

---

---

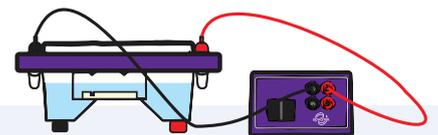
# PCR을 이용한 헌팅턴병 탐구

DIAGNOSING HUNTINGTON'S USING PCR

---

---

# ED1125



☎ 02-929-1110    ✉ info@koreasci.com

🛒 www.koreasci.com

※ 이 문서는 교육적 목적으로만 사용되어야 하며 그 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

## 실험 목표

이 실험에서 학생들은 가상 환자 샘플에 대한 DNA 지문분석 통해 가족 구성원이 헌팅턴병에 대해 Heterozygous 또는 Homozygous인지를 판단합니다. 다형성이 있는 DNA 영역은 PCR을 사용하여 증폭됩니다. 마지막으로 학생들은 아가로스 젤 전기영동을 통해 증폭된 DNA 조각을 분석합니다.

## 제품 구성품

시약	보관방법
A LyphoPrimer™ Mix	실온보관
B EdvoQuick™ DNA Ladder	-20°C 냉동보관
C Positive DNA Control	-20°C 냉동보관
D Father DNA	-20°C 냉동보관
E Mother DNA	-20°C 냉동보관
F Daughter DNA	-20°C 냉동보관
G Son DNA	-20°C 냉동보관
H TE Buffer	실온보관
PCR EdvoBeads	실온보관

참고: 튜브 C와 튜브 D는 동결건조 상태이며 PCR 준비를 위해 복원되어야 합니다.

- UltraSpec-Agarose™
- Electrophoresis Buffer(50X)
- SYBR® Safe Stain
- FlashBlue Stain
- 원심분리기 튜브
- 0.2 mL PCR 튜브

## 필요 장비 및 준비물

- PCR Thermal cycler
- 전기영동장치, 전원공급장치
- 원심분리기

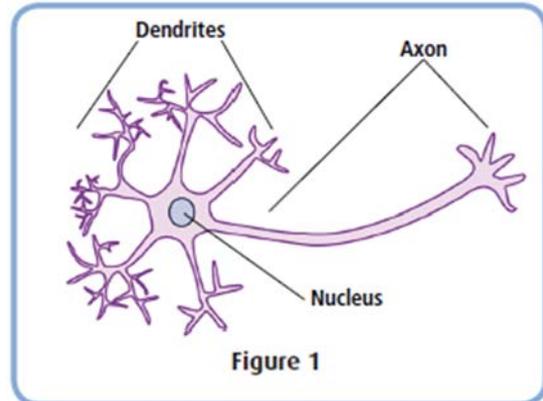
★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

- UV 트랜스일루미네이터 또는 블루라이트 시스템
- UV 안전고글
- 마이크로피펫 (5-50  $\mu$ L), 피펫팁
- 전자레인지
- 250mL 플라스크 또는 비커
- 내열장갑
- 라텍스 또는 일회용 장갑

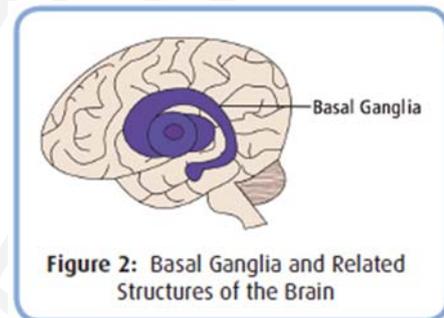
(주)한진과학기술  
KOREA SCIENTIFICS

## 배경 지식

신경계는 다양하고 많은 종류의 세포로 이루어져 있습니다. 신경세포는 뇌에서 정보를 처리하는 역할을 담당하며, 매우 크고 복잡합니다. 한 개의 인간 신경세포는 최대 1미터까지 될 수 있습니다. 신경세포의 다양한 부분은 서로 다른 세포 과정을 담당합니다. 신경세포의 수상돌기는 정보를 받고, axon은 정보를 전송합니다. 신경세포의 크기와 복잡성으로 인해 종종 모든 세포에서 발현되는 단백질의 돌연변이는 주로 신경세포에 영향을 미칩니다. 이는 헌팅턴병의 경우와 같습니다. 헌팅턴병은 운동 장애와 정신 상태의 손상을 일으키는 신경변성성 질환입니다.



뇌는 위치와 역할에 따라 여러 부분으로 나뉘어집니다. 헌팅턴병에서 영향을 받는 뇌 부분은 편도체라고 알려져 있습니다. 편도체의 신경세포들은 정확한 움직임을 할 수 있도록 특정 움직임을 억제하는 등 여러 역할을 가지고 있습니다. 이 작용으로 우리는 정자세를 유지하거나 물병을 정확하게 집거나 키보드에서 타이핑하는 등의 동작을 수행할 수 있습니다. 그러나 헌팅턴병에서는 이러한 신경세포들이 영향을 받아 억제가 해제되면서, 무질서하고 통제되지 않는 코레아(chorea)라고 알려진 움직임이 발생합니다. 헌팅턴병은 HTT 유전자에서 발생하는 자동도미넌트 돌연변이로 인해 변형된 헌팅틴 단백질이 생성됩니다.



## The Huntingtin Protein

헌팅틴 단백질은 인체의 모든 세포에서 발현됩니다. 이는 크고, 세포 내 거의 모든 과정에 관여합니다. 실제로 이 단백질은 200개 이상의 다른 단백질과 상호작용한다는 것이 밝혀졌습니다! 이러한 복잡성을 고려하여, 헌팅틴 단백질의 다양한 기능을 모두 설명하기 위한 연구가 아직 진행 중이며, 돌연변이가 질병을 어떻게 유발하는지 더 잘 이해하기 위한 연구가 진행 중입니다.

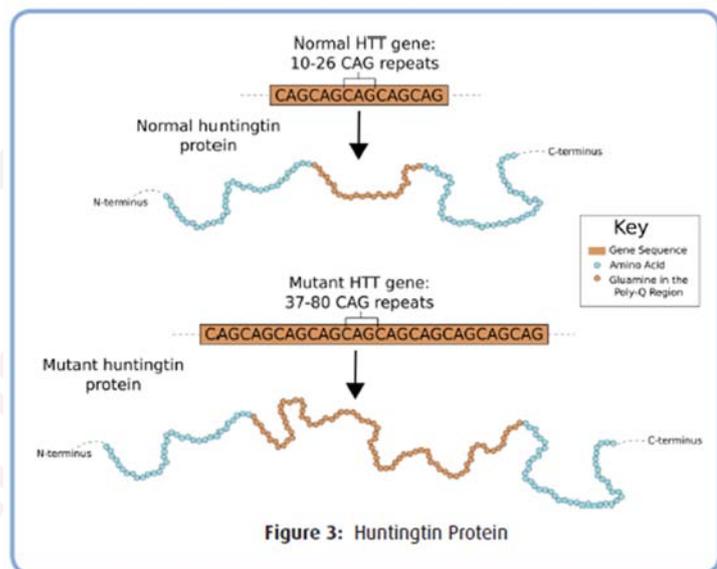
헌팅턴병에서는 헌팅틴 단백질을 부호화하는 HTT 유전자에 뉴클레오타이드 확장이 있습니다. HTT 유전자의 N-끝에는 CAG 반복이 있습니다. CAG 뉴클레오타이드 순서(사이토신-아데닌-구아닌)는 글루타민(amino acid glutamine)을 부호화하며, 이는 Q로 나타낼 수 있습니다. 정상 헌팅틴 단백질은 연속으로 26개 미만의 Q를 포함하고 있습니다. 그러나 헌팅턴병에서는 이 숫자가 40개 이상으로 확장됩니다. 이러한 Q 아미노산들은 헌팅틴이 정상적인 기능을 수행하는 데 방해가 되며,

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

많은 결합 파트너들을 방해합니다. 이러한 글루타민의 양의 증가 또는 "poly-Q 확장"은 척수소뇌성 운동실조증(Spinocerebellar Ataxia, SCA) Machado-Joseph병을 포함한 다른 신경변성 질환의 특징입니다. 헌팅턴병에서는 폴리-Q 확장이 메델리언 유전학을 따르며, 자동 도미넌트(어떤 특성이나 유전자 변이가 하나의 복제된 염색체에만 존재해도 발현되는 것)한 특징을 갖습니다.

### Mendelian Genetics

1800년대 중반, 아우구스티누스 수도사 그레고르 멘델은 정원에서 완두콩을 사용한 실험을 통해 유전의 기본 법칙을 세웠습니다. 멘델의 첫 번째 법칙인 분리의 법칙은 대립유전자라고 불리는 동일한 유전자의 대체 형태가 완두콩 식물의 차이를 통제한다고 말합니다. 각 자손은 부모로부터 각각 하나씩 유전된 두 개의 유전자 복사본을 갖고 있습니다. 다음으로 그는 대립유전자가 우성 또는 열성이라는 것을 알아냈습니다. 우성 대립유전자를 물려받으면 열성 대립유전자에 의해 암호화된 형질을 가리게 됩니다. 열성 형질을 나타내려면 두 대립유전자 모두 열성이어야 합니다. 유전의 두 번째 법칙인 독립적 분리의 법칙은 각 대립유전자 쌍이 서로 분리된다고 말합니다. 단일 유전자의 유전은 Punnett 사각형이라고 알려진 2x2 그리드로 그림으로 나타낼 수 있습니다(그림 3). 한 부모가 갖고 있는 대립유전자는 그리드 상단(열)에 배치되고, 다른 부모가 기여한 대립유전자는 그리드 측면(행)에 배치됩니다. 관례적으로 우성 대립유전자는 대문자 P로, 열성 대립유전자는 소문자 p로 표시합니다. 다음으로 부모 대립유전자를 사용하여 그리드를 채웁니다. 그리드의 각 상자에는 해당 열과 행의 제목에 있는 대립유전자가 할당됩니다. 예를 들어, 각 부모가 하나의 우성 대립유전자와 하나의 열성 대립유전자를 갖고 있다고 가정하면, Punnett 사각형은 한 식물은 두 개의 우성 대립유전자를 받고, 두 식물은 하나의 우성과 하나의 열성 대립유전자를 받으며, 하나는 두 개의 열성 대립유전자를 받을 것이라고 예측합니다. 이것은 자손의 유전적 구성 또는 유전자형을 나타냅니다..



### Detecting Huntington's Disease

헌팅턴병은 DNA 시퀀스 안의 돌연변이로 인해 발생하므로, DNA 시퀀스 분석 방법을 사용하여 검출될 수 있습니다. 이 실험실에서는 연쇄 중합효소반응(PCR)과 젤 전기영동을 사용하여 *HTT* 알렐의 크기를 비교하여 헌팅턴병을 가진 것으로 의심되는 가족을 진단할 것입니다.

1984년, 카리 윌리스 박사는 특정 DNA 조각을 복제하기 위한 간단한 방법을 고안함으로써 분자

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

생물학 분야에 혁신을 가져왔습니다. 윌리스는 합성 DNA 올리고뉴클레오티드(프라이머)와 DNA 폴리머아제를 사용하여 vitro에서 DNA를 복제할 수 있다는 것을 알게 되었습니다. 이 과정은 세포 핵 내에서의 DNA 복제와 유사합니다. 연구자들이 특정 유전자를 대상으로 프라이머를 맞춤 제작할 수 있기 때문에, 이 방법으로 선택한 DNA 서열을 빠르게 증폭할 수 있습니다. 연쇄증합효소반응(PCR)은 1993년에 윌리스에게 화학 분야 노벨상을 받을 수 있게 하였습니다. PCR을 수행하기 전에, 템플릿 DNA는 생물 샘플에서 추출됩니다. 두 개의 프라이머는 대상 서열의 5' 및 3' 끝에 반응하도록 설계됩니다. 템플릿 DNA와 프라이머는 버퍼, 네 개의 "자유" 디옥시뉴클레오티드 (dATP, dCTP, dGTP 및 dTTP), 그리고 열에 강한 DNA 폴리머아제(Taq)와 혼합됩니다. 그런 다음 PCR 혼합물은 DNA를 증폭하기 위해 세 가지 다른 온도에서 순차적인 가열/냉각 주기에 노출됩니다.

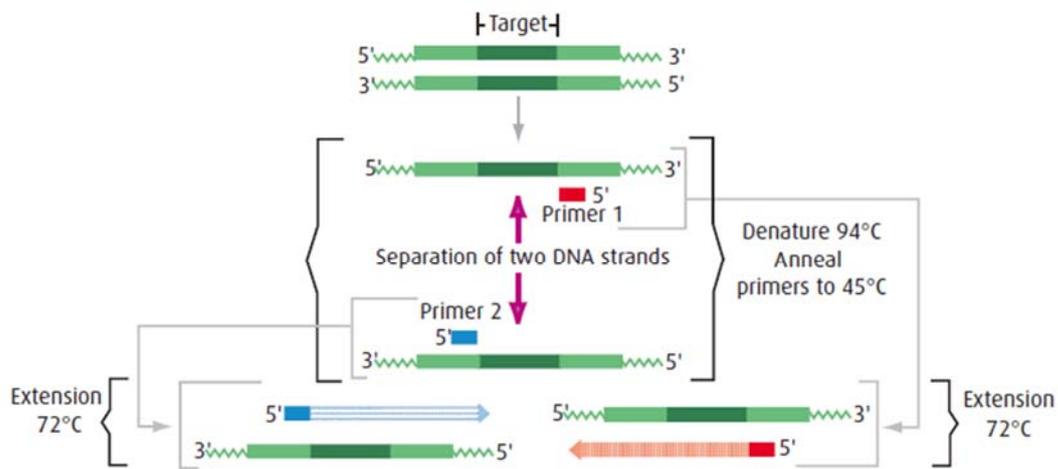


Figure 5: Polymerase Chain Reaction

### 헌팅턴 질병 환자 가족

최근 55세 된 남성 환자가 떨림(chorrea)과 정신적 능력 저하 증상을 보이며 신경과 진료를 받았습니다. 의사는 환자의 과거력을 조사하는 과정에서 그의 어머니도 사망하기 전에 유사한 증상을 보였다는 이야기를 듣게 됩니다. 의사는 이 환자가 헌팅턴 질병에 걸렸을 가능성을 의심합니다. 환자와 그의 아내, 아들, 딸과의 논의 끝에 가족 모두 헌팅턴 질병 검사를 받기로 결정합니다. 환자의 혈액을 채취하여 나머지 세포 성분과 분리해 DNA만을 추출합니다. 헌팅턴 질병 검사를 위해 이 추출한 DNA를 PCR 기법을 이용하여 증폭시키고 아가로스 젤 전기영동을 통해 분리해야 합니다. 이때 사용하는 프라이머는 *HTT* 유전자를 타겟으로 디자인됩니다. DNA 젤 상에서 더 큰 DNA 조각은 더 천천히 이동하기 때문에 만약 가족 구성원 중 누군가 CAG 반복 서열 증가로 인해 확장된 *HTT* 유전자를 가지고 있다면 해당 DNA는 더 높은 분자량을 갖게 됩니다. 검사 결과는 45개의 CAG 반복 서열을 가진 돌연변이 *HTT* 알릴을 포함하는 양성 대조군과 비교 분석됩니다.

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

## 실험 전 모듈 I 준비

4개의 DNA 샘플과 1개의 양성 대조군이 제공됩니다. 이 키트에는 새로운 EDVOTEK® LyphoPrimer™와 샘플 LyphoTemplate™가 포함되어 있습니다. 시약들은 색상으로 구분되어 있어, 올바르게 만들어진 PCR 생성물은 주황색으로 보일 것입니다. 이러한 혁신적인 제품의 특징이 실험 성공을 도와줄 것입니다.

### DNA 템플릿 준비

1. 각 LyphoTemplate™ 샘플 (튜브 C, D, E, F, G)에 50  $\mu$ L TE 완충용액(튜브 H)을 첨가하고 섞으면서 녹입니다.

2. 25개의 1.5 mL 원심분리기 튜브에 다음 괄호안의 라벨을 표시합니다.

5개 - 양성 DNA 대조군(라벨 "PC").

5개 - 아버지 DNA(라벨 "F").

5개 - 어머니 DNA(라벨 "M").

5개 - 딸 DNA(라벨 "D").

5개 - 아들 DNA(라벨 "S").

3. 녹인 샘플을 라벨링된 튜브에 맞게 7  $\mu$ L씩 넣습니다.

### 프라이머 준비

1. LyphoPrimer™ 혼합물(A) 튜브에 1 mL의 TE 완충용액(H)을 넣습니다. 튜브에 뚜껑을 닫고 혼합합니다. 용액은 연한 노란색이어야 하며 고체 조각이 남아있어서는 안됩니다.

2. 희석된 프라이머 혼합물 120  $\mu$ L를 5개의 라벨된 스냅캡 마이크로원심분리관에 피펫팅합니다.

3. 희석된 프라이머 혼합물 튜브 하나씩 각 학생 그룹에 나눠줍니다.

\*각 조별로 받을 것 : PCR튜브 5개, PCR EdvoBead 5개, Positive Control 7 $\mu$ L, 아버지 DNA 7 $\mu$ L, 어머니 DNA 7 $\mu$ L, 딸 DNA 7 $\mu$ L, 아들 DNA 7 $\mu$ L, 희석된 Primer Mix 120 $\mu$ L

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

## 실험 전 모듈 II 준비

이 실험에는 각 조당 1.0% 아가로스 젤 1 개가 필요합니다. 가장 좋은 결과를 얻으려면 7x7cm 젤을 사용하는 것이 좋습니다. 당일 학생들이 직접 만들지 아니면 젤을 미리 대량으로 준비할지 선택할 수 있습니다. 만드는데 약 30-40 분 정도 걸립니다.

### 1X 버퍼 준비

3 리터의 1X 버퍼를 위해 50X의 농축된 버퍼를 아래와 같이 증류수와 섞습니다.

Table D Bulk Preparation of 1X Electrophoresis Buffer			
50x Conc. Buffer	+	Distilled Water	Total Volume 1X Buffer
60 ml		2,940 ml	3000 ml (3 L)

### 실험 당일 학생이 직접 젤 준비

각 학생 그룹이 실험을 수행하기 전에 자신의 개별 젤을 만들 수 있습니다. 모듈 II 전기영동 과정에 포함되어 있습니다. 참조하세요. 학생들은 50 배 버퍼, 증류수 및 아가로스 가루가 필요합니다.

### 미리 젤 준비

시간 절약을 위해 미리 많은 양의 아가로스 젤 아래 표와 같이 만들 수 있습니다.

7x7 크기의 경우 25ml 씩 틀에 나눠 굳히면 됩니다.

Table E Batch Preparation of 1.0% UltraSpec-Agarose™						
50x Conc. Buffer	+	Distilled Water	+	Amt of Agarose	=	Total Volume
6.0 ml		294 ml		3.0 g		300 ml
8.0 ml		392 ml		4.0 g		400 ml

굳은 젤은 지퍼백에 소량의 버퍼를 넣어 건조되지 않도록 한 상태로 1 주일 동안 냉장고에 보관할 수 있습니다. 젤이 마르지 않도록 버퍼는 2mL 만 넣는 것이 좋습니다.

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

-20°C 에는 젤을 보관하지 마세요. 냉동하면 젤이 망가집니다.

#### SYBR® Safe 염료 준비

농축된 SYBR® Safe 튜브에 1X 전기영동 버퍼 250 $\mu$ L 를 추가하고 튜브를 여러 번 두드려 섞어 희석된 SYBR® Safe 를 준비합니다.

개별로 젤 준비할 경우 각 그룹에 7x7cm 젤용 희석된 SYBR® Safe 25 $\mu$ L 가 필요합니다.

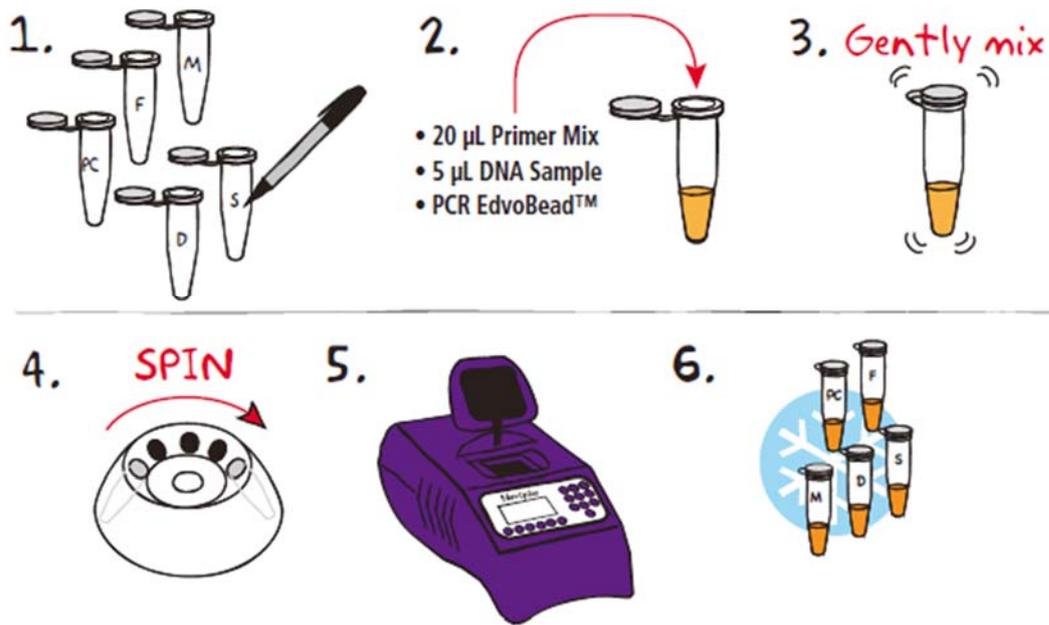
일괄로 젤 준비할 경우 SYBR® Safe 튜브 전체를 아가로스젤을 녹인 용액(300ml 또는 400ml)에 전부 넣습니다.

#### 추가 재료

각 1.0% 젤에는 EdvoQuick™ DNA Ladder 와 각 조의 PCR 생성물을 로딩해야 합니다.

- EdvoQuick™ DNA Ladder(튜브 B) 30 $\mu$ L 를 네임펜으로 표기한 원심분리기 튜브에 옮기고 1 개씩 나눠줍니다.

## 모듈 1 : 가족 DNA의 PCR 증폭



1. PCR 튜브에 괄호()의 영문으로 표기합니다. 양성 DNA 컨트롤(PC), 아버지 DNA(F), 어머니 DNA(M), 딸 DNA(D), 그리고 아들 DNA(S). 튜브에 자신의 이니셜 또는 그룹 번호를 적으세요.
2. PCR 튜브에 다음과 같이 넣습니다: 20µL 프라이머(노랑), 5µL DNA 샘플(빨강), EdvoBead 하나씩 넣습니다.
3. 각 PCR 샘플을 잘 섞습니다. PCR EdvoBeads™가 완전히 용해되었는지 확인하세요. **참고:** PCR 튜브 내 혼합물의 색상을 확인하여 프라이머와 DNA가 모두 첨가되었는지 확인하세요. 혼합물은 프라이머와 DNA가 섞여 오렌지색이어야 합니다.
4. 몇 초 동안 샘플을 원심분리하여 튜브 아래부분으로 샘플을 모읍니다.
5. PCR을 통해 DNA를 증폭합니다: (EdvoCycler 기기 사용시 키트에 맞게 설정되어 있습니다.)

PCR 사이클 조건: initial denaturation 94°C 3분

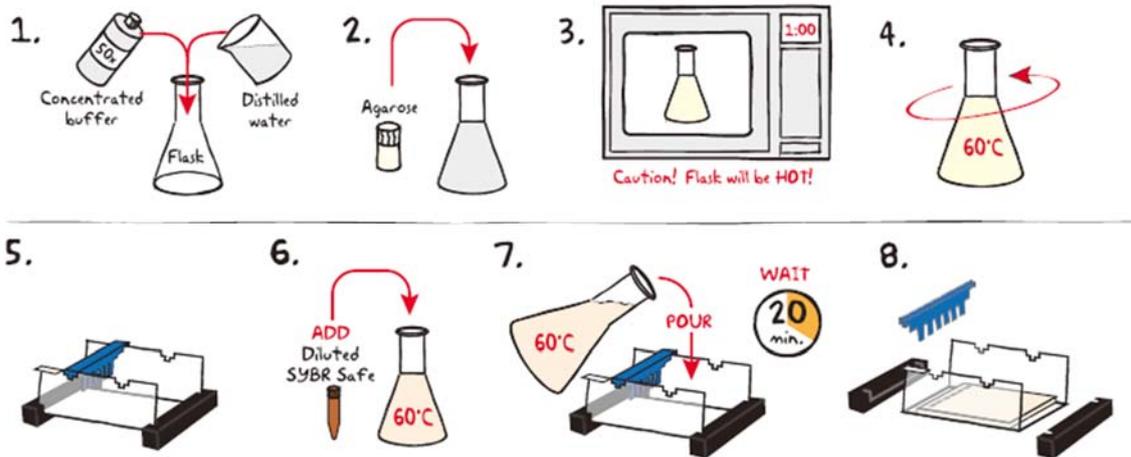
94°C 30초	} 30 사이클
55°C 65초	
72°C 30초	

Final Extension 72°C 4분

6. PCR 후에 튜브를 얼음 위에 놓습니다. 다음 단계로 진행하여 PCR 생성물 전기영동으로 분리합니다.

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

## 모듈 II: 전기영동을 이용한 PCR 생성물의 분리

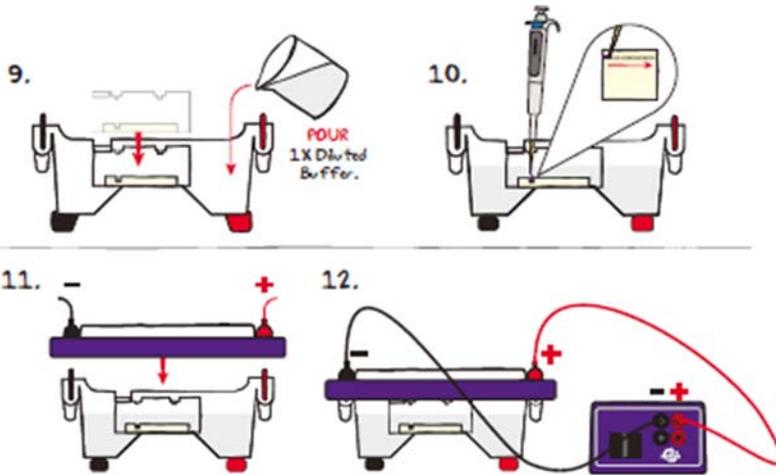


SYBR® Safe 염색액을 이용한 아가로스 젤 준비 (미리 젤을 만들었다면 1-8 번 생략합니다)

1. 농축된 50X 버퍼를 증류수로 희석하여 1X 버퍼를 만듭니다 (표 A 참조).
2. 250mL 플라스크에 아가로스 분말과 1X 버퍼를 혼합합니다 (표 A 참조).
3. 용액을 끓여 아가로스 분말을 완전히 용해시킵니다. 전자레인지에서 1 분 가열합니다. 조심스럽게 플라스크를 꺼내어 소용돌이치면서 섞습니다. 아가로스가 완전히 투명해질 때까지 (물과 같은 투명도가 되어야 함) 전자레인지에 15 초 간격으로 계속 가열합니다.
4. 플라스크를 소용돌이치면서 열을 골고루 분산시켜 아가로스를 60°C로 냉각시킵니다.
5. 아가로스가 냉각되는 동안 전기영동장치에서 제공되는 고무마개로 젤 주형 트레이 양쪽 끝을 막습니다. 로딩할 샘플 수에 적절한 comb 을 끼웁니다.
6. 굳기 전에 희석된 SYBR® Safe 염색액을 60 도 아가로스에 넣고 소용돌이치면서 섞습니다 (표 A 참조).
7. 냉각된 아가로스 용액을 준비된 젤 주형 트레이에 붓습니다. 젤은 20 분 이내에 완전히 응고되어야 합니다. 응고됨에 따라 젤은 경직되고 투명도가 낮아집니다.
8. 끝마개 제거합니다. 특히 우물 손상을 방지하기 위해 제거할 때 특히 주의하십시오.

Table A Individual 1.0% UltraSpec-Agarose™ Gel with SYBR® Safe Stain					
Size of Gel Casting tray	Concentrated Buffer (50x)	Distilled Water	Ant of Agarose	TOTAL Volume	Diluted SYBR® (Step 6)
7 x 7 cm	0.5 mL	24.5 mL	0.25g	25 mL	25 µL
7 x 14 cm	1.0 mL	49.0 mL	0.50 g	50 mL	50 µL

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



9. 젤을 전기영동 트레이에 올려놓고 전기영동 챔버 안에 넣습니다. 젤을 1X 전기영동 버퍼를 완전히 잠기게 합니다 (권장 부피는 표 B 참조).

10. 표 1의 순서대로 전체 용량(약 25 $\mu$ L)를 웰에 주입합니다.

11. 젤의 방향이 올바른지 확인한 후 안전커버를 챔버에 덮습니다. DNA 샘플은 양극(빨간색) 전극 쪽으로 이동할 것임을 명심합니다.

12. 리드선을 전원에 연결하고 전기영동을 실시합니다(시간과 전압 가이드라인은 표 C 참조).

13. 전기영동이 완료되면 젤과 주형 트레이를 전기영동 챔버에서 꺼냅니다.

Lane	Sample
Lane 1	DNA Ladder
Lane 2	Positive Control
Lane 3	아버지 DNA
Lane 4	어머니 DNA
Lane 5	딸 DNA
Lane 6	아들 DNA

EDVOTEK Model #	Total Volume Required	Dilution	
		50x Conc. Buffer	+ Distilled Water
M6+	300 mL	6 mL	294 mL
M12	400 mL	8 mL	392 mL
M36	1000 mL	20 mL	980 mL

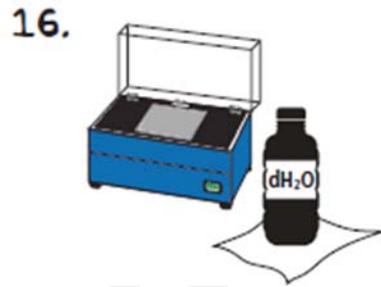
Volts	Recommended Time	
	Minimum	Maximum
150	15 min.	20 min.
125	20 min.	35 min.
70	35 min.	1 hour

14. 1X 희석버퍼를 붓습니다.

선택적 중단 지점:

젤을 몇 일 동안 보관할 수 있습니다. 젤을 2mL의 전기영동버퍼가 담긴 밀폐된 플라스틱 백에 넣고 냉장고에 보관합니다.

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



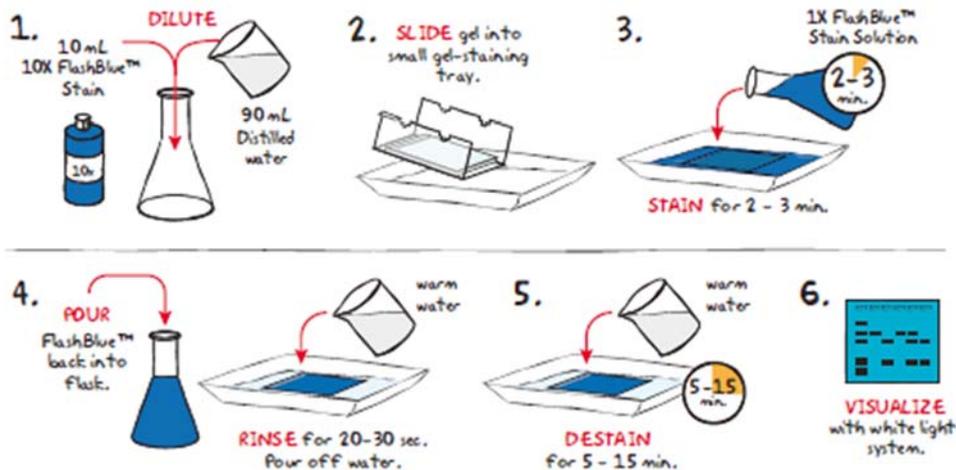
14. 젤을 주형 트레이에서 밀어내어 투과 조명기의 관찰 표면 위에 올려놓고 전원을 켭니다. 밴드의 관찰을 위해 밝기를 조정합니다. DNA는 어두운 배경에 밝은 녹색 띠로 나타납니다.

15. 결과를 촬영합니다.

16. 실험 종료 젤 제거 후, 증류수로 조명기 표면을 청소합니다.

### 모듈 III: (추가선택) FlashBlue 염색

FlashBlue™ 염색약은 SYBR® Safe와 같은 UV 반응성 DNA 염색약의 대안 또는 추가로 사용할 수 있는 간단하고 효과적인 가시광선 DNA 염색약입니다. SYBR® Safe와 FlashBlue™로 함께 염색할 경우, FlashBlue™ 염색을 시작하기 전에 SYBR® Safe 밴드를 확인하고 기록해야 합니다.



1. 플라스크에 10X 농축 FlashBlue™ 10mL와 증류수 90mL를 넣어 희석하고 잘 섞습니다.

2. 전기영동 챔버에서 아가로스 젤과 주형 트레이를 꺼냅니다. 젤을 주형 트레이에서 밀어내어 작은 깨끗한 젤 염색 트레이에 놓습니다.

3. 젤 위에 1X FlashBlue™ 염색 용액을 덮습니다. 2-3 분 동안 젤을 염색합니다.

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

최상의 결과를 위해 염색하는 동안 오비탈 셰이커를 사용하여 젤을 부드럽게 흔듭니다. 3 분 이상 염색하면 추가 탈색 시간이 필요합니다.

4. 1X FlashBlue™를 다시 플라스크에 붓습니다(염색 용액을 재사용할 수 있습니다). 젤 위에 따뜻한 물(40-45°C)을 덮습니다. 젤을 20-30 초 동안 부드럽게 행굽니다. 물을 버립니다.

5. 깨끗한 따뜻한 물(40-45°C)로 젤을 덮습니다. 부드럽게 흔들면서 5-15 분 동안 탈색합니다(시간이 길수록 결과가 좋습니다). 탈색 5 분 후 DNA 밴드가 나타나기 시작합니다. 물을 자주 갈아주면 탈색이 빨라집니다.

6. 탈색액에서 젤을 주의해서 꺼냅니다. 백색광 가시화 시스템을 사용하여 결과를 관찰합니다. DNA 는 옅은 파란색 배경에 진한 파란색 밴드로 나타납니다.

대체 FlashBlue™ 염색 프로토콜:

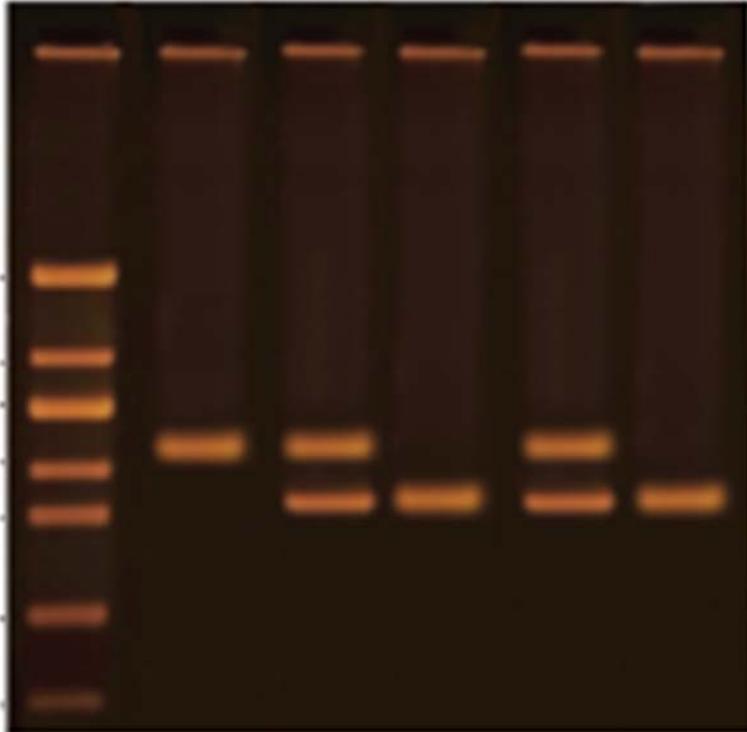
1. 10X FlashBlue™ 염색약 1mL 와 증류수 499mL 를 희석합니다.

2. 희석된 FlashBlue™ 염색액으로 젤을 덮습니다.

3. 염색액에 젤을 최소 3 시간 동안 담가둡니다. 최상의 결과를 위해 밤새 염색합니다.

4. 염색액에서 젤을 주의해서 꺼냅니다. 백색광 가시화 시스템을 사용하여 결과를 관찰합니다. DNA 는 옅은 파란색 배경에 진한 파란색 밴드로 나타납니다.

## 결과 및 분석



Lane	Sample	Genotype
1	EdvoQuick™ DNA Ladder	-----
2	Positive DNA Control	45 CAG repeats: homozygous dominant
3	Father DNA	Heterozygote
4	Mother DNA	WT (Wild-type): homozygous recessive
5	Daughter DNA	Heterozygote
6	Son DNA	WT (Wild-type): homozygous recessive

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