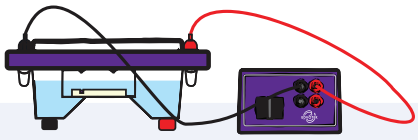
실험 가이드북

효소학으로 교통사고 가해자 찾기

Forensic Enzymology

ED193



KOREA SCIENTIFICS (주)한국과학

02-929-1110 info@koreasci.com

www.koreasci.com

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

실험 목표

가상의 교통사고에서 두 명의 운전자 중 한 명이 수면부족으로 사고를 유발하게 됩니다. 수면 부족시에 아밀라아제 수치가 높아지는 것을 이 실험에서 이용하여 사고의 책임이 더 많은 운전자를 가려냅니다. 사람의 침에서 발견되는 아밀라아제 효소가 전분 분자를 가수 분해하는 특성을 연구합니다. 학생들은 전분의 존재에 대한 아이오딘 테스트와 아밀라아제와 전분의 반응으로 나온 3,5-Dinitrosalicylic acid 테스트를 하게됩니다.

제품 구성품

A	Simulated Negative Control saliva sample	가상의 음성 대조 타액 샘플
B	Simulated Positive Control saliva sample	가상의 양성 대조 타액 샘플
C	Simulated Driver #1's saliva sample	가상의 #1번 운전자 타액 샘플
D	Simulated Driver #2's saliva sample	가상의 #2번 운전자 타액 샘플
E	Starch solution	녹말 용액
F	Iodine solution	아이오딘 용액
G	Acid Color Reagent G	산성 색상 시약 G
H	Acid Color Reagent H	산성 색상 시약 H

Microtiter plates (마이크로 플레이트)

Transfer pipets (피펫)

Microtest tubes with attached caps (원심분리기 튜브와 뚜껑)

필요 장비 및 준비물

시험관, 시험관 랙, 네임펜, 2ml 피펫, 증류수, 비커, 일회용 장갑, 고글, 마이크로피펫, 뜨거운물

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

실험 전 준비 (지도자용)

1. 펜으로 10개의 원심분리기 튜브에 "A"라고 표기합니다.
2. 펜으로 10개의 원심분리기 튜브에 "B"라고 표기합니다.
3. 펜으로 10개의 원심분리기 튜브에 "C"라고 표기합니다.
4. 펜으로 10개의 원심분리기 튜브에 "D"라고 표기합니다.
5. 펜으로 10개의 원심분리기 튜브에 "E"라고 표기합니다.
6. 펜으로 10개의 원심분리기 튜브에 "F"라고 표기합니다.
7. 펜으로 10개의 원심분리기 튜브에 "Acid"라고 표기합니다.
8. 가상의 음성 대조군 타액 샘플(A튜브) 160 µl (0.16mL)씩을 "A"로 표기한 각 원심분리튜브에 분주합니다.
9. 가상의 양성 대조군 타액 샘플(B튜브) 160 µl (0.16mL)씩을 "B"로 표기한 각 원심분리튜브에 분주합니다.
10. 가상의 1번 운전자 타액 샘플(C튜브) 160 µl (0.16mL)씩을 "C"로 표기한 각 원심분리튜브에 분주합니다.
11. 가상의 2번 운전자 타액 샘플(D튜브) 160 µl (0.16mL)씩을 "D"로 표기한 각 원심분리튜브에 분주합니다.
12. 녹말용액(E튜브) 700 µl를 "E"로 표기한 원심분리튜브에 분주합니다.
13. 아이오딘 용액(F튜브) 50 µl를 "F"로 표기한 원심분리튜브에 분주합니다.
14. 산성색상시약(G튜브)는 냉장고에 제대로 보관하고 있었다면 침전이 되기도 합니다. 잘 녹도록 따뜻한 물에 튜브를 두도록 합니다.
15. 잘 녹은 산성색상시약(G튜브) 모두를 산성색상시약(H튜브)에 넣고 잘 섞습니다. 이 튜브를 "Acid"로 표기합니다. "Acid"라고 표기했던 10개의 원심분리기 튜브에 850 µl (0.85mL)씩을 분주합니다.
16. 각 학생그룹에 다음 준비물을 놔눠줍니다.
    A. 각 A, B, C, D, E, F, Acid 튜브 한 개
    B. 4개의 well이 있는 마이크로 플레이트 한줄

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

C. 4개의 시험관

D. 피펫(transfer pipet) 8개

- A, B, C, D, E 튜브는 실험 모듈1, 모듈2에서 모두 사용됩니다.
- F는 실험 모듈1 에서만 사용됩니다.
- "Acid" 튜브는 실험 모듈2 에서만 사용됩니다.

***온도는 실험의 반응속도에 영향을 끼치기에 모든 실험은 실온에서 이뤄져야합니다. 이 키트의 몇몇 시약은 냉장보관이지만 실험 사용 전에는 실온에 두셔야 합니다.**

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

실험 과정 (학생 수행)

펜으로 피펫 4개에 각각 -, +. D1, D2 를 표기합니다. 실험에서 사용되는 시약에 맞는 피펫을 사용합니다.

(-) : 음성

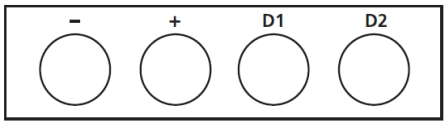
(+) : 양성

D1 : Driver#1 (1번 운전자 타액)

D2 : Driver#2 (2번 운전자 타액)

실험 모듈 I : 기질(전분)의 유무 판별

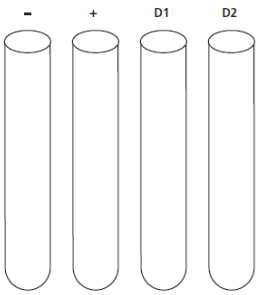
1. 자신의 마이크로 플레이트에 다음의 그림처럼 펜으로 -, +, D1, D2를 표기합니다.



*주의 : 피펫으로 시약을 마이크로 플레이트 well마다 넣을 때 주변 well에 닿거나 시약이 섞이지 않도록 주의하십시오.

2. 마이크로 플레이트의 (-) well에 피펫을 사용해 음성 샘플용액 3방울(50 μl)을 넣습니다. 다른 샘플 용액(양성, 운전자1, 운전자2)도 다른 피펫들을 사용해 각 well마다 동일한 양을 넣습니다.
3. 녹말용액(E튜브) 50 μl씩 각 well에 넣습니다.
4. 아이오딘 용액(F튜브) 10 μl씩 각 well에 넣습니다.
5. 색 변화를 기록합니다.

실험 모듈 II : 말토스(Maltose) 유무 판별



1. 펜을 사용해 4개의 비어있는 시험관에 -, +, D1, D2를 표기합니다.

실험용 장갑을 착용합니다.

2. 각 시험관에 맞는 샘플용액(-, +, D1, D2)을 100 μl씩 넣습니다.

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

3. 녹말 용액을 6방울(100 μl) 씩 각 시험관에 넣고 잘 섞습니다. 5분간 실온에 놔둡니다.
4. 산성 색상 용액 200 μl씩 각 시험관에 넣습니다. 잘 섞은 후에 작은 호일로 시험관 입구를 덮습니다. 시험관을 1분간 끓는 물에 넣습니다.
5. 실온에 다시 식히도록 합니다.
6. 각 시험관에 2ml 증류수를 넣고 잘 섞습니다.
7. 색 변화를 기록합니다.

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

실험 결과

모듈 I:

마이크로 플레이트의 기질(전분)의 사라짐을 관찰한 결과 각 웰마다 어떤 색이 나타납니까? 두 운전자 중 누가 잠들었을 것이라고 생각합니까?

수면 부족으로 인해 사람의 타액의 아밀라아제 수치는 증가합니다. 일반적으로 전분 용액은 아이오딘과 결합하면 짙은 갈색(또는 파란색)을 띕니다. 반응 후 갈색은 전분이 존재함을 나타냅니다.(운전자#1) 반면에 아밀라아제가 전분과 작용하여 복잡한 구조가 파괴되어 가수분해되면 아이오딘과 결합 될 때 황색으로 표시됩니다.(운전자#2)

모듈 II:

이 모듈에서는 3,5-Dinitrosalicylic acid(노란색)가 전분분해효소 아밀라아제의 반응에서 산성 색상 시약으로 사용됩니다. 환원당인 맥아당의 존재는 산화 반응을 통해 검출됩니다. 이 반응에서 만들어지는 맥아당 농도에 따라 노란색에서 주황색(또는 빨간색)으로 색상이 변합니다.

법의학 데이터 분석:

실험 결과에 따르면 운전자2 의 타액 샘플은 운전자1 보다 더 많은 맥아당을 생성하며 이는 운전자2의 타액에 더 많은 아밀라아제가 존재하다는 것을 보여줍니다.

따라서 운전자 2가 수면부족이었다는 것을 의미하며 사고에 대한 책임이 있을 수 있습니다.

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