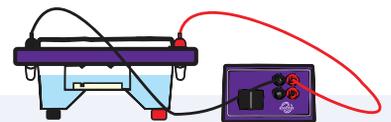

DNA 지문분석

DNA Fingerprinting Using PCR

ED371



☎ 02-929-1110 ✉ info@koreasci.com

🛒 www.koreasci.com

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

Experiment Components

Components	Storage	Check (✓)
A LyphoPrimer™ Mix	-20°C, desiccated	<input type="checkbox"/>
B EdvoQuick™ DNA Ladder	-20°C	<input type="checkbox"/>
C DNA Template #1	-20°C, desiccated	<input type="checkbox"/>
D DNA Template #2	-20°C, desiccated	<input type="checkbox"/>
E DNA Template #3	-20°C, desiccated	<input type="checkbox"/>
F DNA Template #4	-20°C, desiccated	<input type="checkbox"/>
G TE Buffer	-20°C	<input type="checkbox"/>
• PCR EdvoBeads™	Room Temp.	<input type="checkbox"/>

(Each PCR EdvoBead™ contains: dNTP Mixture, Taq DNA Polymerase Buffer, Taq DNA Polymerase, MgCl₂, and Reaction Buffer)

NOTE: Components A and C-F are now supplied in concentrated form.

Reagents & Supplies *(Included with this experiment)*

Store all components below at room temperature.

Component	Check (✓)
• UltraSpec-Agarose™	<input type="checkbox"/>
• Electrophoresis Buffer (50x)	<input type="checkbox"/>
• SYBR® Safe Stain	<input type="checkbox"/>
• FlashBlue™ Liquid Stain	<input type="checkbox"/>
• Microcentrifuge Tubes	<input type="checkbox"/>
• 0.2 mL PCR tubes	<input type="checkbox"/>

Requirements *(NOT included with this experiment)*

- Thermal cycler (EDVOTEK Cat. #541 highly recommended)
- Horizontal gel electrophoresis apparatus
- D.C. power supply
- Microcentrifuge
- UV Transilluminator or Blue Light visualization (EDVOTEK Cat. #558 or #557 highly recommended)
- White light visualization system (OPTIONAL - use if staining with FlashBlue™)
- UV safety goggles
- Automatic micropipettes (5-50 µL) with tips
- Microwave
- 250 mL flasks or beakers
- Hot gloves
- Disposable laboratory gloves

Experiment #371 contains enough reagents to amplify 25 DNA samples using the Polymerase Chain Reaction. This represents five complete sets of reactions.

All experiment components are intended for educational research only. They are not to be used for diagnostic or drug purposes, nor administered to or consumed by humans or animals.

LyphoTemplate™

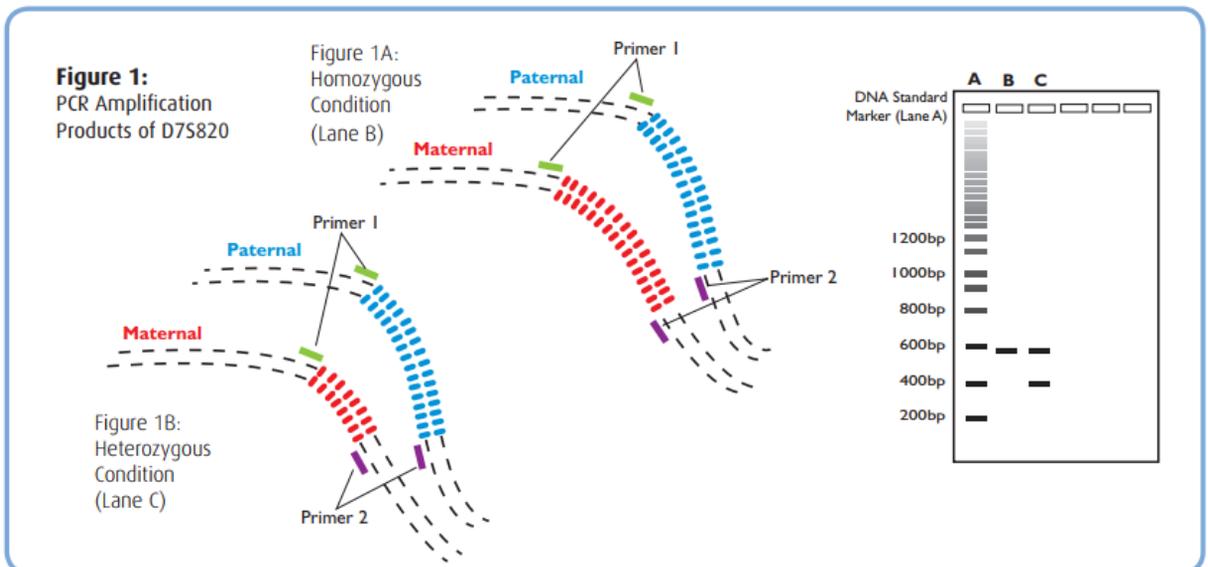
LyphoPrimer™

인간 게놈의 다양성과 DNA 지문 생성

모든 개인의 인간 게놈은 99.9 % 동일합니다. 그러나 우리 게놈에는 다형성이라는 변이 영역이 있습니다. 우리 각자는 부모로부터 독특한 다형성 조합을 물려받습니다. 여러 다형성 영역에 초점을 맞추면 각 개인의 "DNA 지문"을 알아낼 수 있습니다. 일반 지문과 마찬가지로 DNA 지문을 사용하여 개인을 식별하고 구분할 수 있습니다. 다형성이 유전되기 때문에 DNA 지문을 사용하여 가족 관계를 결정할 수도 있습니다. DNA 지문 분석(DNA fingerprinting)은 실종자와 유골을 식별하고, 친자 관계를 결정하고, 범죄 용의자와 범죄 현장을 일치시켜 범인을 찾는 데 사용됩니다.

DNA 지문은 법의학 분야에서 광범위하게 사용됩니다. 범죄 현장의 샘플 X가 사람 Y에서 나왔을 확률을 설정합니다. Alex Jeffreys 경은 1984년 영국 레스터 대학교에서 이 방법을 처음 개발했습니다. 1986년 Jeffreys의 분석으로 Richard Buckland가 살인 혐의로 무죄 판결을 받았습니다. 1987년에 Colin Pitchfork는 DNA 지문을 사용하여 체포되어 유죄 판결을 받은 최초의 범죄자였습니다. 그 이후로 DNA 분석은 수천명의 범죄자를 찾아 내었고, 또한 수백명의 유죄 판결을 받은 수감자들이 다시 무죄 판결을 받았습니다.

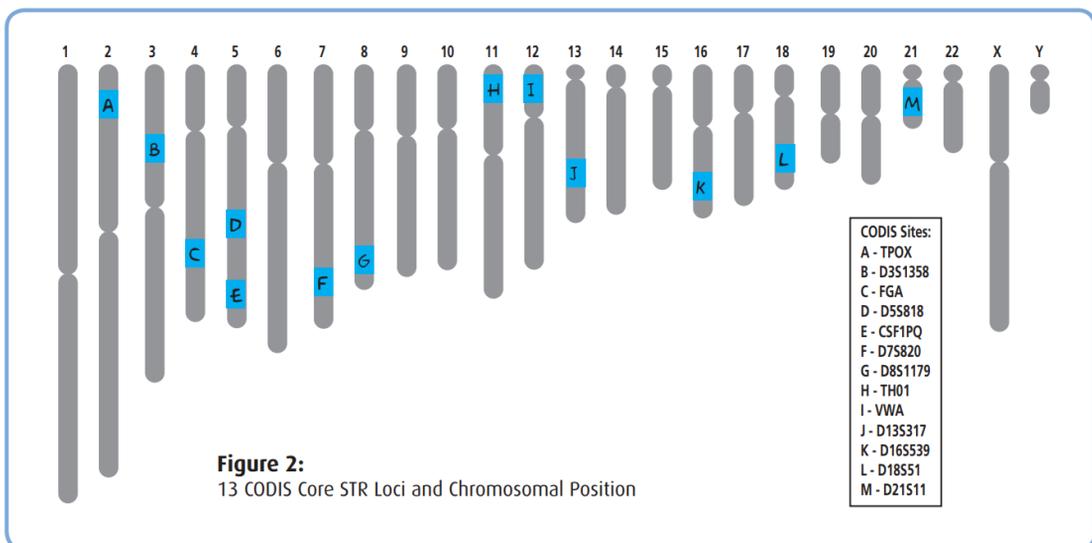
DNA 지문 분석(DNA fingerprinting)의 목표는 다른 사람의 DNA에 있는 작은 차이를 보여주는 방식으로 유전자 샘플을 분석하는 것입니다. DNA 지문 분석 초기에는 제한효소를 사용하여 DNA 단편 길이 다형성을 확인하면서 수행되었습니다. 제한효소는 특정 뉴클레오티드 서열에서 DNA를 인식하고 절단합니다. 제한효소를 샘플에 추가하면 이러한 서열의 부재 여부에 따라 길이가 다른 DNA 단편을 생성합니다. 이렇게 DNA를 유전자 절단 제한효소(restriction endonuclease)로 절단하였을 때, 절단된 유전자의 길이가 개인에 따라 다양하게 나타나는 현상을 RFLP (restriction fragment length polymorphism)라고 합니다.



Background Information

오늘날 DNA 지문은 소량의 DNA 샘플에서도 분석 할 수 있는 짧은 반복 영역을 기반으로 합니다. 개인은 염색체 DNA 내에서 코딩되지 않고 뉴클레오티드의 반복 단위를 포함하는 영역을 가지고 있습니다. 이들은 뉴클레오티드 반복이 15~70bp 길이인 경우 VNTR(Variable Number of Tandem Repeats), 뉴클레오티드 반복이 2~6 bp 길이인 경우 STR(Short Tandem Repeats)이라고 합니다. VNTR과 STR은 3번에서 100번까지 반복될 수 있습니다. 각 반복은 특정 크기의 대립 유전자를 형성합니다. STR의 예로는 7번 염색체에서 발견된 D7S820이 있는데, "GATA"의 반복이 5~16번 포함되어 있습니다. 인간은 이 유전자좌의 사본 두개를 가지고 있습니다. 하나는 생물학적 어머니와 하나는 생물학적 아버지로부터 받은 것입니다. 이것은 우리가 이 부위에 두 개의 대립 유전자가 있다는 것을 의미합니다. 두 대립 유전자가 동일하면 개체는 동형접합이고 대립 유전자가 다른 경우 개체는 D73820에서 이형접합입니다 (Figure 1). D73820은 길이가 다양할 수 있으므로 이 위치에서 발생할 수 있는 수백 가지 대립 유전자 조합이 있습니다.

STR 분석의 힘은 여러 STR 유전자좌를 동시에 보는 데서 비롯됩니다. 13개의 독립적인 유전자좌 (CSF1PO, FGA, TH01, TPOX, VWA, D3S1358, D5S818, D7S820, D8S1179, D13S317, D16S539, D18S51 및 D21S11)가 인간 식별 표준으로 설정되었습니다. 13개 유전자좌를 모두 분석할 때 무작위 일치 확률은 3조분의 1입니다. 1990년에 연방수사국(FBI)은 이 13개의 STR을 기반으로 CODIS (Combined DNA Index System)를 구축했습니다(Figure 2). CODIS는 범죄 현장 DNA와 유죄 판결을 받은 범죄자의 DNA 프로파일 및 법의학(범죄 현장) 인덱스를 비교할 수 있는 데이터베이스 시스템입니다. 세계에서 가장 큰 DNA 은행으로 미연방수사국에서 지원하고 있는 CODIS(Combined DNA Index System)은 연방정부, 주 정부, 지방단체에서 수집된 DNA 프로파일을 저장하여 범죄 용의자 식별에 사용하고 있습니다.



Background Information

범죄 현장 샘플에서 만드는 DNA 지문

법의학 DNA 지문 채취는 범죄 현장이나 피해자의 생물학적 증거(종종 얼룩으로 표시됨)의 법적 수집으로 시작됩니다. 샘플을 세제로 처리하여 세포막을 파열(용해)하고 추가 분석을 위해 세포 DNA를 추출합니다 (Figure 3). 샘플에서 DNA를 추출한 후 법의학 과학자는 DNA 지문을 만들 수 있습니다. 범죄 현장의 DNA 지문은 다른 용의자의 DNA 지문과 비교할 수 있습니다. DNA 지문의 일치하는 용의자가 현장에 있었다는 강력한 증거를 제공합니다.

오늘날의 법의학 실험실에서는 중합효소 연쇄반응(또는 PCR)을 사용하여 DNA 지문을 만듭니다. PCR 과정에서 DNA는 분열하는 세포에서 자신을 복제하는 것처럼 시험관 내에서 복제됩니다. 세포내에서는 많은 효소가 복제에 관여하지만 PCR은 하나의 효소를 사용하고 대신 온도를 변경하여 다른 단계를 시작합니다. PCR과 복제의 첫 번째 단계는 두 개의 상보적인 DNA 가닥이 서로 분리되는 것입니다. PCR에서는 샘플을 94°C로 가열하여 염기쌍 사이의 수소 결합을 끊습니다. 이 단계를 '변성(Denaturation)'이라고 합니다.

DNA 복제의 두 번째 단계에서 효소 Primase는 단일 가닥 DNA에 작은 RNA 프라이머를 배치하여 중합효소에 의한 복제를 위해 특정 계놈을 표적으로 합니다. 이를 시험관 내에서 복제하기 위해 과학자들은 계놈의 특정 부분을 표적으로 하는 짧은 합성 DNA 조각을 만듭니다. 이를 프라이머라 합니다. 프라이머는 표적 계놈의 상보적 DNA 가닥에 대해 고유한 염기서열을 가지고 있습니다(그림 1). 이 프라이머는 특정 계놈의 염기서열과 상보적으로 일치로 결합하여 DNA 중합 효소의 부착 부위 역할을 합니다. PCR에서는 샘플을 중간 온도 (일반적으로 40°C ~ 65°C)로 냉각하여 '결합(Annealing)'이라고 하는 과정에서 두 개의 프라이머를 표적 DNA에 결합할 수 있습니다.

복제 및 PCR의 세 번째 단계에서 중합효소라고 하는 효소는 주형 DNA 가닥(프라이머에서 시작)을 읽고 적절한 뉴클레오티드를 상보 가닥으로 조립하여 DNA 분자를 복제합니다. PCR에서는 중합효소가 새로운 상보적 가닥을 합성하기 위한 최적의 온도인 72°C로 온도를 올리면 됩니다. PCR과 복제의 중요한 차이점은 PCR에서 전체 계놈이 아닌 계놈의 작은 부분이 증폭된다는 것입니다(프라이머가 지정하는 대로). 이 과정을 '신장(Extension)'이라고 합니다.

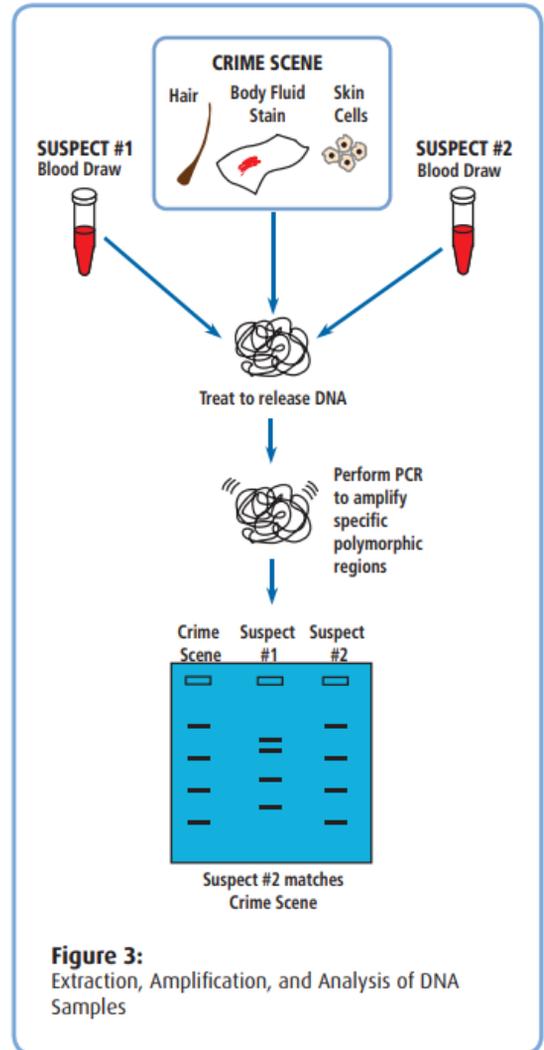
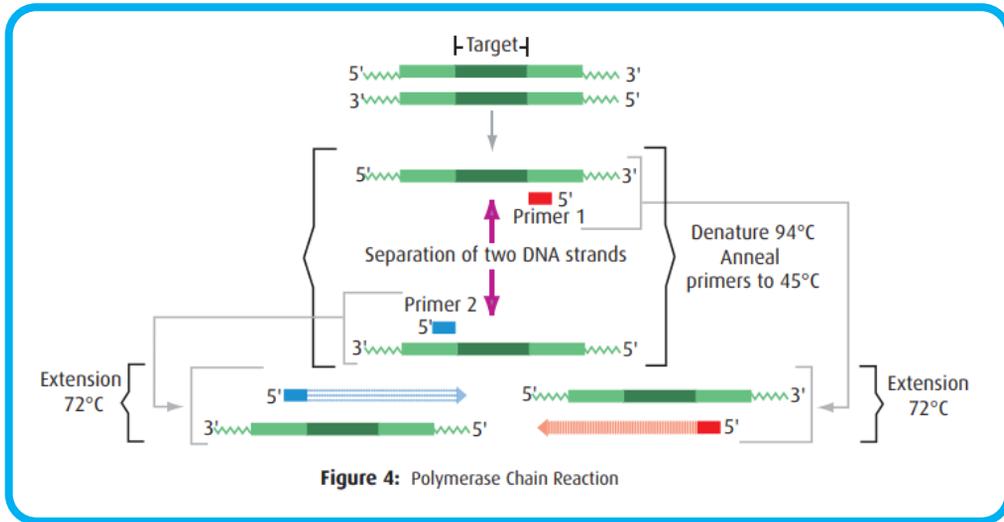


Figure 3: Extraction, Amplification, and Analysis of DNA Samples

Background Information

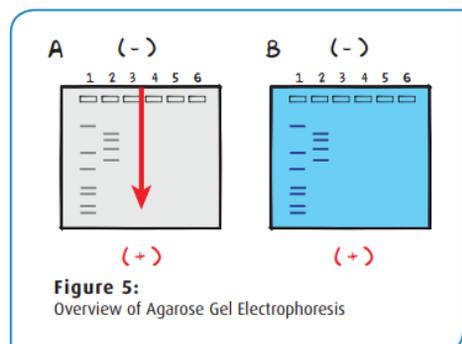
변성, 결합 및 신장의 세 단계는 PCR의 한 주기를 구성합니다. 각 주기는 표적 DNA의 양을 두 배로 늘려(그see Figure 4) 시료의 DNA 양을 기하급수적으로 증가시킵니다. 이 세 가지 별개의 온도 단계가 여러 번 반복됩니다. 이러한 주기를 20~40회 반복하면 표적 DNA의 양이 충분히 검사(분석)할 수 있을 정도로 증가합니다.



PCR은 테스트 튜브에서 발생하기 때문에 과학자들은 뉴클레오티드, 프라이머, 초기 DNA 템플릿 및 DNA 중합 효소의 핵심 성분을 제공해야 합니다. PCR이 성공하려면 PCR 샘플이 94°C로 올라갈 때마다 변성되지 않도록 이 중합 효소가 고온에서 안정적이어야 합니다. 이 문제를 해결하기 위해 열 안정성 DNA 중합 효소 "Taq"는 박테리아 *Thermus aquaticus*에서 분리되었습니다.

증폭 후, PCR 산물은 겔 전기영동을 사용하여 시각화하고 DNA의 크기를 확인하게 됩니다. 겔 전기영동에서 증폭된 생성물은 겔 내의 함몰부 (또는 "웰")에 넣은 다음 전류를 겔에 통과합니다. DNA의 당-인산 골격은 강한 음전하를 갖기 때문에 전류는 DNA를 겔을 통해 양극쪽으로 유도합니다. 분자 수준에서 젤은 DNA가 통과할 수 있는 작은 터널을 포함합니다.

작은 DNA 조각은 이 터널을 통해 쉽게 이동합니다. 하지만 큰 DNA 조각은 터널을 통과하는 데 더 많은 시간이 걸립니다. 크기가 다른 분자는 서로 다른 속도로 이동하기 때문에 분리되어 겔 내에서 별개의 "밴드"를 형성합니다. 전기영동을 마친 다음 밴드는 DNA에 달라 붙는 염료를 사용하여 시각화 할 수 있습니다 (Figure 5). 유전자좌의 길이는 밴드가 알려진 여러 길이로 구성된 DNA 사이즈 마커까지 이동 한 거리를 비교하여 계산됩니다.



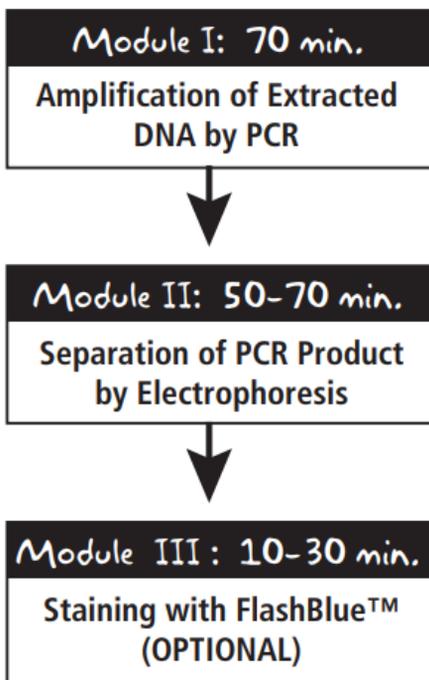
Experiment Overview

실험의 목적

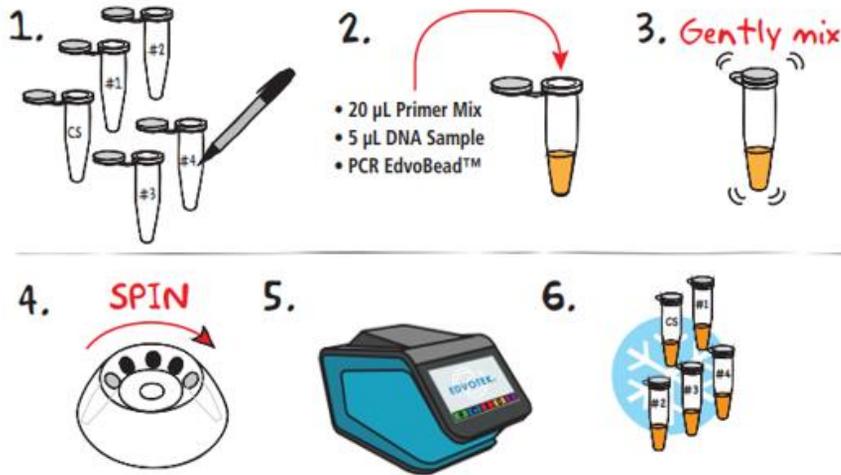
- ✓ 이 실험에서 학생들은 범죄현장의 모의 샘플과 4명의 용의자에 대해 DNA 지문 채취 연습을 수행합니다. DNA의 다형성 영역은 PCR을 사용하여 증폭됩니다. 학생들은 아가로스 겔 전기영동으로 증폭된 DNA 단편을 분석합니다.

실험실 안전

1. 장갑과 고글을 일상적으로 착용해야 합니다.
2. 시약의 가열 및 / 또는 용융과 함께 사용되는 장비로 작업 할 때는 각별히 주의하십시오.
3. 피펫 시약을 입에 넣지 마십시오. .
4. 실험실에서 시약이나 생물학적 물질을 취급한 후에는 항상 비누와 물로 손을 철저히 씻으십시오.



Module I: PCR Amplification of Crime Scene and Suspect DNA



- 5개의 0.2ml PCR 튜브에 각각 다음과 같이 표시합니다 : 범죄 현장(CS), 용의자1(#1), 용의자 2(#2), 용의자3(#3) 및 용의자4(#4).
- 각 0.2 mL PCR 튜브에 20µL 프라이머 믹스 노란색), 5µL DNA 샘플(빨간색) 및 1개의 PCR EdvoBead™을 추가합니다.
- 각 PCR 샘플을 혼합합니다. PCR EdvoBeads™가 완전히 용해되었는지 확인합니다. 참고 : PCR에서 혼합물의 색상을 보고 프라이머와 DNA가 모두 추가되었는지 다시 확인합니다. 튜브. 혼합물은 프라이머와 DNA가 함께 혼합 된 주황색이어야 합니다.
- 10초 동안 원심분리하여 튜브의 혼합물을 스피ندا운 시킵니다.
- PCR기를 사용하여 샘플 DNA를 증폭시킵니다.

PCR cycling conditions:

Initial denaturation 94°C for 3 minutes

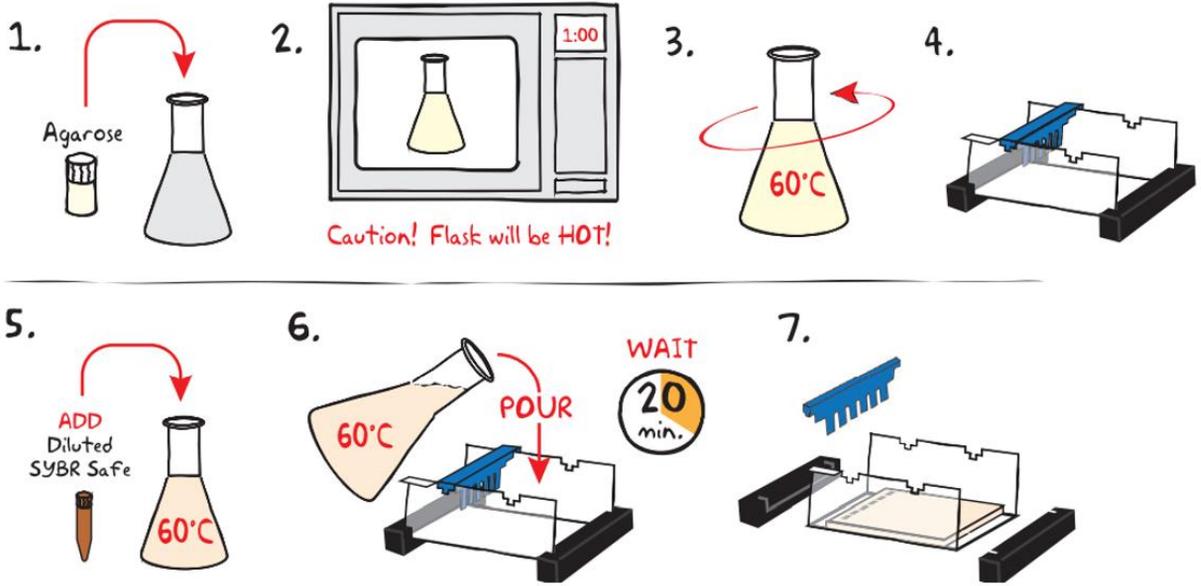
94° C for 30 seconds
55° C for 65 seconds
72° C for 30 seconds } 30 cycles

Final Extension 72° C for 4 minutes

- PCR을 마친 튜브는 얼음에 박아 둡니다.

※ 추출 된 DNA는 Module II 실험 시작까지 FREEZER(-20°C)에 보관할 수 있습니다.

Module II: Separation of PCR Products by Electrophoresis

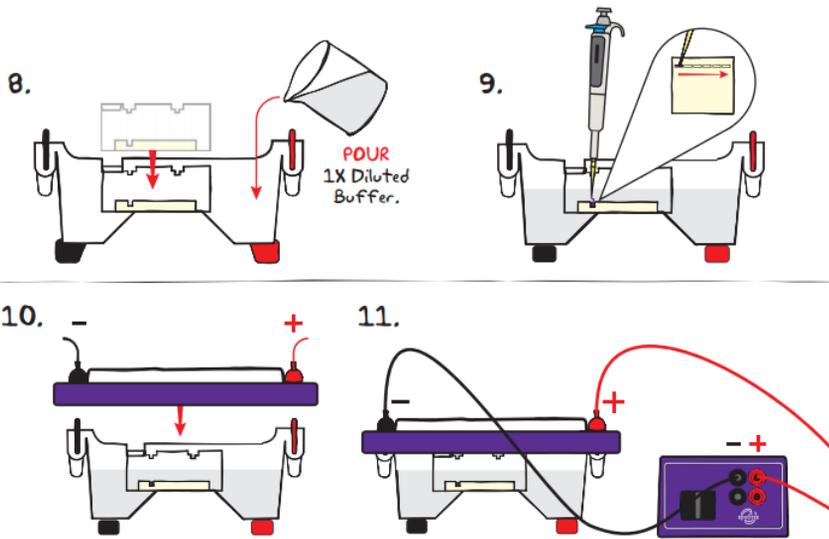


1. Table A를 참고하여 아가로스 분말과 1X TBE 버퍼를 250mL 삼각플라스크에 혼합합니다

Table A Individual 1.0% UltraSpec-Agarose™ Gel with SYBR® Safe Stain					
Size of Gel Casting tray	Concentrated Buffer (50x)	Distilled Water	Amt of Agarose	TOTAL Volume	Add 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

- 혼합액이 든 삼각플라스크를 전자레인지에서 1분 동안 가열합니다. 삼각플라스크를 꺼내 조심스럽게 휘저어 혼합합니다. 아가로스가 **완전히 용해되어 투명해질 때까지 20초 동안** 삼각플라스크를 가열하고 꺼내 휘젓는 과정을 반복합니다. **※ 가열된 삼각플라스크는 매우 뜨거우므로 반드시 내열장갑을 착용하고 실험을 진행합니다.**
- 플라스크를 조심스럽게 휘저어 아가로스를 60°C까지 식힙니다.
- 아가로스가 냉각되는 동안 젤트레이를 조립합니다.
- Table A를 참고하여 삼각플라스크에 희석시킨 SYBR® Safe를 첨가합니다.
- 젤 트레이를 평평하고 진동이 없는 책상에 놓고 젤 트레이에 아가로스젤을 부은 다음 20분이 상 충분히 굳힙니다.
- 아가로스 젤이 완전히 굳으면 젤 트레이에서 콤과 고무캡을 제거합니다.

Module II: Separation of PCR Products by Electrophoresis



Reminder:
Before loading the samples, make sure the gel is properly oriented in the apparatus chamber.


Wear gloves and safety goggles

8. 젤 트레이를 전기영동기 챔버에 넣고 1X TBE 버퍼를 아가로스 젤이 잠기도록 Table B를 참고하여 부어줍니다.

9. Table 1을 가이드로 사용하여 25 μ L의 샘플을 순서로 웰에 로드합니다.

Lane	Sample
1	200 bp Ladder
2	Crime scene PCR
3	Suspect #1 PCR
4	Suspect #2 PCR
5	Suspect #3 PCR
6	Suspect #4 PCR

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

10. 전극을 잘 맞추어 전기영동기 뚜껑을 덮어줍니다.

11. 전원을 연결하고 Table C를 참고하여 전기영동을 실시합니다.

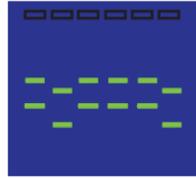
Volts	Recommended Time	
	Minimum	Maximum
150	15 min.	20 min.
125	20 min.	35 min.
70	35 min.	1 hour

Module II: Separation of PCR Products by Electrophoresis

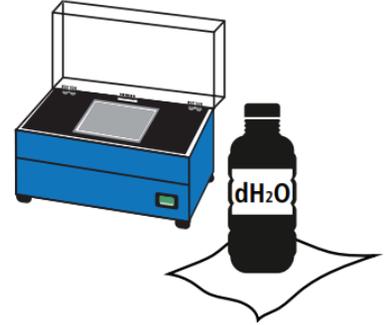
13.



14.



15.

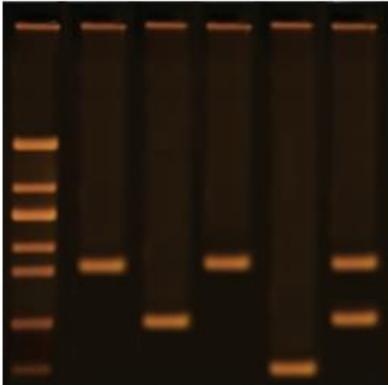


13. 전기영동을 마친 아가로스 젤을 UV 또는 TruBlu2 Blue 트랜스 일루미네이터에 올려놓습니다.

14. 트랜스일루미네이터의 전원을 켜고 DNA 밴드를 확인합니다.

※ UV 트랜스일루미네이터를 사용할 경우 반드시 보안경을 착용하고 젤을 관찰해야 합니다.

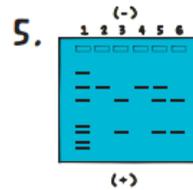
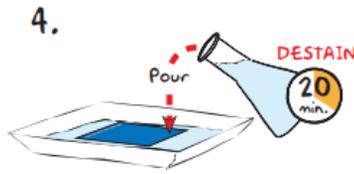
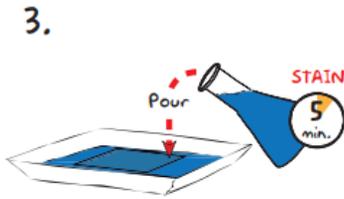
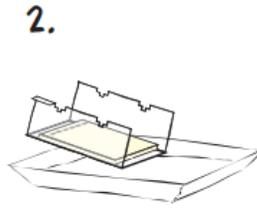
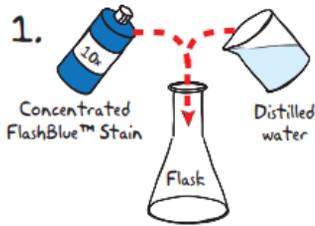
<전기영동 결과 샘플>



Lane	Sample	Sizes
1	EdvoQuick™ DNA Ladder	2640, 1400, 1100, 700, 600, 400, 200
2	Crime Scene DNA	625
3	Suspect #1 DNA	400
4	Suspect #2 DNA	625
5	Suspect #3 DNA	200
6	Suspect #4 DNA	625, 400

15. 관찰을 마치면 트랜스일루미네이터에서 젤을 제거하고 증류수로 닦아냅니다.

Module III: Staining with FlashBlue™ (OPTIONAL)



1. 플라스크에 증류수 90mL와 10배 농축 FlashBlue™ 10mL를 희석합니다.
2. 전기영동 챔버에서 아가로스 젤과 캐스팅 트레이를 제거합니다. 젤트레이에서 젤을 염색용 트레이에 밀어 넣습니다.
3. 1x FlashBlue™ 염색 용액을 젤이 잠길 정도로 부어줍니다. 5분 동안 젤을 얼룩지게 합니다. 최상의 결과를 얻으려면 오비탈 셰이커를 사용하여 염색하는 동안 젤을 부드럽게 교반합니다. 5분 이상 젤을 스테이닝하면 디스테이닝에 추가 시간이 필요합니다.
4. 젤을 두 번째 디스테이닝 트레이로 옮깁니다. 젤이 잠길 정도로 증류수를 넣어줍니다. 부드럽게 좌우로 흔들어가며 최소 20 분 동안 탈색합니다. (탈색 시간이 길수록 더 좋은 결과를 얻을 수 있음).
5. 젤을 조심스럽게 꺼내 백색광 조명(화이트 LED 일루미네이터)나 TruBlu2 Blue 트랜스 일루미네이터를 사용하여 결과를 관찰합니다. DNA는 연한 파란색 배경에 진한 파란색 띠로 나타납니다.

대체 프로토콜

1. 증류수 149mL와 10배 농축 FlashBlue™ 1mL를 섞어 희석합니다.
2. 희석 된 FlashBlue™ 염색용액을 젤이 잠길 정도로 부어줍니다.
3. 염색용액에 젤을 3시간 이상 담가 둡니다. 최상의 결과를 얻으려면 젤을 밤새 염색하십시오.

DNA 지문분석

DNA Fingerprinting Using PCR

교사용
가이드북

Pre-Lab Preparations: Module I

- ✓ 이 키트에는 새로운 EDVOTEK® LyphoPrimer™ 및 LyphoTemplate™이 포함되어 있습니다. 시약은 색상으로 구분되어있어 올바르게 시행된 PCR 반응은 주황색으로 나타납니다.
- ✓ 4 가지 다른 DNA 샘플이 제공됩니다. 범죠헌장 샘플을 나타내는 하나의 샘플을 선택하십시오. (지정된 CS 샘플은 그룹마다 다를 수 있습니다.) 용의자의 DNA 중 하나가 각 그룹의 범죠헌장 샘플과 중복되는지 확인하십시오. 또는 학생들은 범죠헌장과 용의자의 DNA를 지정하는 자신만의 범죠헌장 시나리오를 설계할 수 있습니다.
- ✓ 이 시나리오에서는 용의자(#2)의 DNA 샘플이 범죠헌장 샘플로 중복됩니다 (20 페이지 참조).

▶ DNA 템플릿의 준비

1. 각 LyphoTemplate™ (C-F)에 75µL TE 버퍼(G)를 추가하고 혼합하여 용해시킵니다.
2. 다음과 같이 25개의 1.5 mL 튜브에 라벨을 붙입니다.
 - 5개-범죠헌장(CS)
 - 5개-용의자1(#1)
 - 5개-용의자2(#2)
 - 5개-용의자3(#3)
 - 5개-용의자4(#4)
3. 7µL의 DNA 템플릿을 적절하게 표지된 튜브에 분배합니다.

※ 용의자 샘플 중 하나를 범죠헌장 샘플로 사용하는 것을 잊지 마십시오.

▶ 프라이머(Primer) 준비

1. LyphoPrimer™ Mix(A)의 튜브에 TE버퍼(G) 1mL를 추가한다음 잘 섞어줍니다. 튜브안의 용액은 밝은 노란색이어야하며 고체 조각이 남아 있지 않아야 합니다.
2. 희석된 Primer Mix 120µL을 5개의라벨이 붙은 1.5ml 튜브에 각각 넣습니다.
3. 희석 된 Primer Mix 튜브를 각 학생 그룹에 배포합니다.

▶ 모듈 I의 경우 각 그룹은 다음을 받아야합니다.

- 5 개의 PCR 튜브
- 5 PCR EdvoBeads™
- 7µL 범죠헌장 DNA
- 7µL 용의자 #1 DNA
- 7µL 용의자 #2 DNA
- 7µL 용의자 #3 DNA
- 7µL 용의자 #4 DNA
- 120µL 희석 프라이머

Pre-Lab Preparations: Module II

▶ SYBR® Safe 준비

1. SYBR® Safe의 튜브에 250 μ L의 1X TBE 버퍼를 추가하고 튜브를 여러 번 두드려 혼합하여 희석 된 SYBR® Safe를 준비합니다.
2. 희석 된 SYBR® Safe는 아가 로스 젤 준비 중에 사용됩니다.

▶ 전기영동 버퍼 준비

이 실험을 위해 TBE 전기영동 버퍼를 대량으로 준비하여 클래스별로 공유하는 것이 좋습니다. 사용하지 않은 희석 된 버퍼는 나중에 사용할 수 있습니다.

1. 3.7L의 증류수 또는 탈이온수를 큰 용기에 넣습니다.
2. TBE 전기 영동 완충 분말 전량을 용기에 넣고 잘 섞습니다.
3. 용기에 "1X 전기 영동 버퍼 (TBE)"라는 레이블을 붙입니다.
4. 준비 된 버퍼는 60 일 이내에 사용하십시오.

▶ 아가 로스 젤의 제조

이 실험에는 1.0 % 아가로즈 젤 하나가 필요합니다. 7x7cm 젤을 권장합니다. 젤을 미리 준비할지 아니면 학생들이 직접 준비하도록 할지 선택할 수 있습니다. 이 절차에는 30-40 분 정도 소요됩니다.

1. 각 7x7cm 젤에는 1X TBE 완충액 25mL, 아가로즈 분말 0.25g, 희석된 SYBR® Safe Stain 25 μ L가 필요합니다.
2. 젤은 미리 준비하여 나중에 사용하기 위해 보관할 수 있습니다. 고형화된 젤은 건조를 방지하기 위해 소량의 완충액이 있는 방수백에 냉장고에 최대 1주일 동안 보관할 수 있습니다. 방수백에 2mL의 버퍼를 추가하는 것이 좋습니다. 과도한 완충액은 SYBR® Safe가 젤 밖으로 확산될 수 있습니다.
3. -20°C에서 젤을 보관하지 마십시오. 얼면 파손될 수 있습니다.
4. 보관을 위해 트레이에서 제거 된 젤은 트레이에 넣기 전에 녹은 아가로즈 몇 방울과 함께 트레이에 다시 "고정"되어야 합니다. 이렇게하면 젤이 트레이와 챔버에서 미끄러지는 것을 방지할 수 있습니다.

▶ DNA ladder(Size Maker) 준비

1. 100bp ladder(G)를 30 μ L씩 microcentrifuge 튜브에 분주하고 "100bp ladder"라 레이블을 붙입니다.
2. 아가로즈 젤 1개당 분주한 100bp ladder를 분배합니다.
3. 각 1.0 %젤에는 100bp ladder와 모든 샘플이 로드되어야 합니다.

Pre-Lab Preparations: Module III

FlashBlue™ 염색은 염색 및 탈색 단계 모두에 필요한 시간을 단축하도록 최적화되어 있습니다. 아가로즈 젤은 희석된 FlashBlue™로 5분 동안 염색하고 단 20분 동안 탈색 할 수 있습니다. 최상의 결과를 얻으려면 젤을 액체에 밤새 두십시오. 이렇게하면 얼룩진 젤이 얼룩 제거 용액에서 "평형화"되어 균일한 밝은 파란색 배경과 대조되는 진한 파란색 DNA 밴드가 생성됩니다. FlashBlue™로 염색된 젤을 시각화하여 관찰하려면 흰색 조명(화이트 LED 일루미네이터)나 TruBlu2 Blue 트랜스 일루미네이터를 사용하는 것이 좋습니다. .

- ✓ 염색된 젤은 시간이 지남에 따라 밴드가 사라질 수 있지만 냉각 상태에서 몇 주 동안 얼룩진 액체에 보관할 수 있습니다.
- ✓ 염색된 젤은 고형 폐기물 처리시 폐기 할 수 있습니다. 염색 제거 용액은 배수구로 폐기 할 수 있습니다.

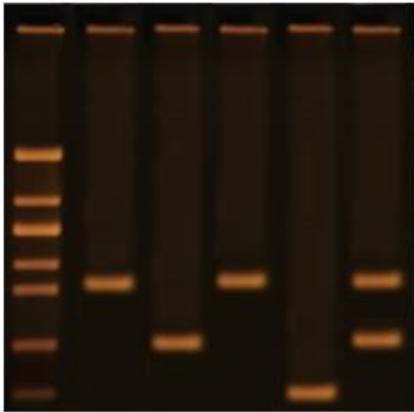


White LED 트랜스 일루미네이터



TruBlu2 Blue 트랜스 일루미네이터

Experiment Results and Analysis



Lane	Sample	Sizes
1	EdvoQuick™ DNA Ladder	2640, 1400, 1100, 700, 600, 400, 200
2	Crime Scene DNA	625
3	Suspect #1 DNA	400
4	Suspect #2 DNA	625
5	Suspect #3 DNA	200
6	Suspect #4 DNA	625, 400

▶ 젤분석

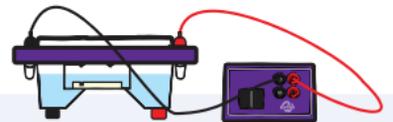
- ✓ 위는 범죄현장 DNA와 일치시키기 위해 용의자(#2)의 DNA를 범죄현장 DNA로 중복 사용한 예시 결과입니다. 범죄 현장 DNA에 대한 결과는 선택된 용의자에 따라 다릅니다.
- ✓ 범죄 수사에서 DNA의 여러 알려진 가변영역이 범죄현장과 의심되는 DNA와 일치하도록 분석됩니다. 이 연습에서는 이러한 가변영역 중 하나를 분석합니다. 범죄 현장 DNA와 용의자가 일치하는 것은 용의자가 현장에 있었다는 강력한 증거를 제공합니다. 분석 결과 2번 레인의 범죄 현장 DNA와 4번 레인의 용의자(#2)가 일치했습니다. 이것은 용의자(#2)가 현장에 있었다는 강력한 증거이지만 이 용의자가 범죄를 저질렀다는 것을 증명하지는 않습니다..
- ✓ 1번 레인의 EdvoQuick™ DNA Ladder를 사용하면 레인 2-6에서 PCR 반응에 의해 생성된 DNA의 사이즈를 측정할 수 있습니다.

Includes EDVOTEK's All-NEW EdvoQuick™ DNA Ladder

- Better separation
- Easier band measurements
- No unused bands

EdvoQuick™ DNA ladder sizes:
2640, 1400, 1100, 700, 600, 400, 200





☎ 02-929-1110 ✉ info@koreasci.com

🛒 www.koreasci.com

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