

실험 가이드북



검상 적혈구 돌연변이 실험

#EDS-53

THE MYSTERY OF THE CROOKED CELL

실험 목표

이 실험에서 학생들은 전기영동으로 적혈구빈혈을 유발하는 낫모양의 돌연변이 유전자를 찾아냅니다. DNA 샘플들은 Mst II 제한효소로 절단되었으며, 이 효소는 정상 헤모글로빈을 작은 조각으로 잘라내지만 겸상적혈구 내의 돌연변이 형태 유전자는 자르지 못합니다.

제품 구성품

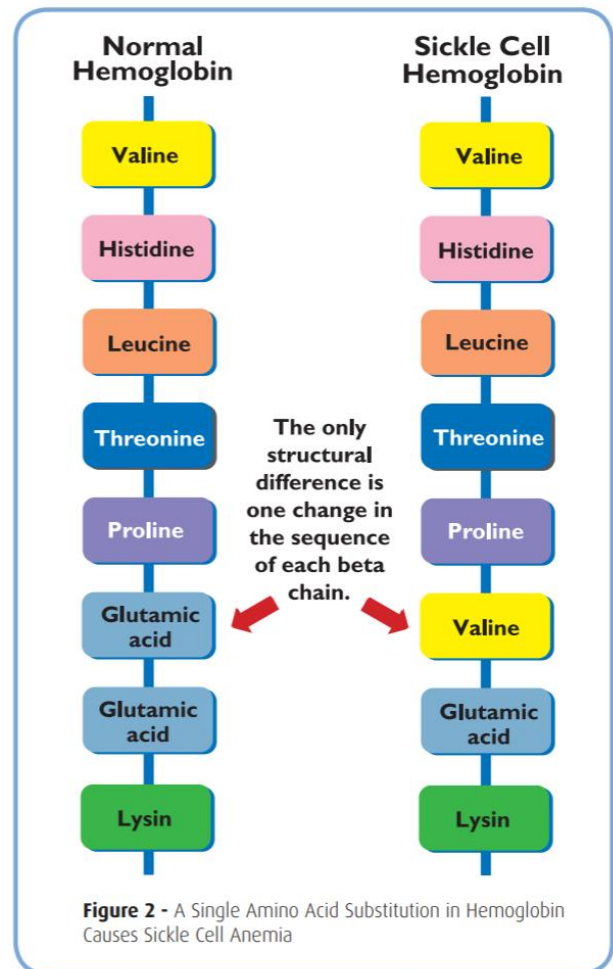
- A Normal Hemoglobin control (정상)
- B Sickle Hemoglobin control (겸상적혈구)
- C Carrier Hemoglobin control (보균자)
- D Patient #1 Hemoglobin (환자#1)
- E Patient #2 Hemoglobin (환자#2)

UltraSpec-Agarose

Electrophoresis buffer (50x)

Practice Gel Loading Solution

Transfer pipet

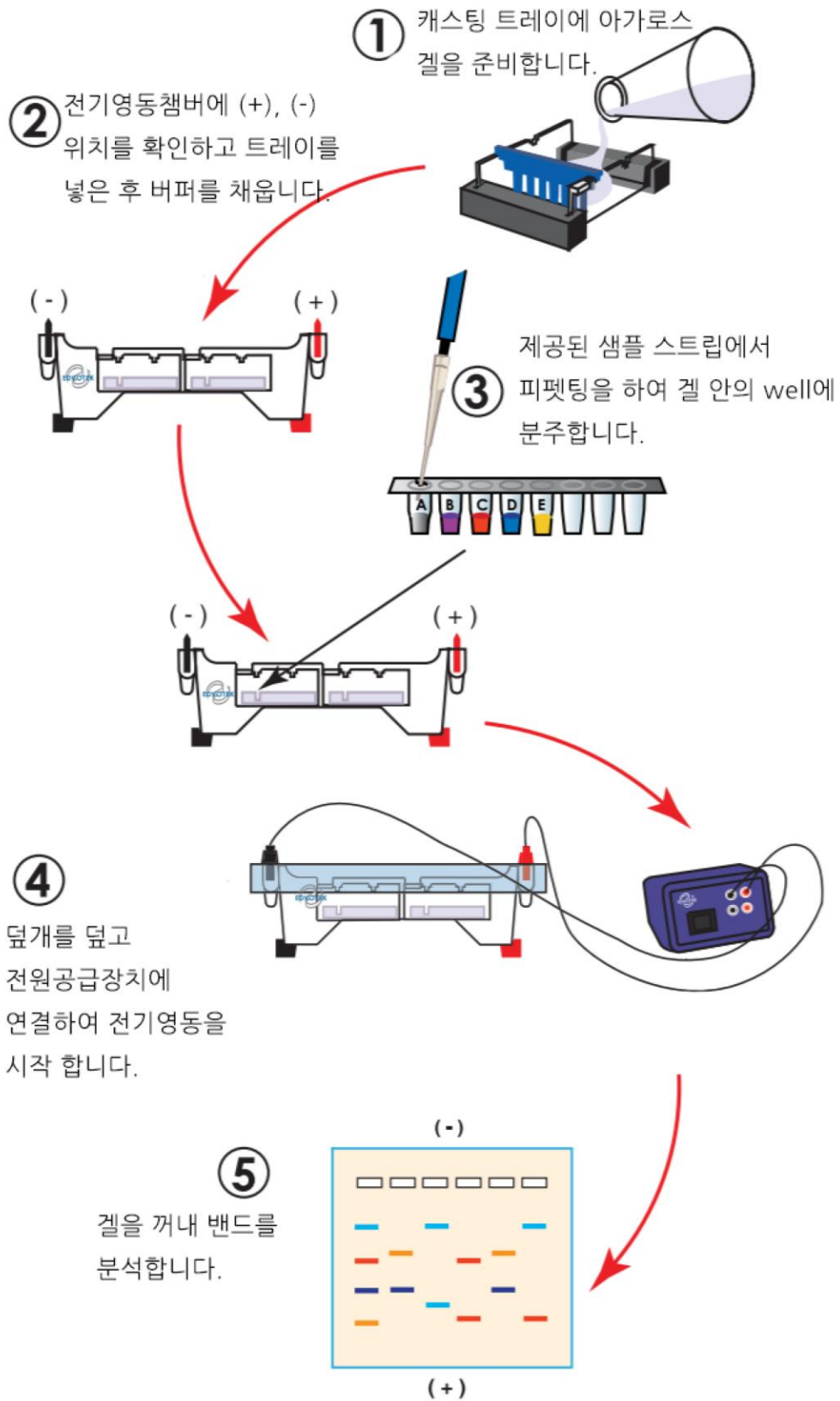


필요 장비 및 준비물

전기영동 장치, 전원공급장치, 피펫과 피펫팁, 전자저울, 전자레인지(핫플레이트), 250mL삼각플라스틱, 안전장갑, 증류수

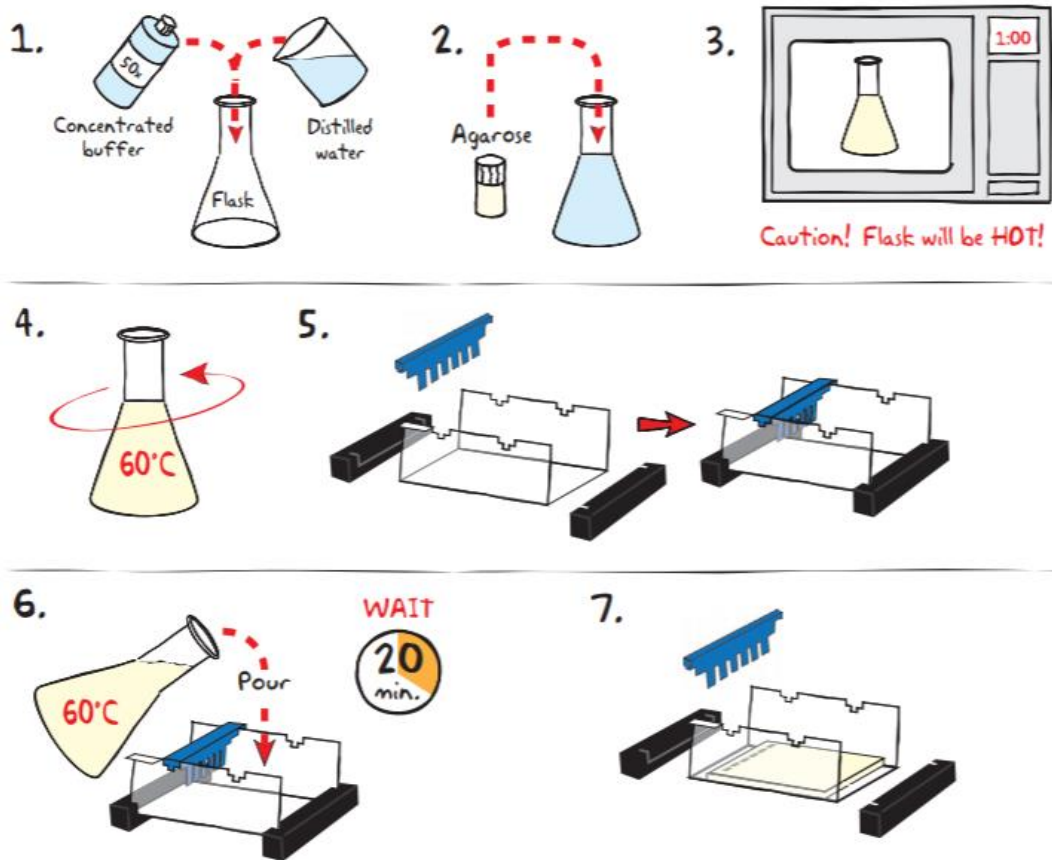
★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

전체 실험 개요



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

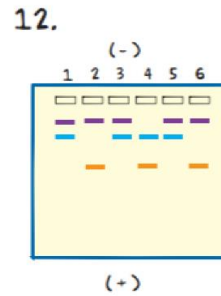
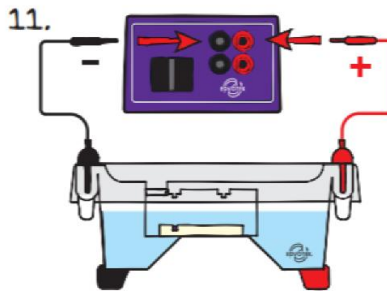
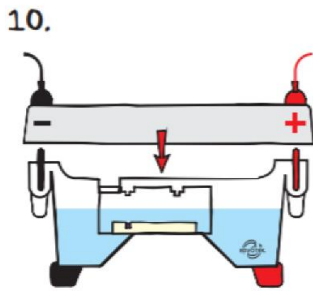
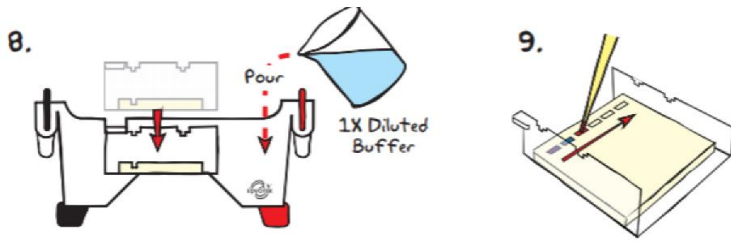
아가로스 겔 전기영동



1. Concentrated buffer(50X)를 1X버퍼로 만들기 위해 Table A 표를 참고하여 희석합니다.
2. 250ml 플라스크에 1X 버퍼를 넣고 agarose powder를 섞습니다. (Table A참조)
3. 플라스크를 전자레인지에 1분간 넣고 돌립니다. 플라스크를 돌려가며 아가로스 분말이 충분히 녹아 안보일 때까지 15초 간격으로 전자레인지에 돌려 완전히 용해시킵니다.
4. 완전히 용해된 후 60°C까지 식혀줍니다.
5. 용액이 식는 동안 겔 캐스팅 트레이에 고무 마개와 comb을 결합합니다. Comb 결합 방향을 트레이에 표시된 노치 쪽으로 잘 맞춰 끼워 샘플로딩 well의 위치가 (-)극에 위치하게 합니다.
6. 어느 정도 용액이 식으면 트레이에 붓고 20분 이상 놔둬 굳게 합니다.
7. 완전히 굳은 후 고무 마개와 comb을 제거합니다. 이 때 조심하여 겔에 손상이 가지 않게 합니다.

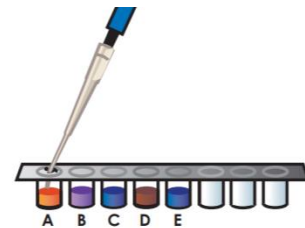
Table A Individual 0.8% UltraSpec-Agarose™ Gel				
Size of Gel Casting tray	Concentrated Buffer (50x)	+ Distilled Water	+ Amt of Agarose	= TOTAL Volume
7 x 7 cm	0.6 ml	29.4 ml	0.23 g	30 ml
7 x 10 cm	1.0 ml	49.0 ml	0.39 g	50 ml
7 x 14 cm	1.2 ml	58.8 ml	0.46 g	60 ml

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



8. 전기영동 챔버에 겔과 트레이를 위치시키고 준비된 용량만큼의 버퍼(Table B. 참조)를 붓습니다. 겔이 충분히 잠겨야 합니다.
9. 스트립에 있는 각 샘플을 겔의 well안에 분주합니다. 대략 용량은 35~38 μ L 입니다.
10. 전기영동장치의 덮개를 덮습니다. 전극의 방향(+, -)이 알맞게 연결되었는지 확인합니다.
11. 전원공급장치에 연결하여 전기영동을 시작합니다. (Table C. 의 공급전압과 구동 시간 참조)
12. 모두 마치고 나면 겔과 트레이를 빼내 결과를 관찰합니다.

Lane	Tube	Sample
1	Tube A	Normal Hemoglobin control
2	Tube B	Sickle Hemoglobin control
3	Tube C	Carrier Hemoglobin control
4	Tube D	Patient #1 Hemoglobin
5	Tube E	Patient #2 Hemoglobin

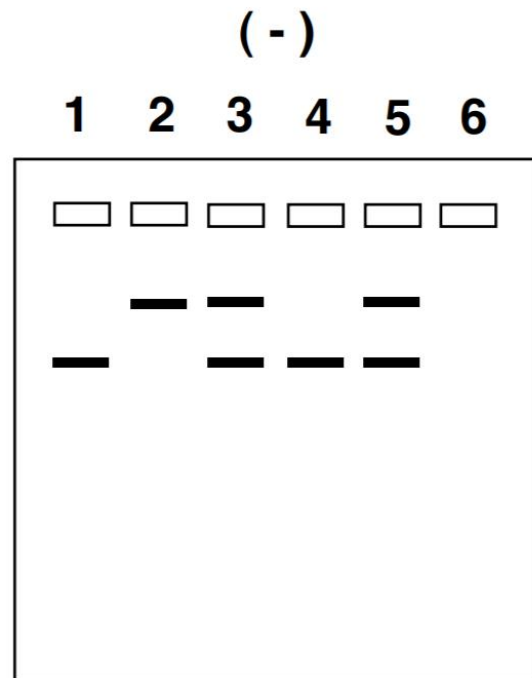
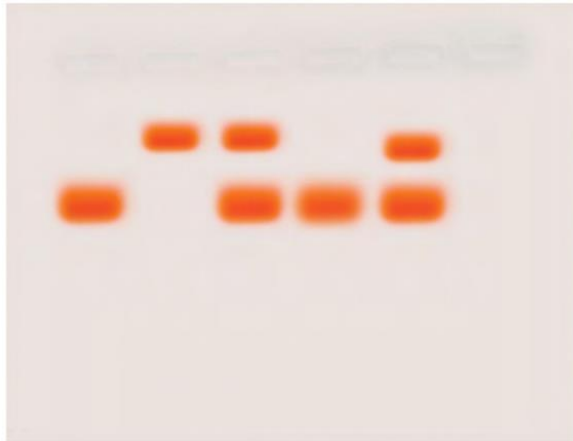


EDVOTEK Model #	Total Volume Required	Dilution	
		50x Conc. Buffer	+ Distilled Water
M6+ & M12 (new)	300 ml	6 ml	294 ml
M12 (classic)	400 ml	8 ml	392 ml
M36	1000 ml	20 ml	980 ml

Volts	Electrophoresis Model		
	M6+	M12 (new)	M12 (classic) & M36
	Min. / Max.	Min. / Max.	Min. / Max.
150	15/20 min.	20/30 min.	25 / 35 min.
125	20/30 min.	30/35 min.	35 / 45 min.
75	35 / 45 min.	55/70 min.	60 / 90 min.

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

실험 결과와 분석



(+)

밴드	튜브	샘플	결과
1	A	정상 헤모글로빈 대조군	저분자량 밴드 1 개 - 효소는 β 글로빈 유전자 두 개 모두를 자릅니다.
2	B	겸형 헤모글로빈 대조군	고분자량 밴드 1 개 - 효소는 β 글로빈 유전자를 자르지 않습니다
3	C	보균자 헤모글로빈 대조군	저분자량 밴드 1 개, 고분자량 밴드 1 개 - 효소는 β글로빈 유전자 한 개를 자릅니다
4	D	환자 #1 의 헤모글로빈	저분자량 밴드 1 개 - 효소는 β글로빈 유전자 모두를 잘랐기에 겸형적혈구 유전자를 가지고 있지 않습니다.
5	E	환자 #2 의 헤모글로빈	고분자량 1 개, 저분자량 1 개의 밴드 - 효소는 β글로빈 유전자 1 개만 자르기에 보균자입니다.