 부서집니다. "Bt-옥수수"는 곤충으로부터 식물을 보호하는 자연적으로 발생하는 살충제를 표현합니다. 이 기술은 농부가 인간과 환경에 해로운 일부 화학 살충제를 덜 사용할 수 있게 합니다. 또 다른 성공 사례로 "황금 벼"가 있습니다. 일반적으로 세계 인구의 대부분에게 주식품인 벼는 베타-카로틴 또는 비타민 A 를 제공하지 않습니다. 비타민 A 결핍은 개발도상국에서 흔한 문제이므로 벼를 비타민 A 의 전구체 인 베타-카로틴을 생산하도록 수정했습니다. 이러한 지역에서 "황금 벼" 및 기타 영양 보충 작물로 전환하는 것은 영양실조를 bekämpfen 데 있어 주요 발전을 나타냅니다.

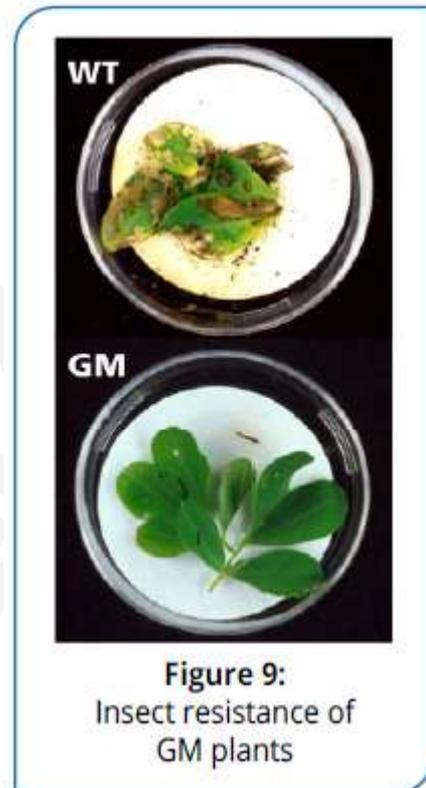


Figure 9:
Insect resistance of
GM plants

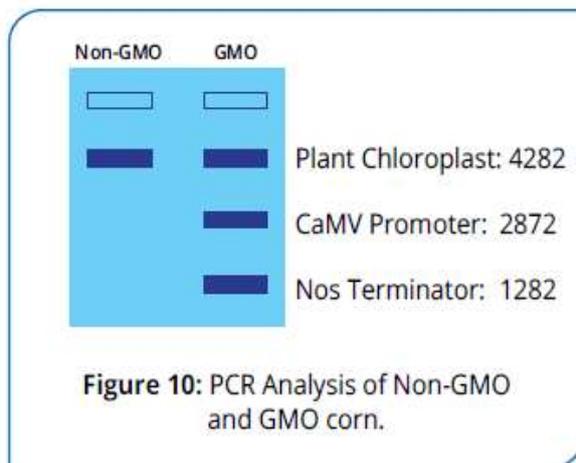
작물 생산량을 증가시키고 영양을 향상시키는 것 외에도, 형질전환 기술은 알레르기가 없는 땅콩과 신장 질환을 가진 사람들을 위한 저단백질 벼를 만드는 데 사용될 수 있습니다. 유전자 변형 식품은 곧 다양한 의약품을 합성하고 전달할 수 있게 될 것입니다. "파밍(pharming)"에서는 형질전환 식물을 사용하여 인슐린이나 성장 호르몬과 같은 의약품 가치가 있는 단백질을 생산할 수 있습니다. "팜라슈티컬(farmaceuticals)"은 담배, 당근, 토마토, 대두 및 벼를 포함한 여러 작물에서 생산될 수 있습니다. 엽록체 내의 DNA 를 공학적으로 활용함으로써, 이 엽록체는 고단백질 발현 수준을 유지하고 DNA 를 꽃가루를 통해 배포하지 않으므로 비대상 노출 가능성이 적은 상태에서 많은 양의 의약품을 생성할 수 있을 것으로 기대됩니다.

1990 년대에 미국 기관에서 승인한 최초의 유전자 변형 식품 제품 중에는 토마토, 대두 및 옥수수가 포함되었습니다. 그 이후로 GM 식품의 안전성, 효능 및 혜택에 대한 논의가 전 세계적으로 진행되었습니다. GMO 및 관련 기술에 대한 많은 연구가 자연과학 분야의 주요 피어 리뷰 학술지인 '네이처'와 '사이언스'를 비롯한 학술지에 발표되었습니다. GM 기술 지지자들은 식물의 양과 질이 향상되고, 재배자들의 비용이 감소하며 환경에 이점이 있다는 연구 결과를 인용합니다. GM 기술 비판자들은 형질전환의 다른 작물로의 전파, 알레르기 증가 및 사람과 환경에 예상치 못한 위험 요소가 생성될 우려가 있습니다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

GMO 에 관한 공공보건 및 정책 책임은 정부와 생명공학 산업에게 있습니다. 미국 정부는 GM 식품 생산을 주의 깊게 모니터링하고 미국인의 건강을 보호하기 위한 엄격한 규정을 만들었습니다. 미국에서는 식품 안전을 감독하는 몇 개의 연방 기관이 있습니다. 연방 의약품 관리청(FDA)은 인간 및 동물 식품 제품의 안전을 담당하며, 미국 농무부(USDA)는 새로운 작물 품종의 개발과 농업에서의 사용을 감독하며, 환경보호국(EPA)은 식물 내의 농약 수준을 모니터링하고 인간 소비에 적합한 수준을 결정합니다. 식물 생명공학 산업이 이러한 기관에게 자신의 GM 식품 제품의 연구 및 개발을 효과적으로 소통하여 승인을 받으려면 노력해야 합니다.

지난 몇 년 동안 일부 식품 회사들은 자신들의 제품에서 GMO 를 제거하기로 결정했습니다. 곡물, 밀, 대두와 같은 원료가 유전자 변형되었는지 여부를 확인하기 위해 시료로부터 DNA 를 추출하고 중합효소 연쇄반응(PCR)을 사용하여 분석되었습니다. 이 실험에서 프라이머(전사 생성 시 필요한 단백질)는 야생형 식물과 유전자가 조작된 식물 간의 차이를 구별하기 위해 설계되었습니다. PCR 은 35S CaMV 프로모터 및/또는 NOS 종결자를 대상으로 하는 프라이머를 사용하여 식물 또는 식품이 유전자 변형되었는지 여부를 결정하는 데 사용될 수 있습니다. DNA 추출의 양성 통제로서 식물 엽록체 유전자도 증폭됩니다.



시나리오 4: DNA 친자검사

DNA 지문 분석(또는 DNA 유형화)은 DNA 샘플의 원천을 식별하는 데 사용됩니다. 이 방법은 혈연 및 범죄 사건에서 증거를 제공하는 데 매우 중요해졌습니다. 혈액형과 같은 더 전통적인 방법은 개인을 제외시킬 수만 있지만, DNA 지문 분석은 매우 높은 정확도로 양성 식별을 제공할 수 있습니다.

DNA 분석을 기반으로 한 혈연 결정(유전자 DNA 지문 분석)은 아이와 생물학적 부모 및 어머니를 일치시키는 중요한 절차가 되었습니다. 이 절차를 활용한 최근 법정 사례의 예로는 강간, 간음, 이민, 미국 시민권, 병원 오류로 인해 출생 시 부모가 일치하지 않았던 아이와 부모를 일치시키는 것이 포함되었습니다. 이러한 유형의 검사는 또한 내란이 일어나는 경우, 예를 들어 내전이 벌어지는 국가에서 자주 사용되며, 이곳에서는 어린이가 종족을 떠나 부모와 분리되고 이후에 재결합되는 경우가 많습니다.

혈연 DNA 지문 분석을 위해 어머니, 아이 및 가능한 아버지로부터 얻은 샘플을 분석합니다. 아이의 DNA 는 부모 DNAs 의 합성체입니다. 따라서 어머니와 아이로부터 얻은 DNA 단편화 패턴을 비교하면 부분적인 일치가 나타납니다. 어머니의 DNA 지문에는 없지만 아이의 DNA 지문에 나타나는 밴드는 아버지가 기여한 것이어야 합니다. 등장하는 DNA 밴드들은 allelic 차이로 인해 반드시 아버지 또는 어머니의 DNA 지문 중 하나에 나와 있어야 합니다.

중합효소 연쇄 반응(PCR)은 DNA 를 분석하는 데 흔히 사용됩니다. 이 기술은 다른 방법보다 약 500 배 적은 DNA 가 필요하며 시간이 적게 소요됩니다. 법의학 및 DNA 혈연검사에서 PCR 은 다양한 길이로 변하는(polymorphic) DNA 영역을 증폭하고 분석하는 데 사용됩니다. 이러한 영역은 개인마다 길이가 다르며 두 가지 범주로 나뉩니다. 1) 가변 수의 연속적인 반복(VNTR) 및 2) 짧은 연속 반복(STR)입니다. VNTR 은 일반적으로 15-70 염기쌍으로 구성되는 영역으로, 일반적으로 5-100 회 반복됩니다. STR 은 VNTR 과 유사하지만 반복 단위는 보통 2-4 염기로 짧습니다. 동일한 개인에서 여러 다른 VNTR 또는 STR 을 조사함으로써 조사관은 해당 개인에 대한 고유한 DNA 프로필을 얻으며, 이는 동일한 쌍둥이를 제외한 다른 어떤 사람의 것과도 다릅니다.

이 실험에서는 어머니, 아이 및 두 명의 가능한 아버지로부터 얻은 샘플에서 DNA 를 추출했습니다. 목표는 아가와 아버지 1 또는 아버지 2 가 아이의 생물학적 부모인지를 결정하기 위해 아가로스 겔 전기영동 후 DNA 단편 패턴을 분석하고 일치시키는 것입니다.

★ 이 실험에는 인간 DNA 가 포함되어 있지 않습니다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

실험 전 준비

SYBR Safe Stain 염색 준비

1. 1x 전기영동 버퍼를 준비하기 위해 키트에서 제공된 50x 농축 버퍼 10 μ L 와 증류수 490 μ L 를 섞습니다.
2. SYBR Safe 용액 튜브에 위에서 만든 1x 버퍼 용액 250 μ L 를 넣고 튜브를 두드려 섞습니다. 이제 아가로스 젤 제작과정에 사용할 상태가 되었습니다.

아가로스젤 준비

이 실험은 한 그룹당 0.8% 아가로스 젤 하나가 필요합니다. 7 x 7 cm 크기의 젤이 권장됩니다. 젤을 미리 준비할 것인지 학생들이 직접 준비할 것인지 선택할 수 있습니다. 이 과정은 30-40분 정도 필요합니다. 아래 3가지 방법 중 하나를 택하도록 합니다.

● 개별 준비

각 학생 그룹은 실험을 실험 중에 만들 수 있습니다 (모듈 III 참조). 학생들은 50X 전기영동 완충액, 증류수, 아가로스 분말 및 희석된 SYBR® Safe 염료가 필요합니다 (용량비에 대한 표 테이블 A 는 모듈 III 쪽을 참조하십시오)

● 일괄적으로 젤을 만들기

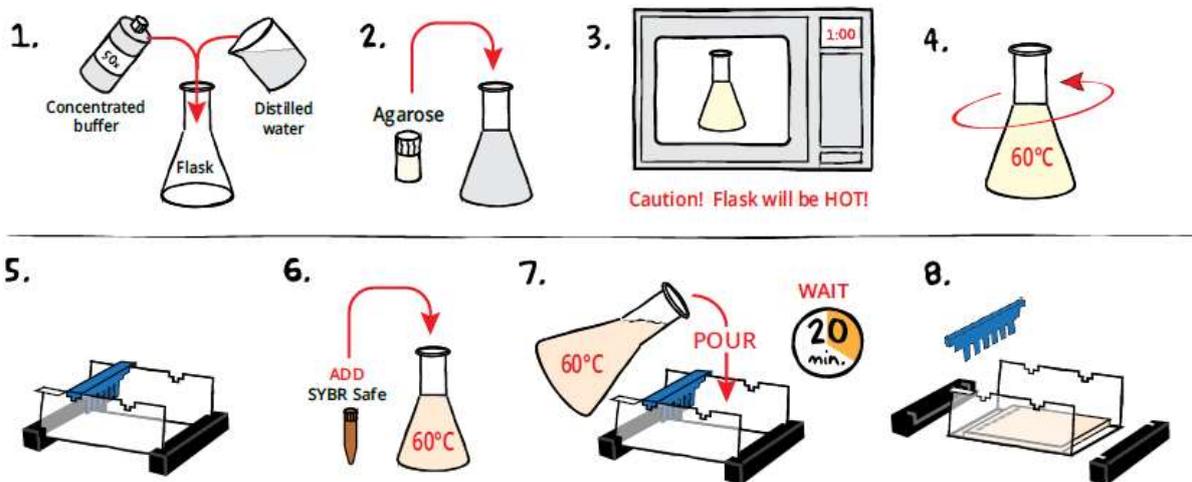
시간을 절약하기 위해, 수업 전체가 공유할 수 있는 더 큰 양의 아가로스 용액을 제조할 수 있습니다. 지침은 부록 B 를 참조하십시오.

● 미리 젤을 만드는 경우

젤은 미리 만들어 나중에 사용할 수 있습니다. 고체화된 젤은 밀봉 봉지에 작은 양의 버퍼를 첨가하여 냉장고에 최대 1주일 동안 저장할 수 있습니다. 우리는 봉지에 2mL 의 버퍼를 추가하는 것을 권장합니다. 과다한 버퍼는 SYBR® Safe 가 젤에서 확산되는 것을 방지합니다. SYBR® Safe 가 들어간 젤은 빛에 노출되는 것을 피해 어둡고 서늘한 곳에서 보관해야 합니다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

아가로스 겔 전기영동

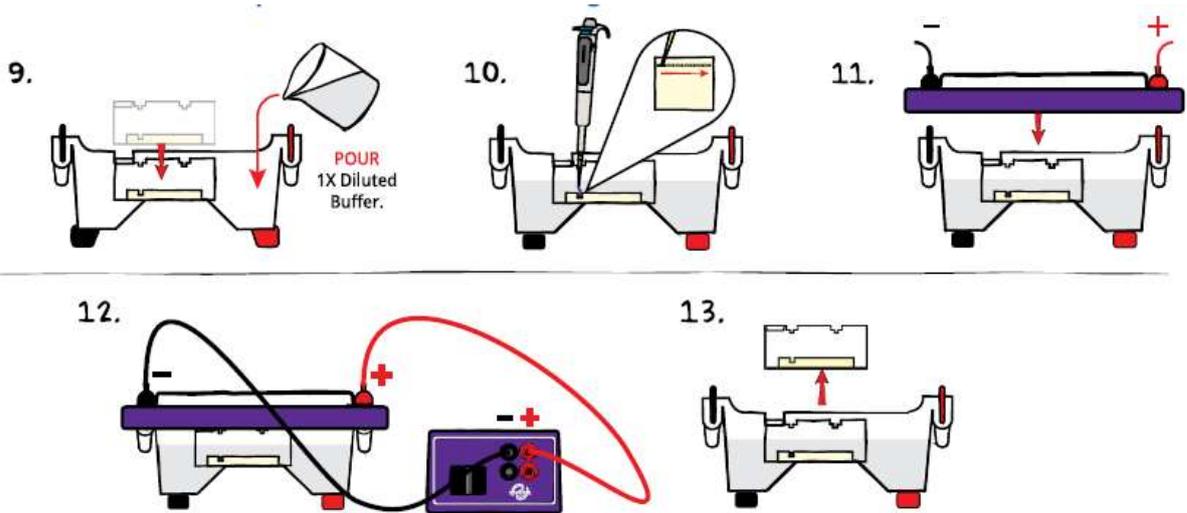


- 50X 버퍼와 증류수를 Table A 참조하여 적정용량을 플라스크에 넣고 섞어 희석합니다.
- 아가로스 분말 적정량을 1X 버퍼가 담긴 250 mL 플라스크에 넣습니다(Table A 참조).
- 아가로스 분말을 용해시키기 위해 용액을 끓입니다. 1분 동안 전자레인지에서 강력하게 가열한 다음 조심스럽게 플라스크를 꺼내서 흔들어 섞습니다. 아가로스가 완전히 용해될 때까지 15초 간격으로 가열을 계속합니다(용액은 물과 같이 맑아집니다).
- 플라스크를 주의해서 흔들어 열을 균일하게 퍼뜨린 후, 아가로스를 60°C까지 냉각시킵니다.
- 아가로스가 냉각되는 동안, 젤 캐스팅트레이의 끝부분을 고무 캡으로 막습니다. 적절한 노치에 comb을 끼워 넣습니다.
- 60도로 식힌 아가로스에 희석된 SYBR® Safe 염료를 넣고 섞습니다(Table A 참조). **중요:** SYBR® Safe를 아가로스 용액에 첨가하기 전에 반드시 본인 또는 선생님께서 희석하셨는지 확인하세요.
- 냉각된 아가로스 용액을 젤 트레이에 부어 굳힙니다. 완전히 굳어지는 데 20분이상 소요됩니다. 젤은 굳어질수록 더 굳고 불투명해집니다.
- 고무 캡과 comb을 분리합니다. well에 손상을 입히지 않도록 특히 comb 제거 시 주의합니다.

Size of Gel Casting tray	Concentrated Buffer (50x)	+ Distilled Water	+ Amt of Agarose	= TOTAL Volume	Diluted SYBR® (Step 6)
7 x 7 cm	0.6 mL	29.4 mL	0.23 g	30 mL	30 µL
10 x 7 cm*	1.0 mL	49.0 mL	0.39 g	50 mL	50 µL
14 x 7 cm	1.2 mL	58.8 mL	0.46 g	60 mL	60 µL

* Recommended gel volume for the EDGE™ Integrated Electrophoresis System.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.



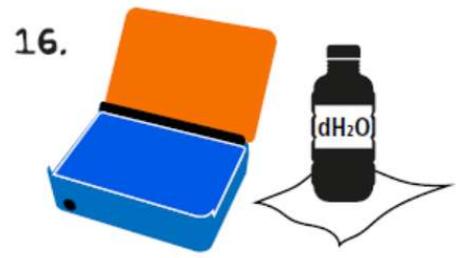
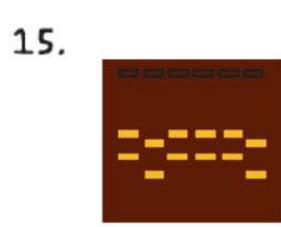
9. 50X 버퍼와 증류수를 Table A 참조하여 적정용량을 플라스크에 넣고 섞어 희석합니다.
10. 아가로스 분말 적정량을 1X 버퍼가 담긴 250 mL 플라스크에 넣습니다(Table A 참조).
11. 아가로스 분말을 용해시키기 위해 용액을 끓입니다. 1분 동안 전자레인지에서 강력하게 가열한 다음 조심스럽게 플라스크를 꺼내서 흔들어 섞습니다. 아가르스가 완전히 용해될 때까지 15초 간격으로 가열을 계속합니다(용액은 물과 같이 맑아집니다).
12. 플라스크를 주의해서 흔들어 열을 균일하게 퍼뜨린 후, 아가르스를 60°C까지 냉각시킵니다.
13. 아가르스가 냉각되는 동안, 젤 캐스팅트레이의 끝부분을 고무 캡으로 막습니다. 적절한 위치에 comb을 끼워 넣습니다.

Table B 1x Electrophoresis Buffer (Chamber Buffer)			
EDVOTEK Model #	Total Volume Required	Dilution 50x Conc. Buffer + Distilled Water	
EDGE™	300 mL	6 mL	294 mL
M12	400 mL	8 mL	392 mL
M36	1000 mL	20 mL	980 mL

Table C Time and Voltage Guidelines (0.8% Agarose Gel)		
Electrophoresis Model		
	EDGE™	M12 & M36
Volts	Min/Max (minutes)	Min/Max (minutes)
150	10/15	20/35
125	N/A	30/45
100	15/25	40/60

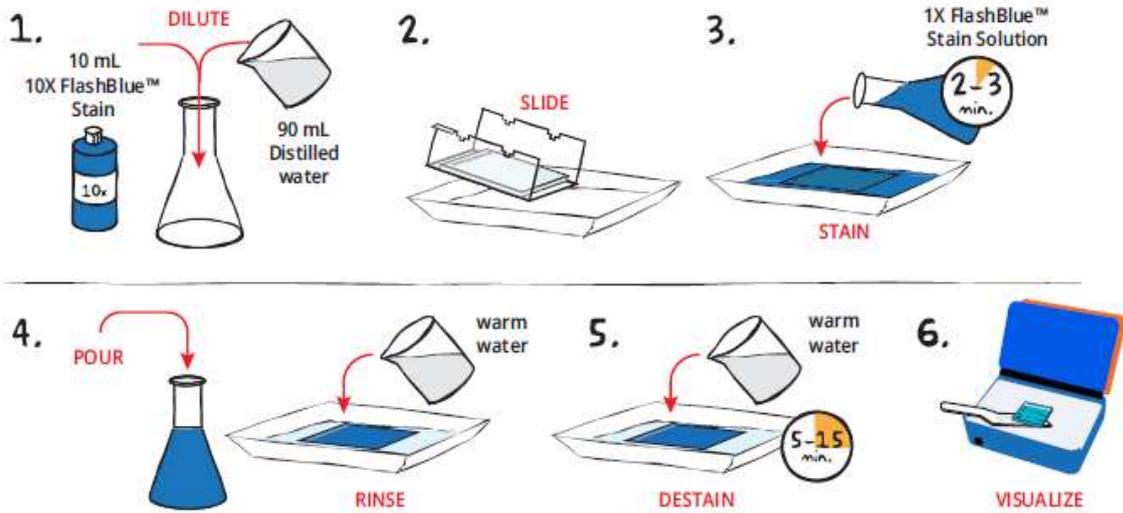
Table D: Gel Loading Table					
TUBE	LANE	SCENARIO 1	SCENARIO 2	SCENARIO 3	SCENARIO 4
A	1	DNA Standard Markers	DNA Standard Markers	DNA Standard Markers	DNA Standard Markers
B	2	Crime Scene PCR reaction	Negative Control	GMO Negative Control	Mother DNA fragments
C	3	Suspect #1 PCR reaction	Positive Control	GMO Positive Control	Child DNA cut fragments
D	4	Suspect #2 PCR reaction	Patient #1	Corn Sample	Father 1 DNA cut fragments
E	5	Suspect #3 PCR reaction	Patient #2	Wheat Sample	Father 2 DNA cut fragments
F	6	---	Patient #3	Soy Sample	---

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.



14. 젤을 조심스럽게 트랜스 일루미네이터에 올립니다.
15. 결과를 확인하고 사진을 찍습니다.
16. 사용 후에는 깨끗하게 트랜스일루미네이터를 닦습니다

(선택사항) FlashBlue 를 이용한 아가로스 겔 염색

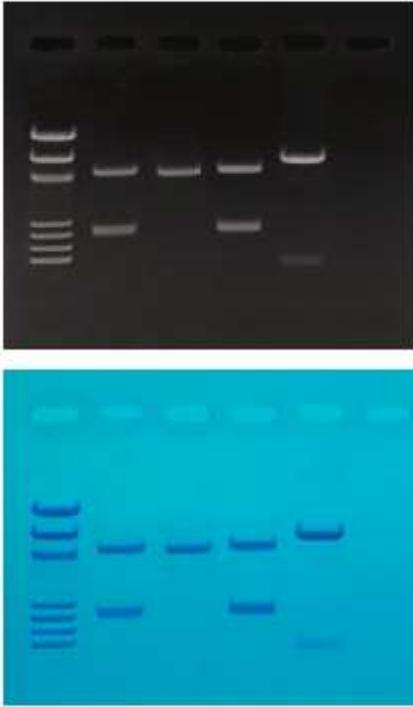


1. 10 배 농축된 FlashBlue™ 10 mL 을 증류수 90 mL 과 플라스크에서 희석합니다. 잘 섞어줍니다.
2. 전기영동 챔버에서 아가로스 겔과 트레이를 꺼냅니다. 겔을 트레이에서 꺼내서 작은 깨끗한 겔 스테이닝 트레이에 넣습니다.
3. 겔을 1X FlashBlue™ 염색액으로 덮습니다. 2-3 분 동안 겔을 염색합니다. 최상의 결과를 얻으려면 염색 중에 겔을 부드럽게 흔들어 주는 오비탈 셰이커를 사용하세요. 3 분 이상 염색할 경우 추가로 제거하는 시간이 필요합니다.
4. 1X 농도의 FlashBlue™를 플라스크로 붓고 (이 염색액은 재사용할 수 있음), 따뜻한 물 (40-45°C)로 겔을 덮습니다. 올려둔 물을 사용하여 겔을 부드럽게 헹굽니다. 20-30 초 동안 헹구어 줍니다. 물을 버립니다.
5. 겔을 깨끗한 따뜻한 물 (40-45°C)로 덮습니다. 부드럽게 흔들면서 5-15 분 동안 제거합니다 (더 오래 제거하면 더 좋은 결과를 얻을 수 있음). 5 분 후에 DNA 밴드가 나타납니다. 물을 자주 교체하면 제거 과정을 가속화할 수 있습니다.
6. 제거용 액체에서 겔을 조심스럽게 꺼냅니다. 화이트 광원의 일루미네이터를 사용하여 결과를 확인합니다. DNA 는 밝은 파란 배경에 어두운 파란색 밴드로 나타납니다.

실험결과

시나리오 #1

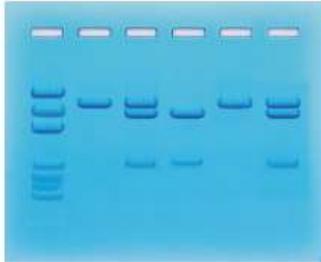
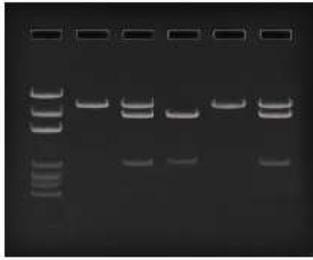
이 분석 결과는 2번과 4번 밴드에서 동일한 패턴을 보여줍니다. 이것은 범 죄 현장의 DNA와 2번 용의자의 DNA가 일치한다는 강력한 증거입니다. 형사 수사에서는 DNA의 여러 알려진 가변 영역 (variable regions)을 분석하여 범 죄 현장과 용의자의 DNA를 일치시키는 것이 일반적입니다.



Lane	Tube	Sample	Molecular Weights (in bp)
1	A	DNA Standard Markers	6751, 3652, 2827, 1568, 1118, 825, 630
2	B	Crime scene PCR reaction	3000, 1282
3	C	Suspect #1 PCR reaction	3000
4	D	Suspect #2 PCR reaction	3000, 1282
5	E	Suspect #3 PCR reaction	3652, 630

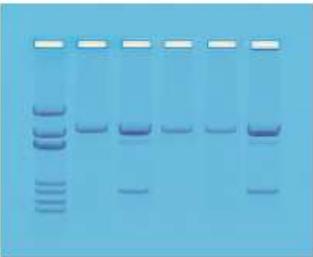
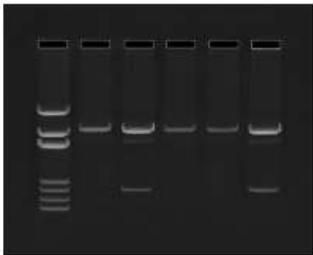
★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

시나리오 #2



Lane	Tube	Sample	Result	Molecular Weights (MW)
1	A	DNA Standard Markers	-----	6751, 3652, 2827, 1568, 1118, 825, 630
2	B	Negative Control	Negative (human control only)	4282
3	C	Positive Control	Positive (human control and viral proteins)	4282, 3000, 1282
4	D	Patient #1	Indeterminant: test again	3000, 1282
5	E	Patient #2	Negative for SARS-CoV-2	4282
6	F	Patient #3	Positive for SARS-CoV-2	4282, 3000, 1282

시나리오 #3

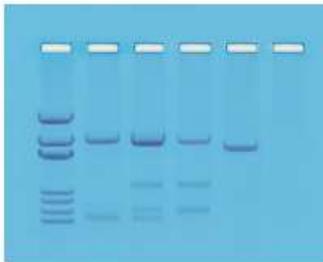
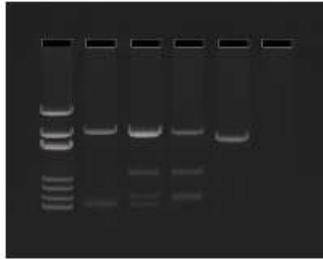


Lane	Tube	Sample	Result	Molecular Weights (in bp)
1	A	DNA Standard Markers	-----	6751, 3652, 2827, 1568, 1118, 825, 630
2	B	GMO Negative Control	GMO Negative	4282
3	C	GMO Positive Control	GMO Positive	4282, 2872, 1282
4	D	Corn Sample	GMO Negative	4282
5	E	Wheat Sample	GMO Negative	4282
6	F	Soy Sample	GMO Positive	4282, 2872, 1282

Plant Chloroplast: 4282
CaMV: 2872
Nos: 1282

시나리오 #4

Parentage-부모성 (모성 및 아버지성)은 아이의 DNA 프로파일로부터 결정될 수 있습니다. 어머니와 그녀의 아이의 DNA 프로파일을 비교함으로써, 아이의 DNA 프로파일에서 어머니에게는 없는 DNA 단편을 식별할 수 있습니다. 따라서 이러한 다형성은 생물학적 아버지로부터 상속되었습니다. 이 경우, 아이의 DNA 프로파일에서 어머니의 프로파일로 설명되지 않는 두 개의 밴드는 아버지 #1 에서 찾을 수 있습니다.



Lane	Tube	Sample	Molecular Weights (in bp)
1	A	DNA Standard Markers	6751, 3652, 2827, 1568, 1118, 825, 630
2	B	Mother DNA fragments	3652, 630
3	C	Child DNA fragments	3652, 1300, 700, 630
4	D	Father 1 DNA fragments	3652, 1300, 700
5	E	Father 2 DNA fragments	3000

학습 질문

공통

1. 분자가 아가로스 젤 전기영동 중 어떻게 분리되는지에 영향을 미치는 요인은 무엇인가요?
2. 전기영동 중 전하에 따른 이동을 설명해주세요. DNA 의 전하 변화는 무엇이며, DNA 는 어떤 전극 쪽으로 이동하나요?
3. 샘플 솔루션을 웰에 로딩하기 전에 왜 글리세롤을 추가하는 건가요?
4. 젤이나 전기영동 챔버에서 버퍼 대신 증류수를 대체한다면 어떤 일이 발생할까요?

시나리오 1:

1. 다형성 DNA 란 무엇인가요? 이것이 식별 목적으로 어떻게 사용되나요?
2. CODIS 는 무엇인가요? 범죄 해결에 어떻게 사용되나요?
3. STR 과 VNTR 은 무엇인가요? (STR 또는 VNTR 중) 형사 단서로 주로 사용되는 것은 무엇이며, 왜 그런가요?

시나리오 2:

1. SARS-CoV-2 바이러스 단백질의 이름과 설명을 하세요.
2. 역전사 트랜스크립테이스(Reverse Transcriptase)는 무엇이며 어떻게 작동하나요? 이것이 환자 샘플에서 SARS-CoV-2 를 감지하는 데 왜 중요한가요?
3. 환자는 코로나 19 증상이 있었지만 증상이 사라진 후에 의사의 진료소에 찾아갔습니다. COVID RT-PCR 테스트의 결과로 어떤 결과를 예상하시나요?

시나리오 3:

1. 인공선택이 무엇인가요? 농부들이 작물을 개선하기 위해 어떻게 인공선택을 사용하는지 설명하세요.
2. GM 식물의 일부 혜택은 무엇인가요? GM 식물에 대한 일반적인 우려사항은 무엇인가요?
3. GM 식물 및 식품 감독을 위한 연방 기관은 어떤 것인가요?
4. PCR 은 무엇인가요? PCR 은 유전자 수정 생물체를 식별하는 데 어떻게 사용되나요?

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

5. 이론적으로 DNA 를 세 가지 다른 샘플(옥수수, 밀, 대두)에서 추출하고 PCR 을 사용하여 유전적 수정을 분석했습니다. 전기영동 실험의 결과를 알고 있다면, 어떤 샘플이 유전적으로 수정되었을까요?

시나리오 4:

1. 왜 형제자매와 같은 다른 개인들은 다른 DNA 서열을 가질까요?
2. DNA 아버지 확인 분석에서 사용되는 PCR 프라이머의 기능은 무엇인가요?
3. 실제 아버지 확인 DNA 테스트에서 하나 이상의 단일 로커스가 사용되는 이유는 무엇인가요?