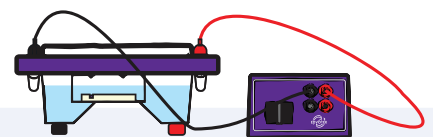


콜레스테롤 유전자 찾기

In Search of the Cholesterol Gene

ED316



☎ 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 유전적 질환 개념을 탐구하고 고혈증과 관련된 돌연변이를 구별합니다. 또한 콜레스테롤 분석에 관련된 생화학적 원리와 방법론을 수행하고 이해합니다.

제품 구성품

	시약	보관방법
A	Cholesterol Standard Solution Freezer	-20°C 냉동보관
B	Patient #1 Serum Sample Freezer	-20°C 냉동보관
C	Patient #2 Serum Sample Freezer	-20°C 냉동보관
D	Patient #3 Serum Sample Freezer	-20°C 냉동보관
E	Normal DNA Sample Refrigerator	냉장보관
F	FH Control Refrigerator	냉장보관
G	Patient #1 DNA Sample Refrigerator	냉장보관
H	Patient #2 DNA Sample Refrigerator	냉장보관
I	Patient #3 DNA Sample Refrigerator	냉장보관
J	DNA Standard Markers Refrigerator	냉장보관
K	Cholesterol Oxidase Enzyme Freezer	-20°C 냉동보관
L	Potassium iodide concentrate Refrigerator	냉장보관
M	Color enhancer, concentrate Refrigerator	냉장보관
N	Color developer, concentrate Refrigerator	냉장보관

다음 시약은 실온에서 보관합니다.

- UltraSpec-Agarose™
- Electrophoresis Buffer (50X)
- SYBR® Safe Stain
- Microcentrifuge tubes (1.5mL)
- Microcentrifuge tubes (0.5mL)

필요 장비 및 준비물

- 전기영동 장치, 전원공급장치

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

- 마이크로 피펫과 피펫팁
- UV 트랜스일루미네이터
- 항온 수조 (65°C)
- 인큐베이션 오븐 (80°C)
- 원심분리기
- UV 안전 고글
- 전자레인지
- 비커, 플라스크
- 스펙트로미터
- 핫글러브, 안전고글
- 비닐랩
- 페이퍼타월
- 증류수

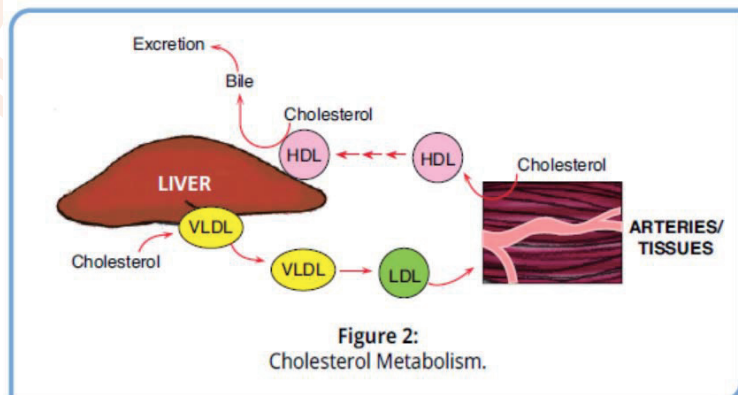
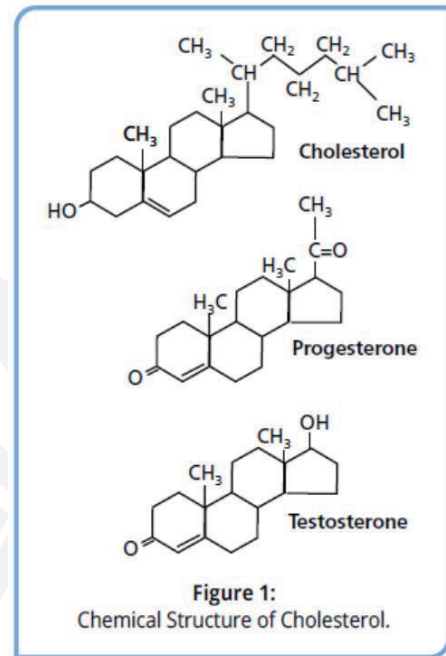
배경 지식

콜레스테롤은 모든 동물 세포에 필수적인 복잡한 지질입니다. 주요 기능은 세포 플라스마 및 오르가넬 막의 안정화와 구조적인 구성 요소로 작용하는 것입니다. 또한 스테로이드 호르몬의 전구물질입니다. Figure 1은 콜레스테롤 및 테스토스테론, 프로게스테론과 같은 스테로이드에서 발견되는 네 개의 고리 뼈대 구조를 보여줍니다. 콜레스테롤은 비타민 D와 담즙 염이라는 지질 소화를 촉진하는 물질의 전구물질로도 작용합니다.

콜레스테롤은 간에서 합성되며 식이원(dietary sources)에서 흡수됩니다. 이는 지질단백질 입자로 알려진 구 형태의 입자로서 체액을 순환합니다. 이러한 지질단백질은 원심분리 과정에서 밀도에 따라 분류됩니다. 간에서 콜레스테롤은 매우 저밀도 지질단백질로 포장되어 순환되며 이후에는 저밀도 지질단백질 (LDL)로 형성되기 위해 순환에서 처리됩니다 (Figure 2). 대부분의 순환 콜레스테롤은 LDL에 존재합니다. 고밀도 지질단백질 (HDL)은 LDL 및 말단 조직에서 콜레스테롤을 흡수하여 간으로 운반하여 재포장하거나 배출합니다 (도표 2). HDL은 순환된 콜레스테롤을 제거하기 때문에 이러한 입자에서 발견되는 콜레스테롤은 종종 "양호한 콜레스테롤" (HDL:H = 건강한 상태)로 지칭됩니다. 반면에 LDL에서 발견되는 콜레스테롤은 주로 말단으로 향하는 순환에서 발견되는 주요 형태이며 따라서 종종 "나쁜 콜레스테롤" (LDL:L = 나쁜 상태)로 불리기도 합니다.

콜레스테롤은 생명에 필수적이지만, 혈청 콜레스테롤의 과잉은 심각한 부정적인 결과를 초래할 수 있습니다. 고혈청 콜레스테롤이 심혈관 질환과의 관련성은 잘 알려져 있습니다. "플라크"로 알려진 혈관 내 콜레스테롤 축적은 결국 혈류 차단을 일으켜 심근경색 또는 뇌졸중을 초래합니다. 관상동맥질환은 미국에서 가장 많은 사망 원인이며 매년 512,000 명의 생명을 앗아갑니다. 뇌졸중은 연간 15만 명으로 사망률에서 세 번째로 많은 원인입니다. 뇌졸중에만 300억 달러 이상의 의료비가 소비됩니다.

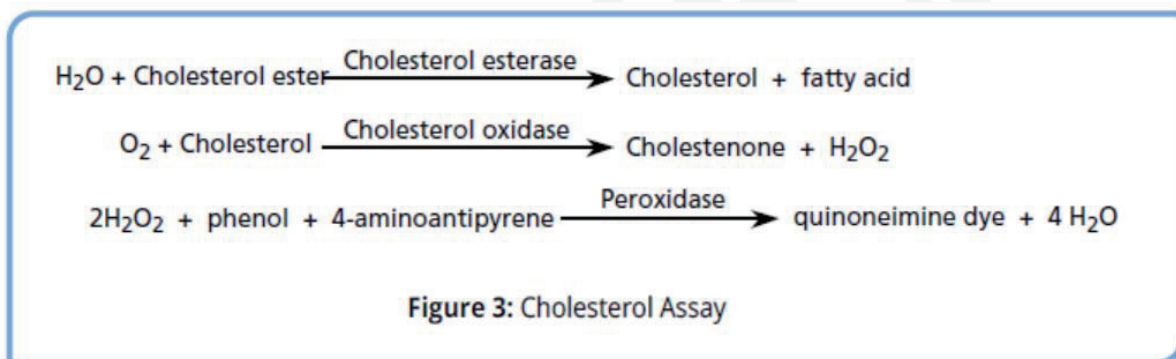
심혈관 질환과 고혈청 콜레스테롤 간의 상관 관계를 밝히기 위해 혈청 콜레스테롤 수치는 이제 임상 실험실 검사와 최근에는 가정용 검사에서도 정기적으로 측정됩니다. 고수치는 식이 조절이나 필요한 경우 약물을 통한 콜레스테롤 감소가



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

필요함을 나타냅니다. 혈청 콜레스테롤 수치를 측정하기 위해 화학적 및 효소적 분석법이 사용되고 있습니다. 상당히 번거로운 화학적 방법은 효소적 방법으로 대체되어 빠르고 간단한 방법으로 대부분 대체되었습니다.

Figure 3. 에서는 콜레스테롤 에스터를 콜레스테롤로 환원하기 위해 콜레스테롤 에스터아제가 사용됩니다. 그런 다음 콜레스테롤은 콜레스테롤 옥시다제에 의해 콜레스테논과 과산화수소로 산화됩니다. 과산화수소는 다시 퍼옥시다제의 기질로 작용하여 물과 산소를 생성하며, 이것은 검출 시약과 반응하여 색소 화합물을 생성합니다. 밀도 그래디언트 원심분리를 사용하여 LDL ("나쁜") 또는 HDL ("좋은")에 포함된 총 콜레스테롤의 분율을 확인할 수 있습니다. 총 콜레스테롤 수치가 200 mg/100 mL 이상이거나 LDL 수치가 130 mg/100 mL 이상인 경우, 심혈관 질환 발생의 고위험 요소로 간주됩니다. 심혈관 질환의 증가 위험과 관련된 또 다른 지질인 트리글리세라이드 수치도 일반적으로 확인됩니다.



위에서 언급한 대로, 대부분의 순환 콜레스테롤은 LDL에 존재합니다. 동물 세포는 특정한 LDL 수용체를 통해 순환된 LDL을 흡수합니다. "가족성 고콜레스테롤혈증" (FH)로 알려진 상태를 가진 사람들은 LDL 수용체에 대한 유전자 돌연변이를 가지고 있으며, 순환된 LDL을 효율적으로 제거할 수 없어 혈청 콜레스테롤 수치가 증가합니다. 이 돌연변이에 대해 이형 접합체인 환자들은 여전히 하나의 기능적인 유전자를 가지고 있으므로 정상적인 LDL 수용체 양의 절반을 갖게 됩니다. 그러나 돌연변이에 대해 동질 접합체인 환자들은 완전히 LDL 수용체를 갖지 않으므로 혈청 콜레스테롤 수치가 극도로 높아집니다 (일반적으로 600 mg/100 mL 이상). 이러한 환자들은 치료를 받지 않는 경우 대개 심근경색으로 어린 시절에 사망합니다.

FH는 LDL 수용체에 수백 가지 다른 돌연변이로 인해 발생할 수 있습니다. 많은 돌연변이는 제한 효소절편길이다형성(Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) 분석 기술을 통해 검출될 수 있습니다. 이 기술에서는 DNA가 특정 제한효소로 소화되고, 특정 DNA 영역에 프로브가 하이브리다이제 (hybridized) 됩니다. RFLP는 질병을 앓은 개체와 건강한 개체 간에 해당 영역의 제한 효소 패턴의 변이로 정의됩니다. RFLP 분석에서는 주로 질병 유발 유전자 내부 또는 근처의 특정 DNA 영역이 PCR(Polymerase Chain Reaction)을 사용하여 먼저 증폭됩니다.

PCR

PCR는 두 가지 중요한 장점을 가지고 있습니다. 첫 번째는 증가된 DNA 양으로 DNA 지문 식별을 가능하게 하는 감도입니다. PCR은 DNA를 증폭하기 때문에 훨씬 작은 양의 DNA로도 식별이 가능합니다. 두 번째 장점은 Southern Blot 분석에 비해 PCR 분석의 빠른 속도입니다. 이는 중요한 질문에 대한 답변을 더 빠르게 얻을 수 있게 합니다.

PCR 증폭은 Taq polymerase와 같은 열 안정성 DNA 폴리머아제를 사용해야 합니다. 온천에 서식하는 *Thermus aquaticus*라는 세균으로부터 정제된 Taq polymerase는 거의 끓는 온도에서도 안정한 상태로 유지되기 때문에 PCR에서 흔히 사용됩니다. PCR 반응에는 데옥시뉴클레오티드 네 가지 (dATP, dCTP, dGTP 및 dTTP)와 "프라이머"라고 알려진 보통 15-30개의 염기로 이루어진 합성 올리고뉴클레오티드 두 개가 포함됩니다. 이 구성 요소들은 증폭할 DNA와 함께 적당한 Mg^{2+} 가 포함된 버퍼에서 숙주되어야 합니다. 프라이머는 증폭할 DNA의 시작과 끝에 해당하는 부분에 디자인되어야 합니다. 이를 "타겟"이라고 합니다.

PCR 반응 혼합물 (DNA 폴리머아제, 버퍼, 데옥시뉴클레오티드, 프라이머 및 템플릿을 포함)은 세 가지 다른 온도에서 순차적인 가열/냉각 주기에 노출됩니다 (Figure 4).

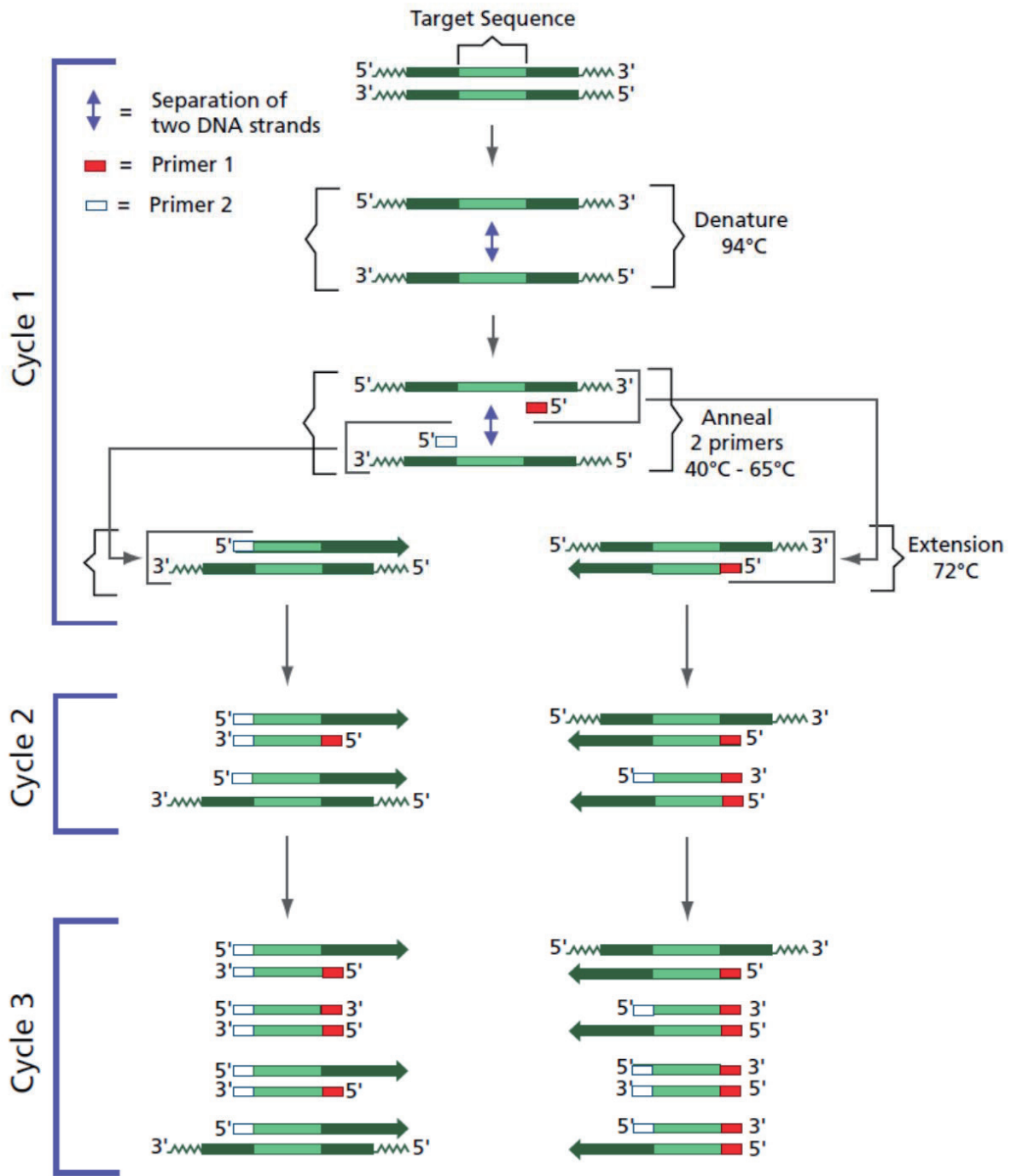
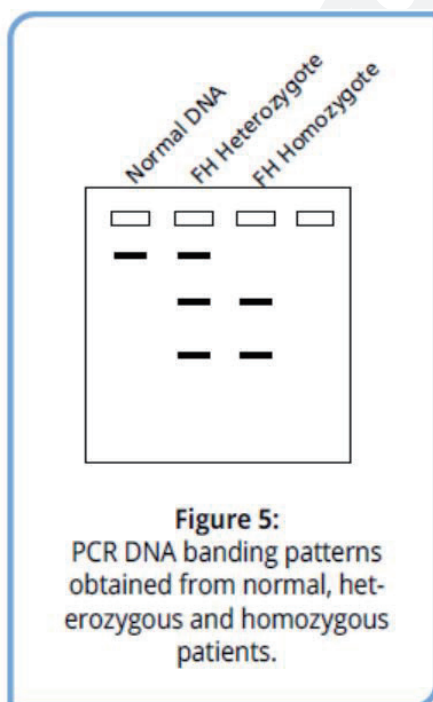


Figure 4: Polymerase Chain Reaction.

- Denaturation: 혼합물이 거의 끓는 온도 (92°C - 96°C)로 가열되어 목표 DNA를 "언집" (또는 용해)합니다. 높은 온도는 두 개의 상보적인 DNA 염기서열 간의 수소 결합을 깨트리고 그들의 분리를 유발합니다.
- Annealing: 반응 혼합물이 45°C - 65°C까지 냉각되어 프라이머가 목표 DNA 서열과 염기 대 쌍을 이루도록 합니다. (정확한 온도는 프라이머와 템플릿 DNA의 특정 서열에 따라 결정됩니다.)
- Extension: 온도가 72°C로 올라갑니다. 이것은 Taq polymerase가 하이브리드화된 프라이머에 뉴클레오티드를 첨가하여 새로운 상보적인 염기서열을 합성할 수 있는 최적의 온도입니다.

마커 영역의 PCR 후, 증폭된 DNA는 특정한 제한효소로 절단됩니다. 환자가 LDL 수용체 유전자에 돌연변이를 가지고 있는 경우, 소화 패턴은 건강한 개체로부터 얻은 패턴과 다를 것입니다.

이 실험에서는 세 명의 환자로부터 모의 DNA 샘플이 FH 돌연변이를 분석하기 위해 측정될 것입니다. 각 샘플은 미리 증폭되고 제한효소로 절단된 상태이며, 아가로스 젤에서 전기영동에 의해 분리되기 위해 준비되어 있습니다. 겔을 염색한 후의 DNA 패턴으로부터, 환자가 정상(하나의 DNA 밴드), 이형질 (세 개의 DNA 밴드) 또는 동형질 (두 개의 DNA 밴드) 인지를 확인할 수 있습니다 (Figure 5). 또한, 세 명의 환자로부터 혈청 샘플에 대해 콜레스테롤 분석도 수행할 것입니다. 분광기를 사용하여 각 샘플의 총 콜레스테롤을 결정하고, 샘플을 수집한 시점에서 각 환자의 콜레스테롤 농도를 계산할 것입니다.



모듈 I 준비

SYBR Safe Stain 염색 준비

1. 1x 전기영동 버퍼를 준비하기 위해 키트에서 제공된 50x 농축 버퍼 20 μ L 와 증류수 980 μ L 를 섞습니다.
2. SYBR Safe 용액 튜브에 위에서 만든 1x 버퍼 용액 450 μ L 를 넣고 튜브를 두드려 섞습니다. 이제 아가로스 젤 준비가 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.

-20°C에 젤을 보관하지 마세요. 열리면 파괴될 수 있습니다. 보관용기에서 뺀 젤은 트레이(접시)에 아가로스 몇 방울을 떨어뜨려 접촉 고정시킵니다. 이 방법은 트레이와 챔버에서 미끄러지는 것을 방지할 수 있습니다.

추가 재료:

1. 0.5 ml 튜브 5개에 "DNA mkr" (튜브 J)을 표기하고 튜브에 45 μ l의 DNA 표준 마커를 넣습니다. 각 튜브는 두 그룹을 위한 것입니다.
2. 0.5 ml 튜브 5개에 "neg"로 표기합니다. 각 튜브에 45 μ l의 정상 DNA 샘플 (튜브 E)을 넣습니다 (두 그룹을 위해).
3. 0.5 ml 튜브 5개에 "pos"라벨을 붙입니다. 각 튜브에 45 μ l의 FH Control 샘플 (튜브 F)을 넣습니다 (두 그룹을 위해).
4. 각각의 세 환자 DNA 샘플을 위해 "DNA1", "DNA2" 및 "DNA3"라벨이 붙은 0.5 ml 튜브 5개씩 준비합니다. 각 튜브에 45 μ l의 환자 DNA 샘플을 넣습니다 (두 그룹을 위해). DNA Standard 마커를 라벨링된 원심분리기튜브에 45 μ L 씩 나누어 담아 하나씩 나눠줍니다.

모듈 I을 위해 학생들이 받아야 할 것

- 50X 버퍼
- 증류수
- 아가로스 파우더
- 희석된 SYBR Safe

모듈 I을 위해 학생 두 명이 공유하는 시약

- DNA 마커
- - Control, +Control
- P1 DNA
- P2 DNA
- P3 DNA

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

모듈 II 준비

1. 콜레스테롤 산화효소(Cholesterol oxidase), 환자혈청(patient serum), 콜레스테롤 표준 용액을 냉동고에서 꺼내 해동시킵니다.
2. 0.5ml 튜브 5 개에 "std"라고 표기합니다. 각 튜브 마다 130 μ l 의 콜레스테롤 표준 용액(A)을 넣습니다. 각 튜브는 두 그룹이 공유합니다.
3. 각각 "Serum1", "Serum2" 및 "Serum3"로 라벨링된 0.5 ml 튜브 다섯 개씩을 준비합니다. 각 튜브에 환자 혈청 샘플 45 μ l 을 넣습니다. 각 튜브는 두 그룹이 공유합니다.
4. 콜레스테롤 분석용 용액을 준비합니다. 이 용액은 모두가 공유합니다. 참고: 이 용액은 모듈 II 사용 직전 30 분 이내에 준비하세요.
 - a. 해동된 콜레스테롤 산화효소 효소(튜브 K) 50 ml 를 깨끗한 100 ml 비커에 넣습니다.
 - b. 염화 칼륨(potassium iodide) 용액(튜브 L) 10 ml 을 추가합니다.
 - c. 강화제(enhancer solution) 용액(튜브 M) 10 ml 을 추가합니다.
 - d. 개발제(developer solution) 용액(튜브 N) 10 ml 을 추가합니다.
 - e. 증류수 20 ml 을 추가합니다.
 - f. 잘 혼합하고 비커에 "Assay Solution"이라고 표시합니다.
 - g. 얼음 위나 냉장고에 어두운 곳에서 보관합니다.
5. 분광광도계를 세팅합니다. 새 큐벳이나 깨끗한 큐벳을 준비합니다.
6. 각 그룹에게 1.5 ml 원심분리기 튜브를 9 개씩 나눠줍니다.

모듈 II 을 위해 학생들이 받아야 할 것

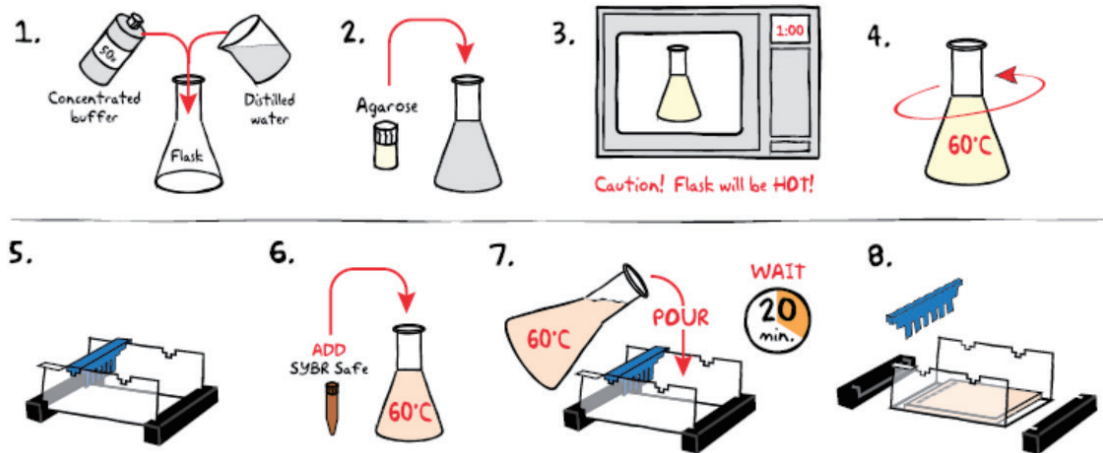
- 원심분리기튜브
- Assay solution

모듈 II 을 위해 학생 두 명이 공유하는 시약

- "std" 콜레스테롤 스탠다드마커
- 환자 1, 2, 3 혈청 샘플

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

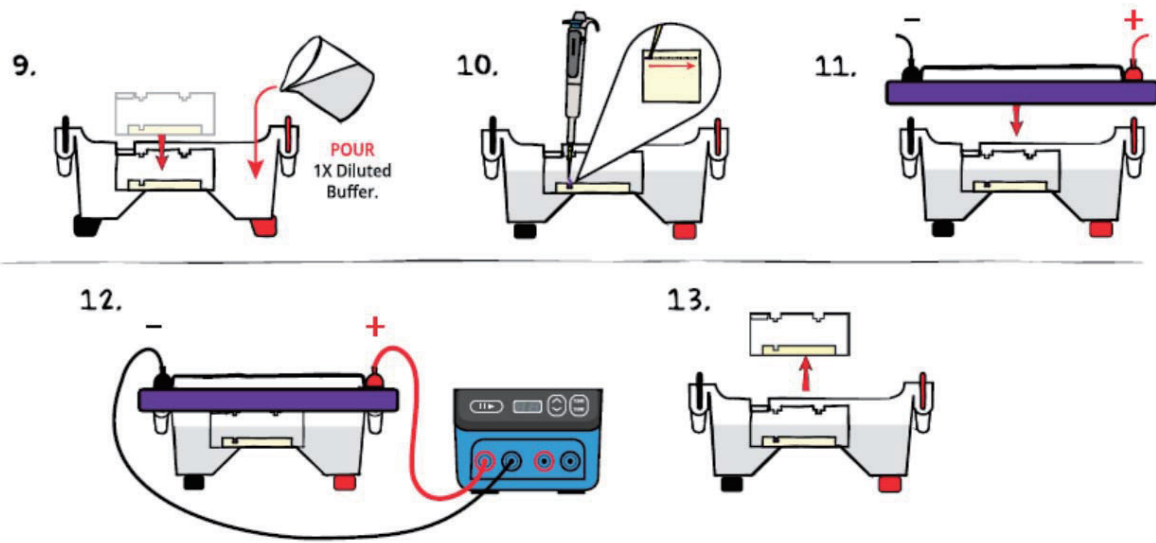
모듈 I: 아가로스젤 전기영동



1. 50X 버퍼와 증류수를 Table A 참조하여 적정용량을 플라스크에 넣고 섞어 희석합니다.
2. 아가로스 분말 적정량을 1X 버퍼가 담긴 250 mL 플라스크에 넣습니다(Table A 참조).
3. 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).
4. 플라스크를 주의해서 흔들어 열을 균일하게 퍼뜨린 후, 아가로스를 60°C까지 냉각시킵니다.
5. 아가로스가 냉각되는 동안, 젤 캐스팅트레이의 끝부분을 고무 캡으로 막습니다. 적절한 노치에 comb을 끼워 넣습니다.
6. 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.
7. 냉각된 아가로스 용액을 젤 캐스팅트레이에 부어 균힙니다. 완전히 굳어지는 데 20분이상 소요됩니다. 젤은 굳어질수록 더 굳고 불투명해집니다.
8. 고무 캡과 comb을 분리합니다. well에 손상을 입히지 않도록 특히 comb 제거 시 주의합니다.

Table A Individual 0.8% UltraSpec-Agarose™ Gel with SYBR® Safe Stain					
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	0.24 g	30 mL	30 µL
10 x 7 cm*	0.9 mL	44.1 mL	0.36 g	45 mL	45 µL
14 x 7 cm	1.2 mL	58.8 mL	0.48 g	60 mL	60 µL

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



9. 젤을 전기영동 챔버에 넣고 1X전기영동 버퍼(Table B 참조)를 넣어 완전히 잠기게 합니다.
10. Table 3: Gel Loading참조, 각 샘플을 젤의 well에 마이크로 피펫으로 ~35 μ L씩 로딩합니다.
11. 덮개를 덮고 +, - 극을 잘 연결했는지 확인합니다.
12. 전원공급장치에 연결하여 실험을 시작합니다. (전압과 시간은 Table C 참조).
13. 전기영동을 마친 후 장치에서 젤이 담긴 트레이를 빼냅니다.

TABLE 1: Gel Loading	
Lane	Sample
1	DNA standard markers (DNA mkr)
2	Normal Control DNA sample (Neg)
3	FH control (Pos)
4	Patient #1 DNA sample (DNA 1)
5	Patient #2 DNA sample (DNA 2)
6	Patient #3 DNA sample (DNA 3)

Table B 1x Electrophoresis Buffer (Chamber Buffer)			
EDVOTEK Model #	Total Volume Required	50x Conc. Buffer	Dilution + Distilled Water
EDGE™	150 mL	3 mL	147 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	10/20	20/35
125	N/A	30/45
100	15/25	40/60

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

14.



15.



16.



14. 젤을 조심스럽게 트랜스 일루미네이터에 올립니다.

15. 결과를 확인하고 사진을 찍습니다.

16. 사용 후에는 깨끗하게 트랜스일루미네이터를 닦습니다

모듈 II: 환자 혈청 샘플의 콜레스테롤 에세이

1. 선생님께서 "std", "Serum 1", "Serum 2", "Serum 3", "assay solution" 튜브를 받습니다.
2. 1.5mL 튜브에 각 환자 샘플 20 μ L씩을 피펫으로 옮깁니다. 각 튜브에 기록합니다.
3. "std"로 표시된 튜브에서 콜레스테롤 표준액을 준비합니다. 콜레스테롤 표준 용액은 농도가 5.0 μ g/ μ L로 제공됩니다.
4. 아래 표에 표시된 대로 0, 20, 40, 60, 80 및 100 μ g을 준비하기 위해 필요한 표준 용액의 부피를 계산하고 기록합니다.
5. 적절한 용량을 1.5 mL 튜브에 옮기고 각 튜브에 표기합니다.
6. 각 튜브에 환자의 세 개의 혈청 샘플 20 μ L와 1.0 mL의 assay 용액을 넣습니다.
7. 모든 샘플(표준 및 환자 샘플)을 37°C 항온 수조에서 15분 동안 배양합니다. 사용하지 않은 assay 용액은 10단계에 보관하세요.
8. 샘플을 항온수조에서 꺼냅니다.
9. 사용할려는 분광광도계에 맞는 유리 튜브나 큐벳으로 샘플을 옮깁니다. 각 튜브에 증류수 2 ml를 추가하고 혼합 또는 제조업체의 설명서에 따라 샘플 준비를 진행합니다.

Cholesterol Standards	Patient Samples	Absorbance at 500 nm (y-axis)	Total Cholesterol in sample (x-axis) (μ g)	Cholesterol Concentration (mg/100 mL)
0 μ L			0	500
— μ L			20	500
— μ L			40	500
— μ L			60	500
— μ L			80	500
— μ L			100	500
	Serum 1 (20 μ L)			
	Serum 2 (20 μ L)			
	Serum 3 (20 μ L)			

10. 사용 전인 assay용액을 큐벳에 넣고 스펙트로미터 500nm의 파장에서 blank값 처리합니다.
11. 각 샘플의 흡광도를 측정하고 기록합니다.

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

12. 표에서 열 4 (Total Cholesterol in sample)을 x 값으로, 열 3 (Absorbance)을 y 값으로 사용하여 다음 a와 b 중 하나를 수행합니다.:

a. 그래프 용지를 사용하여 x와 y 값을 그래프에 표시합니다. 데이터에 가장 잘 맞는 직선을 그립니다. 최적의 적합선과 각 미지의 흡광도(y) 값을 기반으로 각 환자 샘플의 총 콜레스테롤 (x) 값을 계산합니다. 값을 표에 기록합니다.

b. 계산기나 컴퓨터를 사용하여 x와 y 값의 선형 회귀를 수행합니다. 흡광도 값을 기반으로 각 환자 샘플의 총 콜레스테롤(x) 값을 계산합니다. 값을 표에 입력합니다.

13. 각 환자의 혈청에서의 콜레스테롤 농도를 계산하여 mg / 100 ml로 기록합니다 (각 환자로부터 얻은 혈청 부피는 20 μ l임을 기억합니다). 예시: 만약 20 μ l 샘플이 50 μ g의 콜레스테롤을 포함 한다면, 콜레스테롤 농도는 다음과 같습니다:

$$\begin{aligned} 50 \mu\text{g} / 20 \mu\text{l} &= 2.5 \mu\text{g} / \mu\text{l} \\ 2.5 \mu\text{g} / \mu\text{l} &= x \mu\text{g} / 100 \mu\text{l} \\ x &= (2.5 \mu\text{g} / \mu\text{l}) (100 \mu\text{l}) \\ &= 250 \mu\text{g} \end{aligned}$$

따라서 농도는 다음과 같습니다:

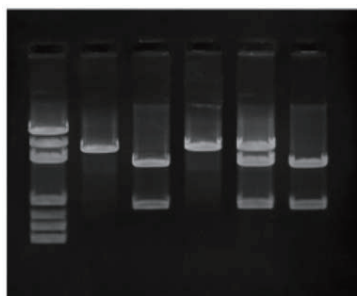
$$250 \mu\text{g} / 100 \mu\text{l} \quad \text{또는} \quad 250 \text{ mg} / 100 \text{ ml}$$

토론 주제

1. 가족성 고콜레스테롤혈증(FH)이란 무엇인가요? 만약 어린이의 부모 양쪽 모두가 FH 에 대해 이형이성인 경우, 그 아이가 경증의 질병에 걸릴 확률은 얼마인가요? 아이가 중증으로 걸릴 확률은 얼마인가요?
2. RFLP 분석이란 무엇인가요? RFLP 를 어떻게 사용하여 유전적 질병을 조사할 수 있나요?
3. LDL 과 HDL 의 차이점을 설명해주세요. 콜레스테롤이 LDL 이나 HDL 에 존재하는 것은 건강에 어떤 영향을 미치나요?
4. 고콜레스테롤 수치를 피하는 것이 왜 중요한가요? 고콜레스테롤 수치가 높아지는 가능한 원인은 무엇인가요?
5. 스타틴(statin)이란 무엇인가요?

결과 및 분석

MODULE I: AGAROSE GEL ELECTROPHORESIS



The idealized schematic shows the relative positions of the bands, but the results are not depicted to scale.

Genetic Analysis of Patients' DNA Samples

Lane	Sample	Result
1	DNA standard markers (DNA mkr)	-----
2	Normal Control DNA sample (Neg)	Normal
3	FH control (Pos)	Heterozygous for FH mutation
4	Patient #1 DNA sample (DNA 1)	Normal
5	Patient #2 DNA sample (DNA 2)	Heterozygous for FH mutation
6	Patient #3 DNA sample (DNA 3)	Homozygous for FH mutation

MODULE II: CHOLESTEROL ASSAY OF PATIENTS' SERUM SAMPLES

The pipeting accuracy, enzyme lot, and the spectrophotometer will affect cholesterol determinations. Typical results are presented below. Your results may vary.

Cholesterol Standards	Patient Samples	Absorbance at 500 nm (y-axis)	Total Cholesterol in sample (x-axis) (µg)	Cholesterol Concentration (mg/100 mL)
0 µL		0.00	0	500
4 µL		0.280	20	500
8 µL		0.760	40	500
12 µL		0.980	60	500
16 µL		1.250	80	500
20 µL		1.500	100	500
	Serum 1 (20 µL)	0.570	35.2	176
	Serum 2 (20 µL)	1.10	70.0	350
	Serum 3 (20 µL)	1.60	103	515