

NEW

O-157 & Verocytotoxin 동시검출 Kit

TaKaRa Code RR107A 50검체용

본 제품은 대장균 O-157과 verocytotoxin 1형, 2형 유전자를 PCR로 정확하고 신속하게 검출할 수 있는 kit이다. O-157의 O항원 합성 유전자 특이 검출용 primer*1와 verocytotoxin 1형, 2형(변이형 포함) 유전자 검출용 primer*2가 혼합되어 있어 O-157과 verocytotoxin 유전자를 한번의 PCR로 간단하게 검출할 수 있다.

또 본 kit에는 PCR의 internal control로 Positive Control Template가 첨부되어 있어 PCR이 정상적으로 되었는지 확인할 수 있다. 증폭효율이 뛰어난 TaKaRa Ex Taq™을 사용하여 기존의 Taq보다 단시간에 고감도로 검출할 수 있다.

*1: O-157을 제외한 O항원 합성유전자, H항원 합성유전자 등 다른 항원 합성유전자는 검출할 수 없다.

*2: Verocytotoxin 1형(VT1), 2형(VT2, VT2ha, VT2hb, VT2p1, VT2p2) 유전자를 각각 검출한다. VT2형 유전자 내에서의 판별은 불가능하며, VT1 검출용 primer는 Salmonella의 독소 유전자와도 반응한다.

■ Kit의 내용(50회분)

10× Ex Taq Buffer	250 μl
dNTP Mixture(2.5 mM each)	200 μl
Primer Mixture	500 μl
Positive Control Template	500 μl
TaKaRa Ex Taq™(5 U/μl)	12.5 μl

■ 실험에 1 : 각종 균체열추출액을 검체로 한 PCR 반응

[반응액의 조성]

10× Ex Taq Buffer	5 μl
dNTP Mixture(2.5 mM each)	4 μl
Primer Mixture	10 μl
Positive Control Template	10 μl
TaKaRa Ex Taq™(5 U/μl)	0.25 μl
균체열추출 시료	5 μl
dH ₂ O	15.75 μl
Total	50 μl

[PCR반응]

94°C	1분	} 35 cycles
55°C	1분	
72°C	1분	
72°C	10분	1 cycle

[전기영동]

3% NuSieve® 3:1 Agarose Gel

PCR 반응 종료후 반응액 5 μl를 전기영동

증폭 크기	Positive Control Template 유래	: 641 bp
	O-157 항원 합성유전자 유래	: 457 bp
	Verocytotoxin 1형 유전자 유래	: 349 bp
	Verocytotoxin 2형 유전자 유래	: 112 bp

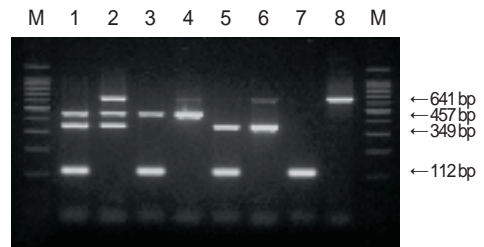


그림 1 균체열추출 시료를 본 kit으로 PCR한 결과

lane	1 : O-157/VT1+/VT2+,	2 : O-157/VT1+/VT2-,	3 : O-157/VT1-/VT2+
	4 : O-157/VT1-/VT2-,	5 : O-111/VT1+/VT2+,	6 : O-26/VT1+/VT2-
	7 : O-139/VT1-/VT2+,	8 : O-1(Negative Control),	M : 100bp DNA Ladder

■ 실험에 2 : 감도 측정

O-157/VT1+/VT2+ 주의 균체열추출 시료를 serial dilution하여 검출 감도를 측정하였다. 반응액 조성, PCR 반응, 전기영동조건은 실험에 1과 동일하다.

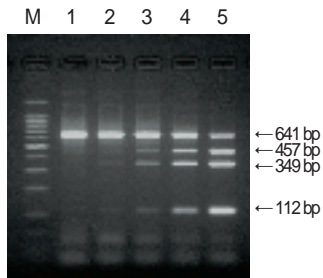


그림 2 감도 측정 결과

lane	1 : Negative Control,	2 : O-157/VT1+/VT2+(2.5 cells 상당),
	3 : O-157/VT1+/VT2+(25 cells 상당),	4 : O-157/VT1+/VT2+(250 cells 상당)
	5 : O-157/VT1+/VT2+(2,500 cells 상당),	M : 100 bp DNA Ladder

위 실험과 같이 본 kit를 사용하여 O-157 항원 합성유전자 및 verocytotoxin 1형, 2형 유전자를 한번의 PCR 반응으로 정확하고 신속하게 검출할 수 있다.



Estrogen receptor β 결합물질 screening용 Kit

FP Screen-for-Competitors Kit, ER- β , High Sensitivity

TaKaRa Code V2800 1 Kit(300회용)
Panvera사의 제품입니다.

1993년 Kuiper에 의해 cloning된 estrogen receptor- β (ER- β)는 이미 알려진 ER- α 와 함께 생체 내에서 중요한 hormone receptor로 작용한다. ER- β 와 ER- α 는 조직 분포가 다르고 항 estrogen제의 작용에도 차이가 있어 각각의 기능에 대한 연구가 활발히 진행중이다(본지 10호 35쪽 참조).

본 고에서는 신발매의 ER- β 결합물질 screening용 kit(FP Screen-for-Competitors Kit, ER- β , High Sensitivity ; TaKaRa Code V2800)과 이미 발매하여 호평을 얻고 있는 ER- α 결합물질 screening용 Kit(FP Screen-for-Competitors Kit, ER- α , High Sensitivity ; TaKaRa Code V2577)을 사용하여 ER 결합물질의 ER- β 및 ER- α 에 대한 친화성 실험 결과를 소개한다.

Kit의 내용

ER(β)-FES1 Complex	5 ml \times 3개
Fluoromone ES1(FES1)	500 μ l
17 β -Estradiol(E ₂)	100 μ l \times 8개
Screening Buffer	8 ml \times 3개
DMSO	1 ml

실험예 : 각종 ER 결합물질의 ER- β 및 ER- α 에 대한 친화성 비교

[방법]

위의 두 kit을 사용하여 본지 10호 35쪽에 기재된 competition assay 방법으로 실험한 후 형광편광도 측정 시스템 Full-Range BEACON[®] 2000(TaKaRa Code VP2370)으로 각 반응액의 형광편광도를 측정하였다.

[결과]

ER 결합물질 ER- α , ER- β 의 친화성 측정 결과를 표 1 및 그림 1, 2에 나타내었다. 이 결과로 ER- α 와 ER- β 에 대한 친화성은 물질에 따라 달라짐을 알 수 있었다. 특히 주목할 만한 점은 대두 isoflavone의 일종인 genistein은 다른 물질과 달리 ER- β 에 대한 친화성이 ER- α 에 대한 친화성보다 20배 이상 강한 것을 알 수 있었다.

골세포에 ER- β 가 많이 발현하고 있는 것과 골다공증에 대두 isoflavone의 예방효과가 연구되어 있는 것과 관련해서 생각해 보면 이것은 특히 흥미가 있는 결과이다.

표 1 각종화합물의 ER- α 및 ER- β 에 대한 친화성

화합물	ER α 에 대한 결합		ER β 에 대한 결합	
	IC ₅₀	RBA*	IC ₅₀	RBA*
E ₂	15.6 nM	100	65.5 nM	100
DES	4.0 nM	390	9.1 nM	621
Tamoxifen	239 nM	6.51	816 nM	6.92
4-Nonylphenol	5.2 μ M	0.299	6.7 μ M	0.843
Genistein	12.8 μ M	0.122	2.1 μ M	2.69
Bisphenol A	35.0 μ M	0.045	162 μ M	0.035

* RBA(Relative Binding Affinity) : E₂의 IC₅₀을 100으로 한 경우 상대적인 친화성

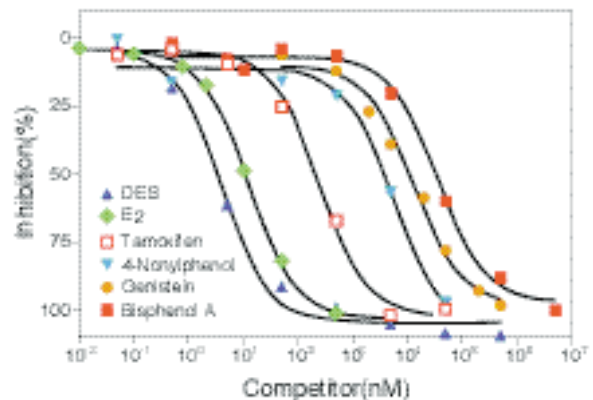


그림 1 ER(α)-FES1의 복합체에 각종화합물의 경쟁결합곡선

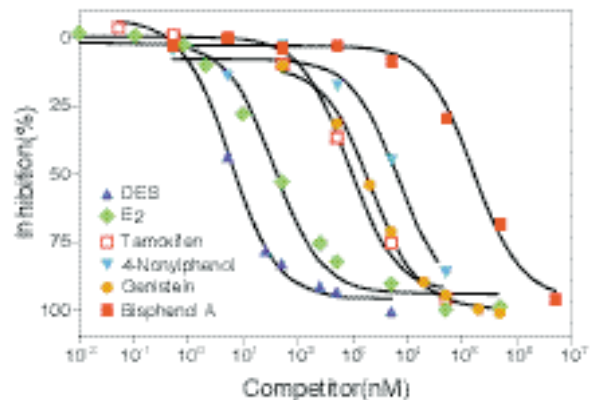


그림 2 ER(β)-FES1의 복합체에 각종화합물의 경쟁결합곡선

NEW

Streptoavidin 코팅 자성 beads

MAGNOTEX-SA

TaKaRa Code 9088 1개

MAGNOTEX-SA는 streptoavidin을 코팅한 직경 $2.3 \pm 0.3 \mu\text{m}$ 의 자성 beads이다. 현탁성이 높으며 첨부된 Binding Buffer와 함께 사용하면 biotin 표식 DNA나 단백질 등을 고효율로 결합하며 beads는 자식으로 간단·신속하게 회수할 수 있다. 본 고에서는 실험방법과 실험예를 소개한다.

■ 내용

MAGNOTEX-SA	1 ml(20 mg/ml 분산매)
2× Binding Buffer	20 ml

* Beads 부리에 이용되는 Magnet Stand는 포함되어 있지 않으므로 별도로 구입해야 한다. Magnetight Separation Stand (TaKaRa Code NV428)의 사용을 권장한다.

■ 실험방법

【Biotin 표식 DNA의 회수】

- MAGNOTEX-SA 50 μl (1 mg)를 1.5 ml 원심 튜브에 첨가한다.
- 원심튜브를 magnet stand에 1분동안 둔 후 상층을 제거한다.
- Biotin 표식 DNA 시료(5 $\mu\text{g}/50 \sim 500 \mu\text{l}$)에 동량의 2× Binding Buffer를 첨가하여 혼합한 후 beads를 넣은 원심 튜브(②)에 첨가한다.
- Magnet stand에서 원심튜브를 꺼내어 혼합한 후 실온에 10분간 정치한다.
- 원심튜브를 magnet stand에 다시 1분간 둔 후 상층을 제거한다.
- 원심튜브에 1× Binding Buffer(2× Binding Buffer를 1/2로 희석하여 조제한다)를 200 μl 첨가한다.
- Magnet stand에서 원심튜브를 꺼내어 혼합한 후 원심튜브를 magnet stand에 꽂아 1분간 정치한다.
- 상층을 제거한다.
- ⑥~⑧까지 2~3회 반복한다.
- Beads(DNA 결합입자)를 회수한다.
모든 조작은 약 20분 내에 완료할 수 있다.

■ 실험예

시료 : 한 쪽의 5' 말단을 Biotin 표식 한 λ DNA 영역 1 kbp의 PCR 증폭산물

(1) Single strand DNA의 회수

MAGNOTEX-SA 150 μl (3 mg)을 사용하여 위의 실험방법으로 시료 50 μl (약 15 μg)을 처리하였다. 그 후 DNA 결합입자에 alkali buffer(0.1 N NaOH, 0.1 M NaCl)을 50 μl 첨가하

여 상층에 용출된 single strand DNA를 회수하였다(그림 1 참조). Single strand DNA의 회수율은 약 75%였다.

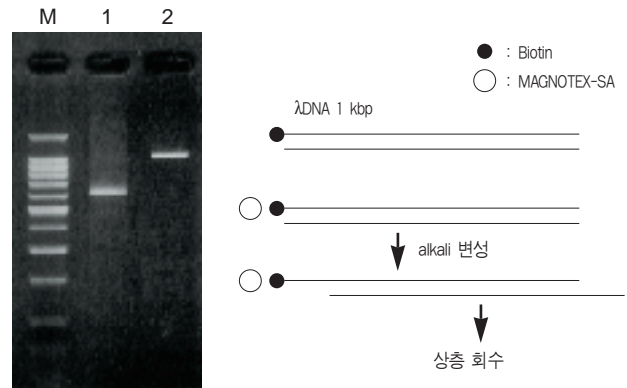


그림 1 Single strand DNA의 회수

lane M : 100 bp DNA Ladder
1 : Single strand DNA(회수된 DNA)
2 : Double strand DNA(사용된 시료)
3% Agarose gel

(2) 제한효소 *Mfl* I 처리로 단편 회수

MAGNOTEX-SA 150 μl (3 mg)을 사용하여 시료 50 μl (약 15 μg)로 처리하였다. 그 후 DNA 결합입자를 제한효소 *Mfl* I Buffer(1×)로 1회 세정하여 상층을 제거하였다. DNA 결합입자를 *Mfl* I로 처리하여 상층중에 유리한 단편을 회수하였다(그림 2 참조).

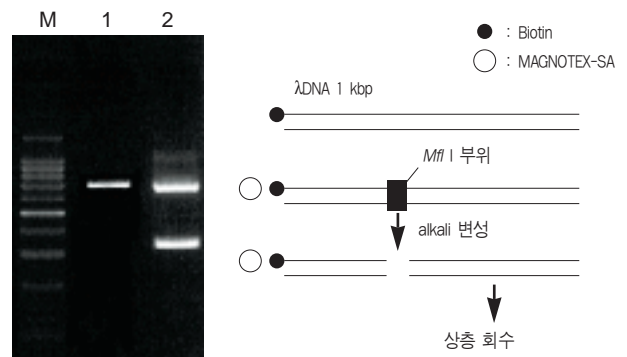


그림 2 제한효소 *Mfl* I 처리한 후 단편의 회수

lane M : 100 bp DNA Ladder
1 : DNA 결합입자를 *Mfl* I 처리한 상층
2 : Beads 흡착된 시료를 *Mfl* I 처리
3% Agarose gel

NEW

Human Cytochrome P450 Competitive RT-PCR Set

TaKaRa Code 6609 40회

Human 약물대사 효소유도능력을 측정하는 여러 방법이 보고되어 있으며 최근 초대배양 간장세포 배양기술의 발전으로 *in vitro*에서 P450 유도능력의 측정이 가능해졌다. 그러나 세포 공급량에 제한이 있어 소량의 세포에서 고감도로 측정할 수 있는 방법 개발이 요구되고 있다.

TaKaRa는 Competitive RT-PCR로 CYP1A1, 1A2, 2A6/7, 2B6, 2C, 2D6, 2E1, 3A3/4, 3A5, 3A7, 4B1을 간편하게 정량할 수 있는 시스템을 개발하여 제품화하였기에 소개한다.

■ Set 내용(각 분자종 40 검체용)

1. Human Cytochrome P450 RNA Competitor*1	
1.0 × 10 ⁸ copies/μl	25 μl
RNA Competitor용 희석액	1 ml
2. Human CYP1A1 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
3. Human CYP1A2 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
4. Human CYP2A6/7 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
5. Human CYP2B6 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
6. Human CYP2C primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
7. Human CYP2D6 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
8. Human CYP2E1 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
9. Human CYP3A3/4 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
10. Human CYP3A5 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
11. Human CYP3A7 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
12. Human CYP4B1 primer mix	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl
13. Human GAPDH primer mix*2	
(sense, antisense 각 10 pmol/μl)	80 μl

*1 : 11종의 P450분자 primer 서열을 모두 포함하는 Competitor

*2 : RNA량 보정시 사용하는 GAPDH primer(그림 1)

【본 Set 외에 필요한 시약】

- TaKaRa RNA PCR™ Kit(AMV) Ver. 2.1(TaKaRa Code R019A)
- NuSieve® 3:1 Agarose(TaKaRa Code F50090)

【보존】

-20℃

■ 본 제품의 특징

- 각 분자종에 특이성이 높은 primer 사용
- 대표적인 11종의 CYP 분자종을 분별 정량할 수 있는 competitor(그림 1)를 사용
- 각 분자종의 정확한 정량 가능(전 분자종에 대하여 total RNA 및 RNA competitor의 증폭효율의 상관성을 확인)
- 고감도

■ 실험예

Human 성인 간장(암환자에서 추출한 간조직 정상부위)* 유래의 total RNA를 이용하여 아래와 같이 RT-PCR 실험을 하였다.

* : CYP4B1에 대해서는 간조직 유래 total RNA를 사용

- (1) Total RNA 100 ng을 첨가하여 여러 농도의 competitor를 첨가한 조건과 첨가하지 않은 조건으로 각 CYP분자종의 RT-PCR 실험을 하였다(그림 2 참조).
- (2) CYP3A7 mRNA(태아 간장에서만 발현한다고 알려져 왔으나 최근 Human 성인 간장에서도 발현한다고 보고되고 있다)의 검출 및 정량을 확인하였다(그림 3 참조). 각 밴드의 정량(수치화)에는 Image analyzer FMBIO® II Multi-View를 사용하였다.

■ 고찰

본 제품을 이용한 competitive RT-PCR로 human 배양간장세포 5.0×10⁶ cells에서 추출한 total RNA로 P450 분자종의 분별 정량이 가능하며 분자종이 약 5 copies/cell 이상 발현되면 검출이 가능하다고 판단된다.

이 방법은 초대배양 간장세포를 이용하여 약물에 의한 P450 유도능력의 해석에 매우 유용하다.



그림 1 Human Cytochrome P450의 RNA competitor

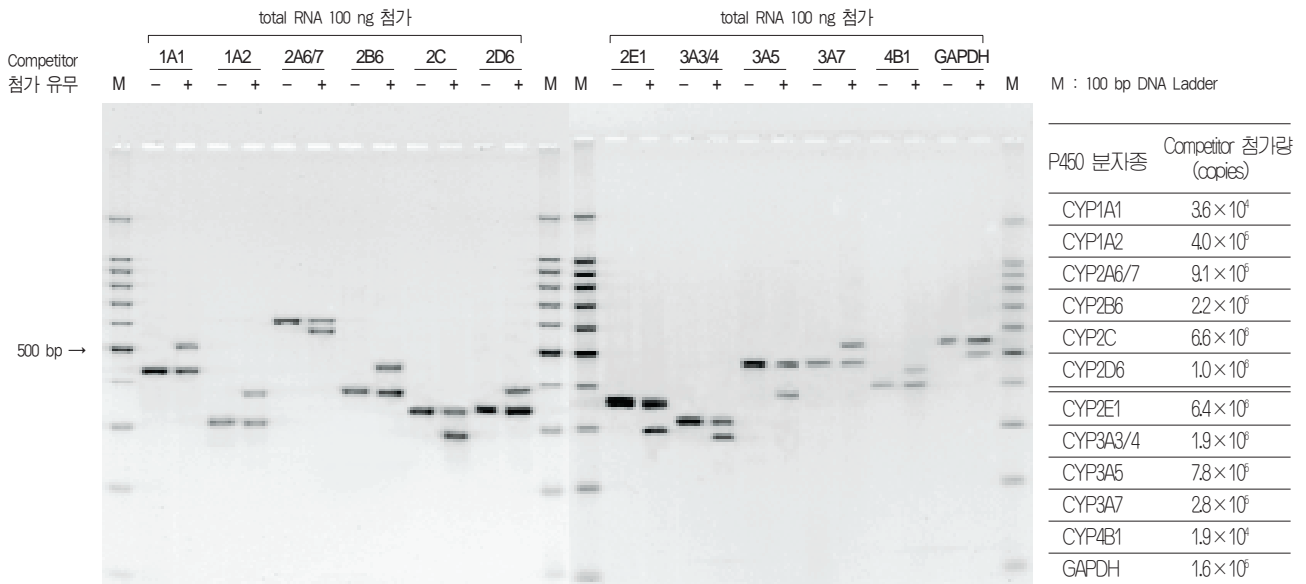


그림 2 각 CYP분자종의 RT-PCR 결과

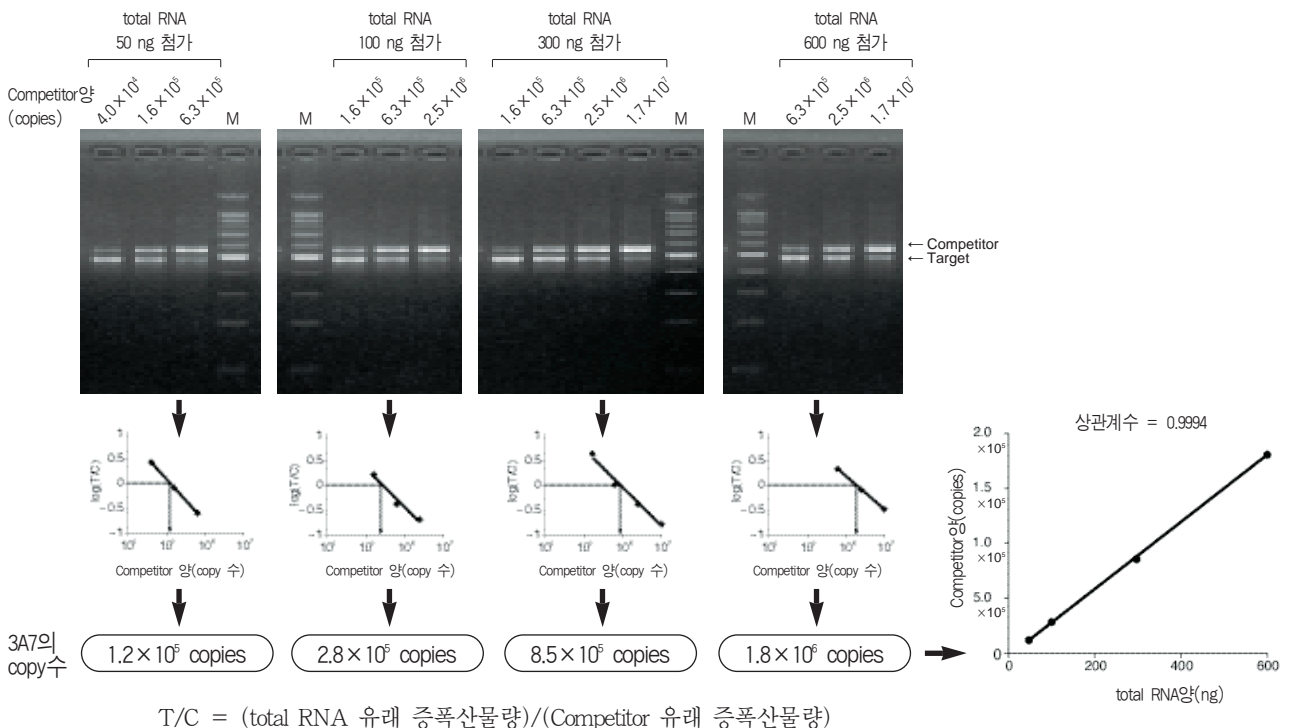


그림 3 CYP3A7 mRNA 검출 및 정량



PCR 산물을 고효율로 간단하게 정제 · 농축!!

SUPREC™-PCR

TaKaRa Code 9073 50회

본 제품은 PCR로 DNA를 증폭한 후 primer 및 dNTPs를 제거하거나 DNA 시료를 농축 탈염하는데 적당하다. 원심튜브 내 sample reserver에 시료를 넣고 원심분리(15분간×1회)한 후 다른 원심튜브에 reserver를 반대로 장착하여 원심분리하므로 간단하게 증폭된 DNA를 정제할 수 있다. 또 한번의 원심분리로 별도의 정제 없이 sample reserver의 용액을 모두 제거하므로 세정과 buffer 교환이 필요 없으며 적절한 buffer로 용출이 가능하다. 본 제품의 회수율은 300 bp 이상인 단편인 경우는 90% 이상이며 회수된 PCR산물을 별도의 정제 없이 sequencing, cloning에 사용할 수 있다.

■ 실험순서 : PCR산물의 정제(그림 1)

Step 1. 정제/농축

- 원심튜브 내에 있는 sample reserver에 멸균수나 TE Buffer 400 μl 첨가
- PCR 산물 100 μl 첨가
- 뚜껑을 덮고 1,000×g로 15분 원심분리(15분 이상 원심분리하거나 1,000×g 이상으로 원심분리하면 회수율이 저하되므로 주의)

Step 2. 회수

- 원심튜브에서 sample reserver를 분리하여 새로운 원심튜브에 장착
- Sample reserver에 멸균수나 TE Buffer를 20 μl 첨가하여 가볍게 피펫팅(피펫이 원심튜브 벽에 닿지 않도록 주의)
- Sample reserver를 반대로 하여 원심튜브에 장착
- 1,000×g, 2분간 원심분리하여 PCR 산물 회수

Step 3. 보존

- Sample reserver를 원심튜브에서 분리하여 뚜껑을 덮어 보존

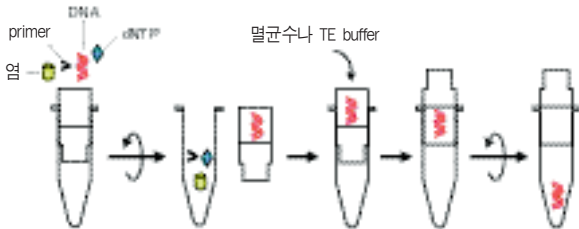


그림 1 SUPREC™-PCR로 PCR산물의 정제

■ 실험예 1 : Primer(25 mer)의 제거 효율

1 pmol/μl의 primer(25 mer)를 포함하는 500 μl의 수용액(시료 A)을 SUPREC™-PCR sample reserver에 넣고 3,500 rpm(1,000×g), 15분 원심분리하여 여과액(시료 B)을 얻었다. 시료 A와 시료 B의 OD₂₆₀를 측정하여 primer 농도를 비교하였다. SUPREC™-PCR로 95.5%의 primer가 제거됨을 알 수 있다.

	OD ₂₆₀
시료 A	0.286
시료 B	0.273 (제거율 95.5%)

■ 실험예 2 : 회수 효율

125 bp의 DNA 단편을 증폭한 PCR 반응액을 SUPREC™-PCR로 분리하여 회수율을 검토하였다.

200 μl의 PCR 반응액을 멸균수 1 ml에 희석하여 시료로 사용하였다(시료 1). 500 μl의 시료를 SUPREC™-PCR의 sample reserver에 넣고 3,500 rpm(1,000×g), 15분간 원심분리하여 여과액을 시료로 사용하였다(시료 2). Reserver에 20 μl의 멸균수를 첨가하여 가볍게 피펫팅한 후 회수용 원심튜브에 reserver를 반대로 장착하였다. 3,500 rpm(1,000×g), 2분간 원심분리하여 PCR 산물을 회수하였다. 회수한 산물에 멸균수를 첨가하여 최종용량을 500 μl로 하였다(시료 3). 시료 1, 2, 3에서 각각 5 μl를 agarose gel로 전기영동하였다(그림 2). 분석결과 125 bp의 DNA 단편의 회수율이 약 85% 이상임을 확인하였다.

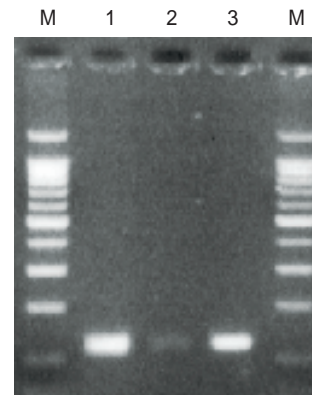


그림 2 SUPREC™-PCR의 회수율

lane 1 : 시료 1(정제전) 영동조건 : 3% NuSieve 3:1 Agarose
 2 : 시료 2(여과액) 각 시료의 5 μl를 전기영동
 3 : 시료 3(회수액)
 M : 100 bp DNA Ladder

NEW

Pfu N-acetyl Deblocking Aminopeptidase (Ac-DAP)

TaKaRa Code 7340 50 µg

Pfu Deblocking Aminopeptidase(DAP)는 단백질이나 peptide의 N-말단 수식 acyl기 및 그에 이어지는 아미노산을 순서대로 유리하는 효소이다. 이 효소는 폭넓은 기질 특이성을 갖고 있으며 N-말단이 수식되어 있어 해석이 곤란한 미량단백질의 N-말단 또는 N-말단 근처의 아미노산 서열을 해석할 수 있다. 이번에 TaKaRa에서 DAP에 의해 N-말단이 blocking된 단백질을 해석하기 위하여 N-말단 아미노산 잔기만을 acetyl화 한 DAP(Ac-DAP)를 개발하여 제품화하였다. 본 고에서는 재조합기술로 개발된 신규 효소 Ac-DAP의 효소적 성질과 그 응용을 소개한다.

■ 왜 Ac-DAP 일까?

Deblocking Aminopeptidase(DAP)는 여러 종류의 acyl기로 N-말단이 blocking된 단백질에 작용하여 X-pro 결합이 출현할 때까지 제외한 peptide 결합을 N-말단에서부터 순차적으로 절단하여 아미노산을 유리하는 효소이다.^{1, 2)} 따라서 진핵생물의 경우 세포내, 세포막 단백질의 60% 이상이 N-말단 blocking 단백질로 이루어져 있으며 DAP는 이와 같이 N-말단 근방의 아미노산 서열 해석에 널리 이용되고 있다. TaKaRa는 DAP를 초내열고세균 *P. furiosus*에서 분리하여 유전자 재조합기술로 대장균에서 생산하여 판매하고 있다 (TaKaRa Code 7338). 그러나 DAP를 단백질 기질(CM화 등 화학적 방법으로 변성이 필요하다)에 작용하기 위해서는 기질단백질 1~1/2량(mol비)의 DAP 첨가가 필요하다.²⁾ 그러므로 소화물을 직접 아미노산 서열 분석하면 목적단백질 유래의 X-Pro-서열과 DAP 유래의 N-말단 서열(Met-Val-Asp-Tyr-서열)이 동시에 관찰된다. DAP 유래의 아미노산 서열은 물론 이미 알고 있는 서열이지만 경우에 따라 목적 단백질의 아미노산 서열 해석을 방해할 수도 있다.

TaKaRa에서는 DAP에 의한 아미노산 서열 해석의 방해를 방지하기 위하여 ①OPA처리법²⁾ ②SDS-PAGE로 소화물 단백질과 DAP를 분리하는 방법³⁾ 등을 권장하였다. 금번 TaKaRa에서는 분석과정을 더욱 간편화하기 위해 DAP 단백질 자신의 N-말단 아미노산 잔기만을 acetyl화한 Ac-DAP를 새롭게 개발하였다. Ac-DAP는 DAP활성을 그대로 갖고 소화물을 직접 아미노산 서열 해석할 경우 자신의 서열은 검출

되지 않는다. 따라서 Ac-DAP를 사용하여 N-말단 단백질을 소화하면(Ac-DAP자체는 미변성이기 때문에 자기소화는 일어나지 않는다) Ac-DAP를 제거할 필요 없이 목적 단백질의 서열만을 직접 해독할 수 있다.

■ Ac-DAP의 제작과 효소적 성질

진핵생물의 세포내 단백질 대부분은 N-말단 아미노산 잔기가 acetyl화 되어 있다. 그리고 acetyl화 되기 위해서는 N-말단 부위의 아미노산 서열에는 어떤 법칙이 있다.⁴⁾ 예를 들어 N-말단의 아미노산서열이 Met-Asp-인 경우, Met 잔기는 반드시 acetyl화 된다. 거기서 이 법칙을 이용하여 *P. furiosus* DAP 본래의 N-말단 아미노산 서열을 부위특이적 변이도입법(site-directed mutagenesis)으로 Met-Asp-Asp-Tyr로 바꾸어 빵효모 등의 진핵생물에서 발현시켜 N-말단 아미노산이 acetyl화된 DAP를 제작하였다. 이와 같은 원리로 Ac-DAP를 제작하였으며 DAP와 비교하였을 때 효소적 모든 성질은 동일하다.

표 1 Ac-DAP의 효소적 성질

분지량	: 38639.42
최적온도	: 85~95°C
열안정성 영역	: 50°C, 48시간 동안 100% 활성유지 [0.1 M CoCl ₂ 를 포함하는 NEM* 완충액(pH8.0)중]
변성제내성	: 0.1% SDS존재하, 50°C 24시간 후, 90% 활성유지 [0.1 M CoCl ₂ 를 포함하는 NEM* 완충액(pH8.0)]
최적 pH	: 6.5~9.0
활성화인자	: CoCl ₂ (약 10배)
N-말단 아미노산 서열	: Ac-MDDYELLLKKWEADGV..

* N-ethylmorpholine-acetate

■ Ac-DAP의 응용

Ac-DAP를 사용하여 여러 N-말단 blocking 단백질의 서열해석 결과를 표 2에 나타내었다.

[참고문헌]

- 1) *BIO VIEW* (1998) 24, p10-12.
- 2) S. Tsunasawa (2000) 단백질 핵산 효소 45, 186-192
- 3) *Life Science & Biotechnology* (2000) 16, p28-29
- 4) S. Tsunasawa (1992) 신생화학실험강좌(일본생화학회 편), 1. 단백질VI, 343-360.

표 2 몇 가지 단백질에 Ac-DAP의 응용 예*

단백질	양(µmol)	기질/효소	온도(°C)	시간(하)	해독된 아미노산 서열*
CM화 superoxide dismutase(소)	100	1/1	50	48	Ac-ATKAWQLKDGDPVGGTIHFEAKGDTWWTGSITGL..
CM화 cytochrome C (빵 효모)	100	1/1	50	48	Ac-SEFLAGSAKKGATLTKTRCLQCHHTVEKGGPHKGV..
CM화 지방산 결합 단백질(토끼간)	100	1/5	50	48	Ac-MNFGSKYGVQSGENFEFFMKAMGLP..

*1 : 표에 나타난 조건으로 Ac-DAP를 사용하여 시료를 소화하고, 소화물을 그대로 아미노산서열 해석장치로 분석했다.

*2 : 밑줄은 동정된 아미노산 잔기를 나타낸다.