Q & A

Q_1...

DNA chip으로 검출했으나 signal이 거의 나오지 않았다. 원인은?

A_... Hybridization의 결과는 사용하는 RNA 시료의 quality에 크게 좌우된다. 표식반응을 하기 전에 IntelliGene® protocol에 따라 반드시 RNA의 순도 검출을 한다. Total RNA를 agarose로 전기영동하였을 때 ribosomal RNA의 확산이 보여질 경우에는 RNA의 분해나 RNase의 혼입을 생각할 수 있으므로 RNA를 다시 추출한다.
또한 표식반응 gel 여과 정제 후 cDNA pellet의 착색정도를 확인한다. 보통 상당히 엷은 착색이 보여지지만 이 착색이 짙은 경우는 형광기질이 완전히 제거되지 않은 경우이다. Protocol에 따라 gel 여과 정제와 여과액을 chloform/Isoamylalcohol로 반드시 추출한다. 위의 두가지 사항을 점검했음에도 불구하고 signal이 확인되지 않을 경우에 hybridization과 세정조건에 문제가 있다고 생각된다.

Q_2...

RNAlater™(TaKaRa Code AB001)로 조직을 보존할 때 사용방법은?

A_... 신선한 조직을 두께 5 mm이하 정도로 자른 후(예를 들어 5 mm×10 mm×10 mm 절편), 즉시 5배양의 RNA*later*™속에 담근다. -20℃에서 보존하는 경우는 4℃에서 하룻밤 방치한 후 그대로 -20℃로 옮기고, -80℃에서 보존하는 경우는 같은 방식으로 4℃에서 하룻밤 둔 후 RNA*later*™에서 조직을 분리하여 -80℃에 보존한다.

Q_3...

RNA*later*™로 보존한 시료에서 추출한 Total RNA는 역전사 반응에 사용할 수 있는지?

A_... 가능합니다. 당사에서는 RNA*later*™로 보존한 조직 및 세포에서 total RNA를 추출하고 역전사반응으로 DNA chip 용의 형광표식 cDNA probe를 제작하고 양호한 결과를 얻었다.
그 외 RNA*later*™의 사용으로 지금까지 보존이 어려워 RNA 조제가 곤란했던 시료의 RT-PCR에서도 좋은 결과를 얻고 있다.

Q_4...

Agarose 전기영동시 1~2 lane만 DNA의 band가 손상되는 경우가 있는데 이유는?

A_... Comb에 건조한 agarose가 남아 있을 경우에 이 같은 현상이 가끔 발생한다.
예전에 제작했던 gel이 comb에 붙어있는지 모르고 그 comb을 그대로 사용하여 새로운 gel을 조제하면 comb을 빼낼 때에 gel의 slot이 망가지며, 이것이 원인으로 작용하여 전기영동시 band가 손산된다. 따라서 이미 사용한 comb에 agarose gel이 부착되어있지 않은지 확인하는 것이 중요하며, comb를 빼낼 때는 신중해야한다. 특히 저융점 agarose의 경우는 gel이 망가지기 쉬우므로 특별한 주의가 요구된다. Comb를 빼기 전에 gel을 4℃에서 30분 정도 식히거나 찬 buffer에 담구면 comb 제거가 용이하다.

Q_5...

Long Ranger®를 사용하여 제작한 gel을 보존할 수 있을까?

A_... 제작한 gel은 24시간까지 보존 가능하다. 보존할 경우 gel이 건조하지 않도록 TBE Buffer로 적신 paper tower로 gel 끝을 덮고 전체를 플라스틱 필름(랩 등) 등으로 싸서 보존한다.
하룻밤 보존할 때는 4℃에서 보존하고 실온에서 사용한다.

Q_6...

MDE™ Gel Solution(TaKaRa Code F50620)은 SSCP 해석 또는 Heteroduplex(HDX) 해석에 사용할 수 있으나 어떤 차이가 있는지?

A_... MDE™ Gel Solution은 DNA conformation의 차이를 고감도로 검출할 수 있는 gel로, SSCP해석과 Heteroduplex(HDX)해석 등 변이 검출에 적합하다. 분석 하는 염기서열의 길이가 150~300 bp일 경우는 SSCP 해석이, 200~600 bp일 경우는 HDX 해석이 적합하다. 그러나 SSCP해석도 gel buffer의 pH를 낮추어 800 bp까지 긴 단편을 분석할 수 있다. 상세한 사항은 아래의 참고문헌을 참조한다.

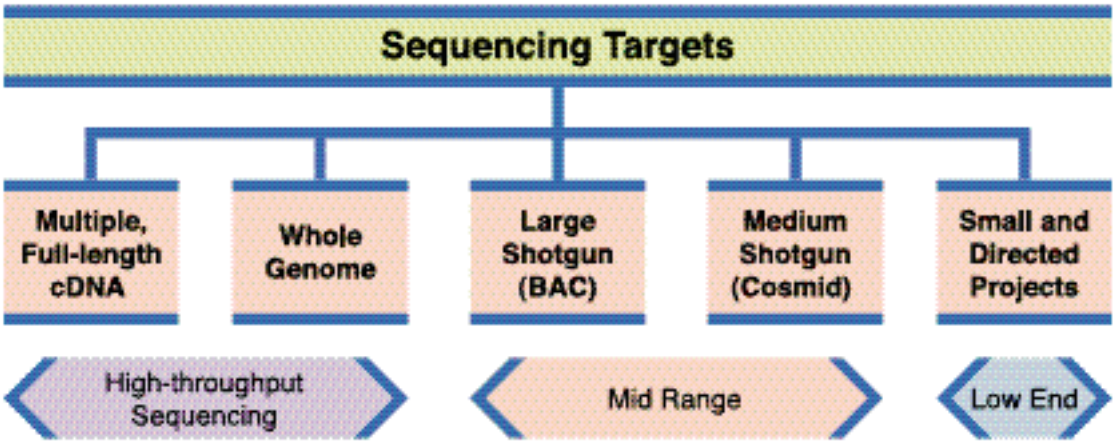
Kukita, Y., *et al.* (1997) SSCP Analysis of Long DNA Fragments in Low pH Gel. *Human Mutation* **10**:400-407

Takara Korea Biomedical Inc.

Dragon Genomics

Dragon Genomics는 어떤 시료도 완벽하게 분석해 드립니다.

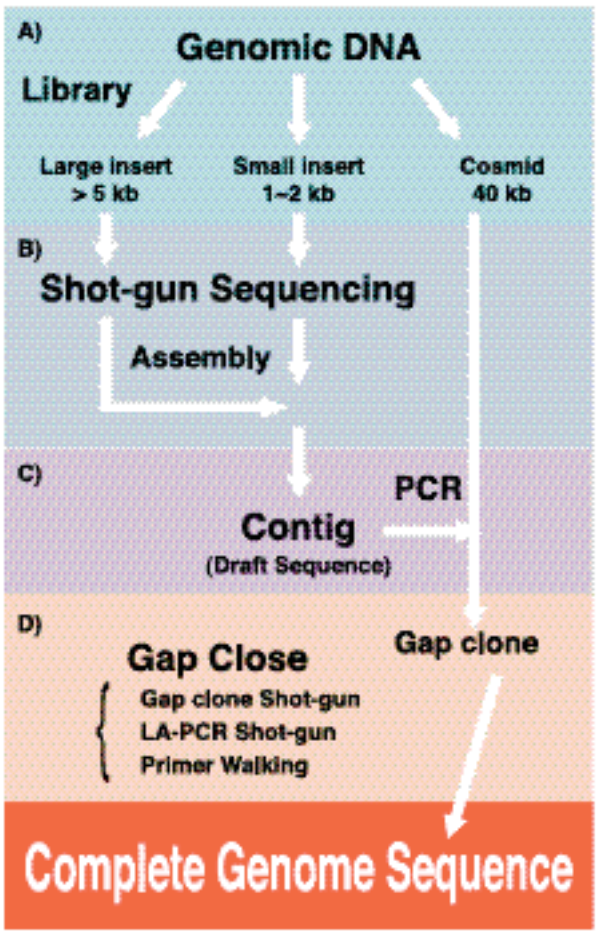
1. 분석가능한 시료

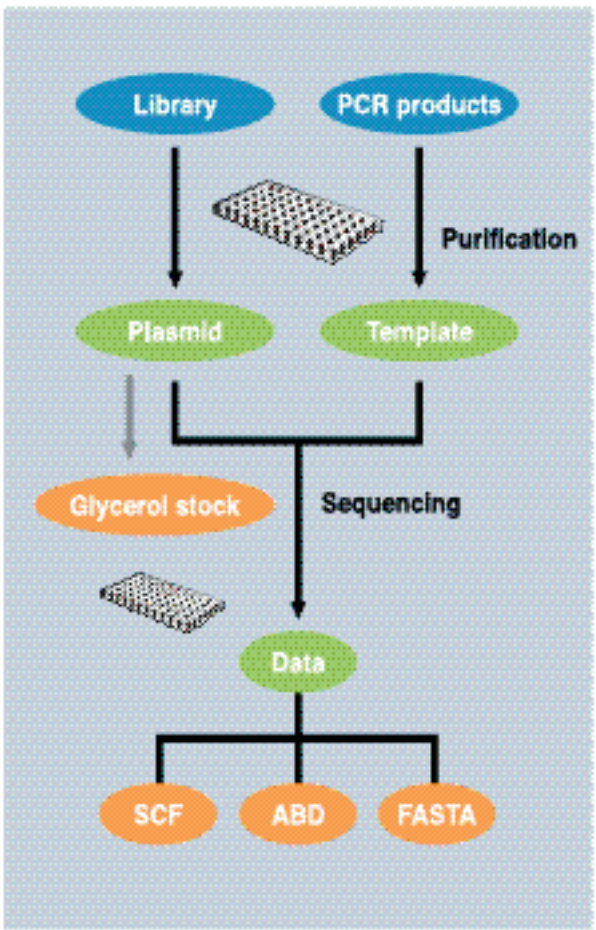


2. 분석방법

· Shot-gun Sequencing·

Shot-gun법으로 BAC, Cosmid DNA, Bacterial Genome DNA 의 Sequencing



· One-Pass Sequencing·

Plasmid DNA, PCR Products를 MegaBACE 1000으로 고속 Sequencing