

{Q&A}

Q_1...

TransIT[®]-LT1 (TaKaRa Code V2300/V2304T)과 LT2 (TaKaRa Code V2400/V2404T)의 차이는?

A_1...

TransIT[®]-LT1과 LT2는 모두 histone과 지질을 포함하는 polyamine basis의 시약이지만, LT1과 LT2는 포함되어 있는 지질이 다릅니다. LT1 및 LT2를 사용한 세포의 종류에 대해서는 종합 catalog나 제품 protocol에 기재되어 있으므로 참조 바랍니다. LT1은 여러 세포에서 사용한 실적이 있으며, 대부분의 경우 LT2 보다 LT1이 높은 효율을 얻는다. 따라서 사용실적이 없는 세포의 경우는 먼저 LT1을 시도할 것을 권장합니다.

Q_2...

TransIT[®]-LT1을 이용해 transfection할 경우, 배지에 항생물질 (penicillin, streptomycin)이 들어있어도 좋은가

A_2...

항생물질이 배지에 포함되어 있을 경우, 효율에 영향을 줄 수 있습니다. 따라서 항생물질이 들어있지 않은 완전배지 (혈청은 들어있어도 문제가 되지 않는다)를 사용하도록 합니다.

Q_3...

TransIT[®]-TKO (TaKaRa Code V2150)는 부유세포에 대한 transfection에도 사용할 수 있는가?

A_3...

사용할 수 있습니다. 부착세포일 경우의 *TransIT*[®]-TKO protocol과 동일하게 진행하십시오. 세포 assay가 필요할 때는 원심분리로 세포를 회수하십시오.

효율은 세포 밀도에 의존하는 것이므로 주의하십시오. Transfection 시에는 세포밀도를 400,000 cells/ml (transfection 전날에는 200,000 cells/ml) 정도로 하여 시도할 것을 권합니다.

TransIT[®]-TKO를 이용해 부유세포 (HL-60)에 siRNA를 transfection하여 실험한 문헌을 소개합니다.

* Munshi, C.B., et al. (2002) *J.Biol.Chem.* **277**, 49453-49458.

Q_4...

TransIT[®]-TKO는 plasmid DNA의 transfection에도 사용할 수 있는가?

A_4...

TransIT[®]-TKO는 siRNA의 transfection에 최적화된 시약이기 때문에 plasmid의 transfection에는 사용할 수 없습니다. Plasmid와 siRNA를 동시에 transfection할 경우에는 *TransIT*[®]-LT1과 *TransIT*[®]-TKO 모두를 동시에 이용하십시오.

Q_5...

TransIT[®] *In Vivo* Gene Delivery System (TaKaRa Code V5125)은 mouse 이외의 생물에도 사용할 수 있는가?

A_5...

TransIT[®] *In Vivo* Gene Delivery System은 mouse의 미정맥에 주사하여 주로 간장 등의 실질세포에 핵산을 도입하기 위한 시약이지만, rabbit에 사용할 수도 있습니다. 이 경우, 주사량은 mouse의 경우와 마찬가지로 체중의 1/10 양을 주사하십시오. DNA 양은 50 ~ 100 μ g이 필요합니다.

Q_6...

염색 후, 핵산에서 SYBR[®] Green 색소를 제거하는 방법은?

A_6...

Ethanol 침전에 의해 핵산과 결합한 SYBR[®] Green 색소를 제거할 수 있습니다. Isopropanol 침전에서는 색소 제거효율이 떨어집니다. Butanol 추출, chloroform 추출, phenol 추출에서는 색소를 제거할 수 없습니다.

Q_7...

SYBR[®] Green I을 Real Time PCR에 이용할 때, 용액 조제방법 및 보존방법은?

A_7...

기본적으로는 필요할 때마다 희석하여 다 사용할 것을 권장하지만, 희석한 것을 분주하여 차광한 후 냉동 보관하여 사용하는 것도 가능합니다. 이 경우에, 원액의 10배 희석액 및 100배 희석액을 소량씩 나눠 보존하다가 사용할 때에는 100배 희석액을 그대로 사용하거나 희석하여 사용합니다. 한번 용해하여 희석한 SYBR[®] Green I은 전부 사용하도록 합니다. 100배 희석액을 다 사용하였다면, 10배 희석액 1개를 사용해 100배 희석액을 만들어 소량씩 분주하여 보관하도록 합니다.

희석할 경우에는 적당한 Buffer (10 mM Tris-HCl, pH8.0 등) 또는 dH₂O를 사용하십시오. SYBR[®] Green I의 100배 희석액은 1개월, 10배 희석액은 수개월 이내에 사용하십시오.