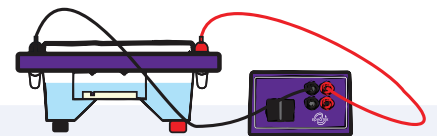

내 아버지는 누구?

In Search of My Father

EDS-49



내 아버지는 누구? 실험키트

[실험 목적]

- DNA조각을 나타내는 염료분자를 크기별로 분리하는 아가로스 전기영동에 대해 학습한다.
- 어떻게 이 조각들이 각자의 독특한 DNA 패턴을 형성하는지 학습한다.
- 이 패턴을 토대로 부모를 감별한다.

[제품 구성]

이 실험키트는 10개 조가 함께 실험하도록 구성되어 있습니다.

- Ready-to-Load QuickStrip™ Dye Samples
 - A DNA Size 마커
 - B 어머니 1 DNA
 - C 어머니 2 DNA
 - D 소년 1 DNA
 - E 소년 2 DNA
 - F 아버지 (생존, 어머니 1과 결혼)
- Electrophoresis Buffer (50X)
- UltraSpec-Agarose™
- Practice Gel Loading Solution
- 일회용 스포이드 (1ml)
- 일회용 슬포이드 (3ml)

[기타 실험에 필요한 장비 - 별도 구매]

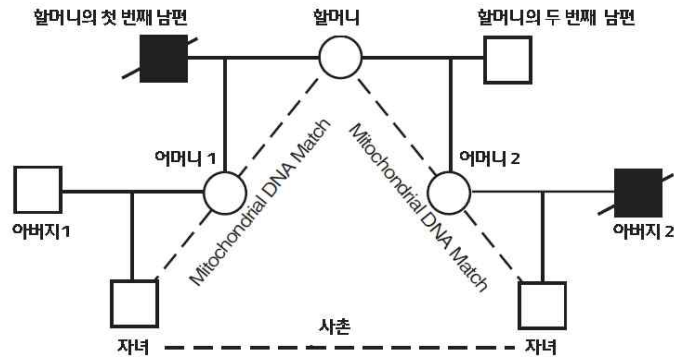
- DNA 전기영동 장치
- D.C 전원 공급장치
- 마이크로 파이펫, 팁
- 저울, 전자레인지 혹은 핫플레이트, 백색광 조명
- 250ml 플라스크 혹은 비커
- 증류수
- 장갑

※ 주의

모든 제품 구성품은 교육적 연구를 목적으로 개발되었으며 인간 또는 동물의 진료용으로 사용될 수 없습니다.

[배경지식]

가족관계 판단을 위해 DNA 지문을 사용하기



전쟁으로 분열된 나라에서 두 어린 소년이 군사정권에 의해 감금된 각자의 부모로부터 떨어졌다. 그 아이들은 두 달 간격으로 태어난 사촌이었으며 눈에 띄게 닮았다. 그들의 어머니는 같은 어머니를 둔 이부자매였다. 수십 년 후 정권은 무너졌고 새로운 정부가 대체되어 감옥에서 정치적 죄수들이 석방되었다. 그들은 각자의 생활로 돌아갔으며 모든 혐의가 취하되었다.

이 시기동안 두 소년은 서로에게서 떨어지지 않았고 자녀가 없는 고위 간부에 의해 입양되었다. 그 부부는 해방운동이 일어날 때 죽어 잠시동안 두 소년은 고아원에서 지내야 했다. 그들이 열여덟 살이 되던 해에 고아원에서 나가게 되었고 그들의 친부모에 관한 정보를 찾기 시작했다.

형제는 마을에서 수많은 사람들을 만났다. 사람들은 자신들의 부모가 감옥에서 풀려났다는 것을 알려주었으며 한 명의 아버지가 체제가 무너진 것에 불만을 품은 이로부터 살해를 당하였다는 것도 말해 주었다. 다른 아버지는 기억상실증이다. 친모라 생각되는 두 여인은 약 200명의 여성이 있는 재활원에 있다.

부모는 적절한 의료지원을 받지 못했다. 나이와 외모를 기준으로 10명의 여자가 어머니의 정보와 일치하였다.

소년들은 서로 사촌이었고 그들의 어머니 또한 같은 어머니를 둔 자매였기에 첫 감별법은 미토콘드리아 DNA 지문이 실행되었다. 미토콘드리아 정보는 여성(어머니)으로 부터만 유전된다. 미토콘드리아 검사가 두 소년에게 이상적일 것이다. 또한 이 테스트는 크로모솨 DNA 검사 보다 경제적이며 결과 또한 짧은 시간에 나온다. 결과는 두 여인이 같은 미토콘드리아 DNA 지문 패턴을 가졌다는 것을 보여 주었고 또한 두 소년 것과 일치하였다.

소년들, 어머니들, 아버지를 정확하게 맞추기 위해 모두에게 크로모솨(Chromosomal) DNA

지문 실험을 실행하였다. 한 소년의 DNA 지문이 생존한 아버지와 어머니 한 분의 것과 맞았다. 아이의 DNA 지문은 두 부모로부터 받은 것(젤에서 보이는 DNA 띠)이다. 패턴은 쉽게 인지가 되며 모의실험에서 설명이 가능하다.

크로모솜 DNA는 모든 살아있는 세포의 핵에 존재하며 세포에 의해 합성되는 단백질을 위한 청사진처럼 쓰이는 유전물질이다. 그러나 포유류에서 모든 DNA의 염기서열이 단백질을 인코딩하지 않으며 명확한 기능을 제공하지 않는다. 다형성(Polymorphic) DNA는 개인에서 개인으로 넓게 달라지는 크로모솜 구역으로 되어있다. 개인에게서 획득한 게놈의 DNA 내의 수많은 이 부분을 실험함으로써 그 개인을 위한 DNA 지문을 만들 수 있을 것이다. DNA 다형성은 친자 확인에 매우 넓게 사용된다.

유전자 검사에 있어 일반적인 DNA검사가 힘들 경우 미토콘드리아 DNA를 검사하게 된다. 미토콘드리아 DNA는 죽은 세포나 아주 미량의 시료에서도 추출이 가능하여 일반 DNA검사가 불가능한 부분에 많이 활용되고 있다. 또한 부모에게서 반반씩 물려받는 핵 DNA와는 달리 미토콘드리아 DNA는 어머니에게서만 물려받는다. 사람은 정자와 난자가 만나 융합된 하나의 수정란으로부터 출발한다. 그런데 수정시 정자는 핵만 난자와의 융합에 참여하고, 세포질은 전혀 수정란 속으로 들어가지 못한다. 즉, 수정란의 세포질은 100% 난자로부터 유래한 것이기 때문에, 이 속에 존재하는 미토콘드리아 역시 100% 본래 난자의 세포질에 있던 것이다. 그러므로 미토콘드리아 DNA는 철저히 모계유전의 방식으로 다음 세대로 전달되는 것이다.

모계의 미토콘드리아만 유전된다는 사실은 DNA분석이 발달하면서 가계조사나 인류계통조사에 응용되기도 했다. 1980년대 전세계 135명의 여성을 뽑아 미토콘드리아 DNA를 추출, 유사성을 조사한 결과 현 인류가 하나로 합쳐지는 분기점이 약 15만년전 아프리카이며 어느 한 여성이 인류의 공통조상이 된다는 결과가 나왔다. 이 미토콘드리아를 남긴 위대한 여자 조상을 '미토콘드리아 이브'라고 부르기도 한다.

[실험 시작 전]

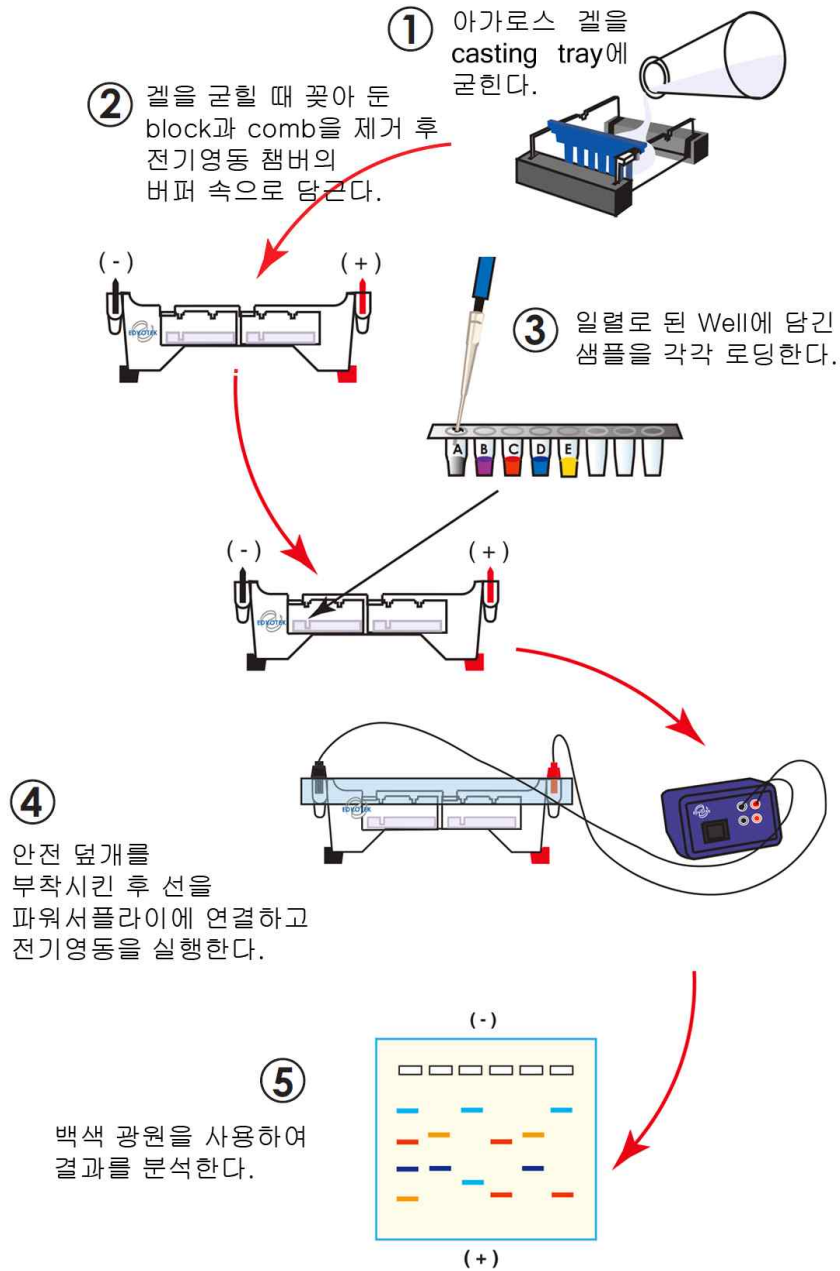
1. 실험 시작 전 사용설명서를 자세히 읽는다.
2. 실험에 반영하는 가설과 예상 결과를 기록한다.

[실험 목적]

이 실험의 목적은 학생들이 다음의 내용을 배우는 것이다.

1. 아가로스 젤 전기영동이 DNA 조각으로 여겨진 염료분자의 다른 크기별로 분리한다는 것을 학습한다.
2. 개개인의 독특한 DNA패턴이 형성되고 이것은 부모를 구별하는 방법의 기초라는 것을 배운다.

[실험 과정]

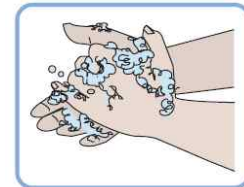


※ 주의

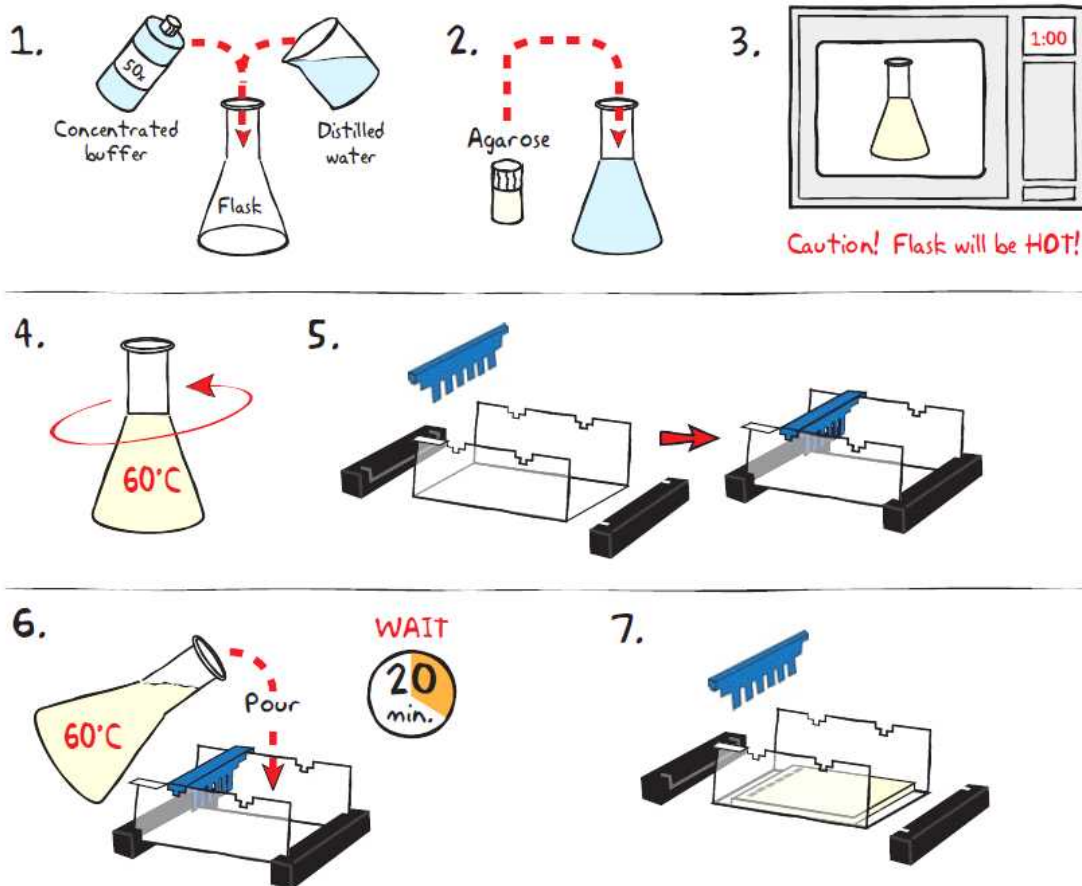
내 아버지는 누구? 실험키트는 디자인된 DNA 샘플을 사용하여 PCR기가 필요 없습니다.

[안전 유의사항]

1. 보호장갑 및 보호안경을 반드시 착용한다.
2. 시약을 가열하거나 녹이는 장비를 다룰 때는 특별히 주의해야 한다.
3. 입으로 피펫을 사용하지 않는다. 피펫 펌프나 밸브를 사용한다.
4. 전기 장비를 사용할 경우 특별히 조심한다.
 - 장비의 커버를 벗기면 파워 소스로부터 나오는 전기 전류는 자동으로 끊기지만, 먼저 전원을 빼고 플러그를 뽑은 후 전선을 분리하고 커버를 벗긴다.
 - 사용하지 않을 때는 파워를 끄고 플러그를 뽑는다.
5. EDVOTEK 전기영동 실험 장치는 전기가 켜 있을 때 이음매가 없다. 그러나 만약에 전기영동 실험 중 전기가 샌다고 생각하면 즉시 전원을 끄고 장비를 사용하지 않는다.
6. 항상 시약이나 생물학적 물질을 다루는 실험이 끝나면 비누로 손을 깨끗이 닦는다.



[아가로즈 젤 준비하기]



1. 증류수로 농축 (50X) 버퍼를 희석하여 1X 버퍼를 만든다. (표 A 참조)

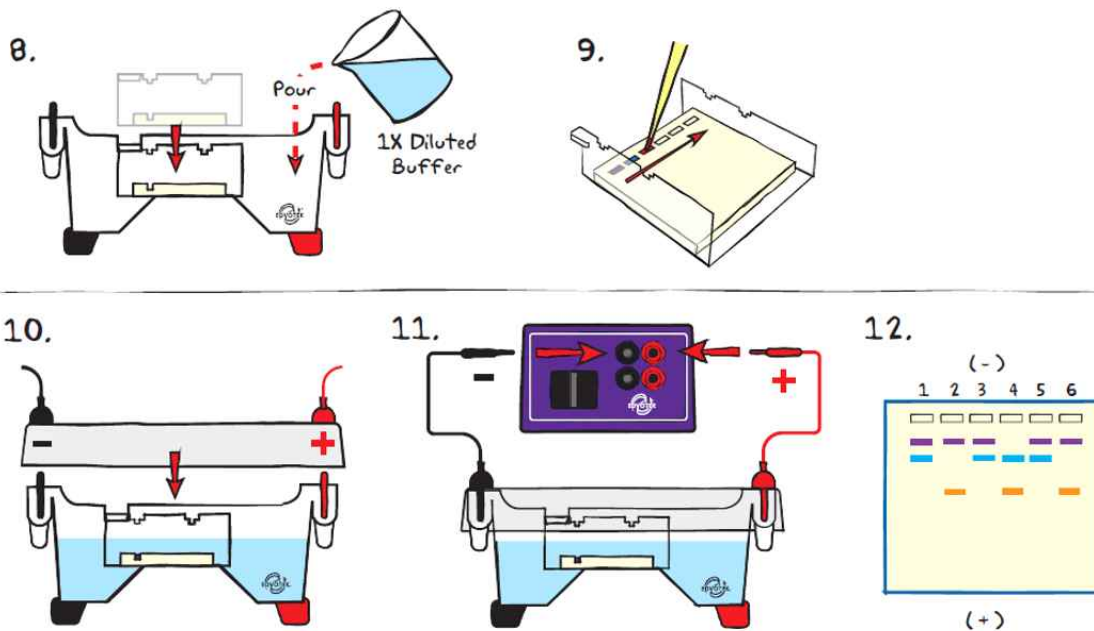
2. 250ml 삼각플라스크에 1X 버퍼로 1% 아가로즈젤 혼합물을 만든다. (표 A 참조)

Tray Size	50X Buffer	D.W.	Agarose	Total
7X10cm	1.0ml	49.0ml	0.50g	50ml
7X14cm	1.2ml	58.8ml	0.60g	60ml

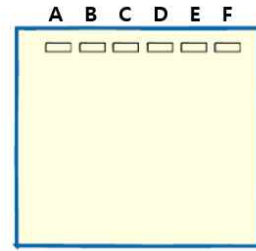
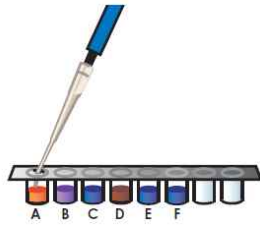
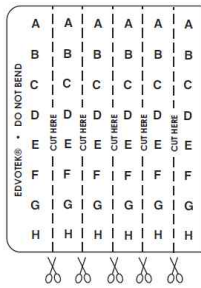
[표 A] 1% 아가로즈젤 혼합표

3. 아가로즈가 완전히 용해될 때까지 삼각플라스크를 가열한다. 전자렌지를 사용할 경우 15 초 동안 가열을 반복해서 아가로즈가 완전히 녹을 때 까지 가열한다. (전자렌지를 사용하여 지속적으로 가열할 경우 끓어 넘칠 수 있다. 랩으로 플라스크 입구를 막아 증발을 최소화 시킨다.)
4. 아가로즈가 완전히 녹은 다음 삼각플라스크를 회전시키면서 60°C까지 냉각 시킨다.
5. 아가로즈가 냉각되는 동안 젤 캐스팅 트레이를 조립한다.
6. 냉각 된 아가로즈 용액을 준비된 젤 캐스팅 트레이에 붓는다. 20분 이상 완전히 응고 시킨다.
7. 젤이 완전히 굳으면 고무캡과 콤을 제거한다.

[샘플로딩 및 결과확인]



8. 젤 캐스팅 트레이를 전기영동기 챔버에 넣고 젤이 잠길 때까지 1X 버퍼를 붓는다.
9. QuickStrip™ Samples을 가위로 잘라 조별로 나눈 다음 파이 펫 팁으로 QuickStrip™의 호일을 뚫어 샘플 30-35µL을 순차적으로 웰에 로딩한다.

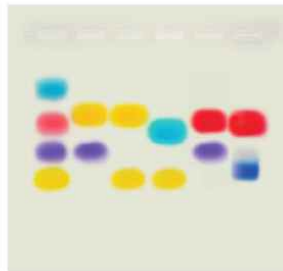


10. 젤의 방향이 올바른지 확인한 다음 전기영동기 커버를 (-)극과 (+)극에 맞추어 잘 덮어 준다.
11. 전기영동기를 전원 공급장치에 연결하여 전원을 공급한 다음 샘플의 이동을 관찰한다. (샘플은 +극 (빨간색) 전극으로 이동합니다.)

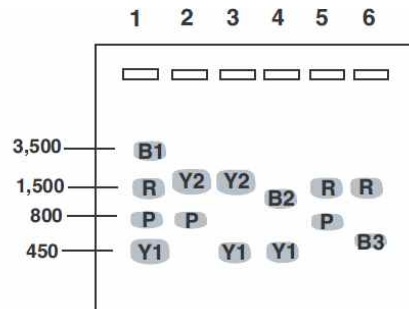
전압	권장 실험시간	
	M6+	M12 & M36
150V	30~40분	45~60분
75V	60~70분	110~120분

12. 전기영동이 완료된 후 전기영동 챔버에서 젤 캐스팅 트레이를 꺼내 결과를 확인합니다. (젤 염색이 필요하지 않습니다.)

[실험결과 분석 및 탐구질문]

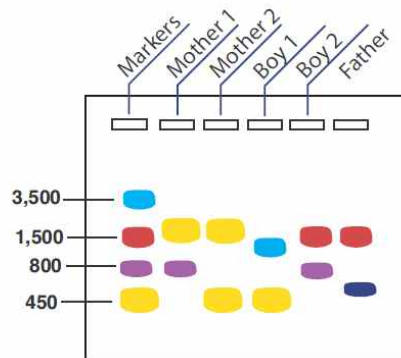


S-49 gel result photo



Color legend

- B1 Blue 1
- B2 Blue 2
- B3 Blue 3
- P Purple 1
- R Red
- Y1 Yellow 1
- Y2 Yellow 2



1. 젤의 분석에서 얻어지는 결과를 토대로 어느 자녀, 어머니, 아버지가 친부모, 친자녀 관계인가? 그 이유는 무엇인가?
2. 전기영동을 통해 분리되는 다른 색의 띠 들은 무엇을 의미하는가?
3. 왜 개개인마다 다른 지문을 갖는가?
4. 미토콘드리아 DNA 지문 분석은 무엇인가?



EDVOTEK-Kit #S-49

내 아버지는 누구? 실험 키트

(In Search of My Father)

교사용 가이드북

[교사를 위한 메모]

학생 수, 실험장비 준비 여부 등 다양한 요소가 이 실험에 영향을 미칠 수 있습니다. 따라서 실험을 설계하는데 이러한 요소들을 고려해야 합니다.

[실험준비 소요시간]

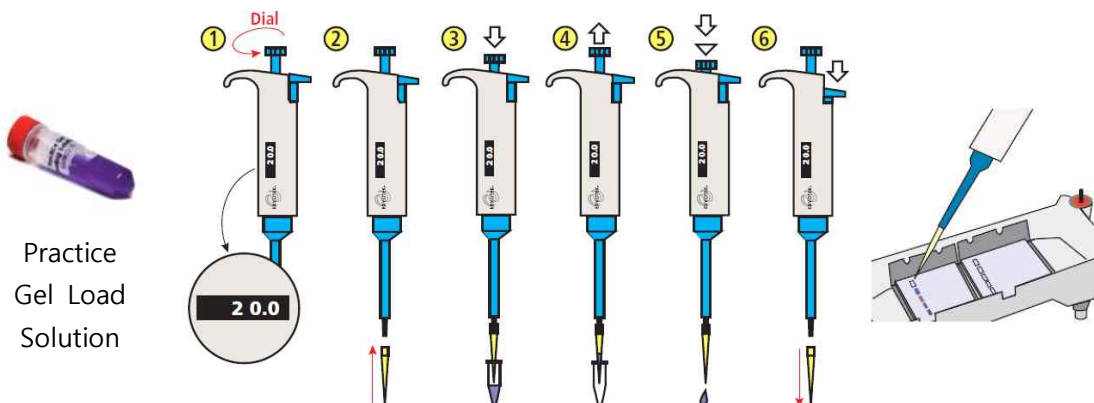
1. 아가로스 젤 준비 : 스케줄에 따라 아가로스 젤을 언제 준비할 것인지를 결정해야 합니다. 직접 아가로스 젤을 준비하든 아니면 학생들에게 준비하도록 지시하든 아가로스 젤을 준비하는데 약 30~40분이 필요합니다. 이 시간 중 약 20분은 젤이 응고되는데 걸리는 시간입니다.
2. 전기영동에 걸리는 시간은 전기영동기와 전원공급장치에 따라 약 20분에서 1시간까지 차이가 발생할 수 있습니다.

[일반적인 위험요소 회피방법]

다음과 같은 방법으로 위험요소 또는 잠재적인 문제를 피할 수 있습니다.

1. 아가로스가 잘 용해될 수 있도록 젤의 혼합 비율을 잘 맞춘다. (표 A 참조) 그리고 전기영동은 권장 시간 동안만 실시한다.
2. 버퍼의 정확한 희석은 실험의 성공을 위해 중요한 준비과정이다. 버퍼 준비에 증류수만 사용하고 수돗물은 절대 사용하지 않도록 한다.
3. 최상의 결과를 얻기 위해서는 매 실험 시 전기영동 버퍼를 새로 만들어 사용한다.
4. 실제 실험에 앞서 샘플 로딩 중 발생할 수 있는 샘플의 손실을 막기 위해 Practice Gel Loading Solution을 이용하여 샘플 로딩 기술을 훈련한다.

[샘플 로딩 연습]



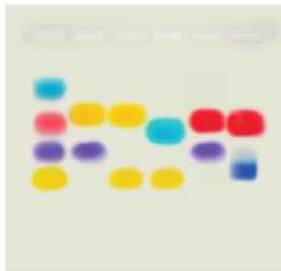
[실험 후 활동을 위한 제안]

아래 내용을 수업토론에 필요한 가이드라인으로 활용할 수 있습니다.

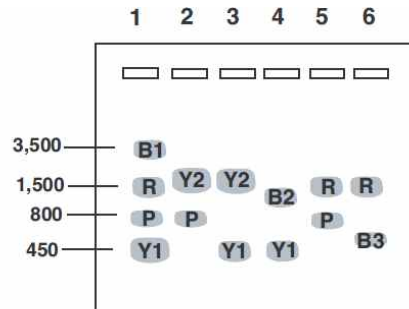
1. 젤의 분석을 기반으로 창조적인 시나리오를 적도록 하거나 작은 그룹으로 나눠 각 그룹 간 획득한 젤을 가지고 상황극을 만들어 보도록 한다. 학급에서 시나리오를 공유하거나 상황극 시간을 갖도록 한다.
2. DNA 조각을 분리하기 위한 전기영동을 생물학적 관계를 규명하는 것 외에 다른 분야에도 사용한다. 인터넷에서 다음의 사례들을 찾아보도록 한다.
 - 친자확인
 - 유전질환의 유전자 확인
 - 질병의 원인균 및 전염병의 보균자 구별
 - 농/축/수산물의 원산지 식별
 - GMO 판별
3. 법정 증거로 사용될 DNA의 수집과 분석이 꼼꼼해야 하는 이유에 대해 토론한다.
4. 아래 단어 목록에서 단어를 선택하고 사용하여 문장을 만들도록 한다.

DNA	Restriction Enzyme	RFLP
Electrophoresis	DNA Fingerprinting	Polymerase Chain Reaction

[실험결과 및 분석]

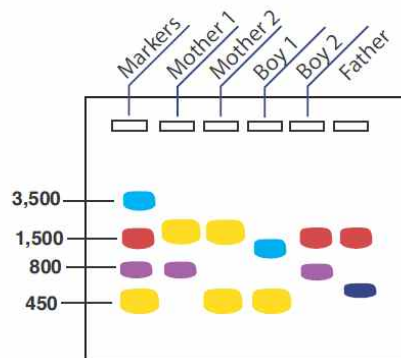


S-49 gel result photo



Color legend

B1	Blue 1
B2	Blue 2
B3	Blue 3
P	Purple 1
R	Red
Y1	Yellow 1
Y2	Yellow 2



[학습관련 질문 및 그에 대한 해답]

1. 젤의 분석에서 얻어지는 결과를 토대로 어느 자녀, 어머니, 아버지가 친부모, 친자녀 관계인가? 그 이유는 무엇인가?
 - 소년2의 보라색 띠가 어머니1의 보라색 띠와 일치한다. 소년2의 빨간색 띠가 아버지의 빨간색 띠와 일치한다. 그러므로 이 시나리오에서 소년2가 어머니1과 아버지의 친자녀이다.
2. 전기영동을 통해 분리되는 다른 색의 띠 들은 무엇을 의미하는가?
 - 각 개인에서 획득한 다양한 길이를 가진 DNA를 의미한다.
3. 왜 개개인마다 다른 지문을 갖는가?
 - 염색체는 아버지로부터 한 개, 어머니로부터 한 개를 받아 쌍으로 이뤄진다. 염색체의 특정 부위의 유전자 두 복사본은 특정 후손을 위한 독특한 유전체에 해당된다.
4. 미토콘드리아 DNA 지문 분석은 무엇인가?
 - 어머니에게서만 물려받는 미토콘드리아 DNA를 분석하여 동일한 모계임을 확인하는 분석



서울시 양천구 국회대로 56 (테크맨빌딩 5층)
TEL. 02-929-1110 FAX. 02-929-0966
info@koreasci.com www.koreasci.com

이 실험서는 (주)한국과학에 의해 작성되었으며 저작권법에 의해 보호를 받습니다.
무단복제를 금하며, 무단 복제 및 배포 시 저작권법에 의해 처벌 받을 수 있습니다.