

Q_1...	식물조직에서도 LCM(Laser Capture Microdissection)을 응용 할 수 있는지?
	<p>A_... 현재 여러 연구시설에서 식물조직을 대상으로 LCM을 하고 있다. 식물의 성체 중에는 동결보존시 세포벽과 세포막간 공간 수분이 결정화되기 쉬워 LCM 결과에 영향을 준다는 보고가 있다. 따라서 가능한 한 결정화를 피하기 위해서 시료 동결 시 가벼운 압력을 가하여 공극을 줄이는 것이 중요하다.</p>
Q_2...	LCM 시료를 분석할 경우, 세포 수의 최소량 기준은?
	<p>A_... 사용하는 조직의 종류나 상태, 절편의 두께에 따라 차이가 있으나 일반적으로 PCR로 증폭한 DNA를 분석하는 경우 8 μm 두께의 절편에 10~20개의 세포가 필요하다. 전기영동으로 단백질을 분석하는 경우 50,000개의 세포, western blot으로 분석하는 경우 20,000개의 세포를 기준으로 한다. 또, RT-PCR에는 10개 이상의 세포가 필요하다. 또, microarray 해석에는 250개 이상의 세포를 사용하면 total RNA를 추출한 후 antisense RNA를 증폭 할 수 있다. 단백질이나 RNA의 분석결과에는 시료의 조건이 큰 영향을 미칠 수 있으므로 처음 LCM 시료를 분석하는 경우 예비 실험을 하여 다량의 세포 채취를 권장한다.</p>
Q_3...	Q4. TaKaRa Taq™(혹은 TaKaRa Ex Taq™) Hot Start Version을 이용할 때 PCR 조건은 ?
	<p>A_... TaKaRa Taq™(혹은 TaKaRa Ex Taq™) Hot Start Version은 항 Taq 항체와 효소를 혼합한 것으로 Hot Start PCR에 그대로 사용하실 수 있다. PCR 최초의 DNA denaturation step(94℃ 20~30초 혹은 98℃ 5~10초 등)으로 항 Taq 항체는 변성되고, 효소는 빠르게 활성을 회복하므로 별도의 특별한 setp은 필요하지 않으며, 기존의 PCR 조건을 그대로 사용하면 된다.</p>
Q_4...	핵염색 시약 GelStar® Nucleic Acid Stain (TaKaRa Code F50535)과 SYBR® Green (TaKaRa Code F50512 외)의 차이점은?
	<p>A_... - SYBR® Green의 경우 ds DNA의 염색에는 SYBR® Green I 을, ss DNA 및 RNA의 염색에는 SYBR® Green II 를 사용하며 GelStar®의 경우는 ds DNA , ss DNA, RNA 모두 같은 시약으로 염색할 수 있다.</p> <p>- GelStar® 희석 염색액은 4℃에서 수일간 보존 가능하지만 SYBR® Green은 염색액을 희석한 후 24시간 이내에 사용해야 한다.</p> <p>- 위 두 제품 모두 300 mm의 UV transilluminator로 검출이 가능하며, SYBR® Green의 경우에는 고감도의 검출을 위해 254 nm의 UV transilluminator 사용을 권장한다.</p>
Q_5...	항체를 제작할때 host 선택의 유의점은?
	<p>A_... 항체제작시 항체의 종류(어느동물 유래의 단백질인지)와 항체의 필요량에 따라 선택하면 된다.</p> <p>A 유래의 항원이면 B나 C를 이용하여 제작하며, 다량이 필요하면 Rabbit를 이용하여 제작하기는 하지만 Rabbit의 경우 Background가 자주 발생하는 문제점이 있다.</p>
Q_6...	Peptide를 제작하여 항체를 제작하려고 하는데 잔기수의 제한은 있는지?
	<p>A_... 보통 잔기수가 많으면 많을수록 좋기는하나 항원성이 있는 구조인지 아닌지가 더욱 중요하다(친수성 또는 극성 아미노산서열 또는 구조에 따라 좌우됨).</p> <p>보통 이러한 문제가 없을경우 5-6잔기 이상이면 가능하다.</p>