

작은 단편 분리를 위한 올바른 agarose 선택 방법

Cambrex사 Edward Car

Agarose와 관련하여 연구자들로부터 가장 많이 듣는 질문 중 하나가 “응용실험 또는 단편 크기에 따른 가장 적절한 agarose는 어떤 것인가?”하는 질문이다. 당사에서는 agarose 분야에서 세계 최고의 권위를 자랑하는 Cambrex사의 제품을 공급하고 있으며, 다양한 응용 예가 수록된 제품 가이드로 고객의 이해도를 증진시키고 있다. 본 고에서는 길이가 1 kb 이하인 DNA를 분리하고자 할 때, 적합한 3가지 종류(NuSieve® 3:1, MetaPhor®, NuSieve GTG® Agarose)의 agarose 제품들의 사용방법을 설명하고자 한다.

SeaKem® LE Agarose는 일반적인 nucleic acid 분석에 사용할 수 있으며, 비교적 작은 단편 분리에도 사용할 수 있지만 separation range(500bp~23 kbp)가 비교적 넓어 작은 단편 들간의 구분은 힘든 단점이 있다.

PCR 분석을 위한 NuSieve® 3:1 agarose

1990년 NuSieve® 3:1 agarose가 출시되고, PCR 분석을 위해 특별히 구성된 최초의 agarose로서 꾸준히 인정을 받아왔다. 표준 melting temperature agarose(≤ 90 ℃)로서, NuSieve® 3:1 agarose는 다루기 쉬운 gel을 만들수 있어 PCR products의 결과나 순도를 확인하고, blotting하는데 이상적이다. NuSieve® 3:1 agarose는 50 bp와 1 kb 사이의 단편에 대하여 최고의 분리능을 제공한다. 본 고에서 언급하고 있는 다른 모든 제품들과 마찬가지로, NuSieve® 3:1 agarose는 RNase나 DNase 활성을 일으키지 않는다. 또한, 많은 참고 문헌에서 PCR 분석을 위해 agarose를 선택할 때 NuSieve® 3:1 agarose를 권장하고 있다.

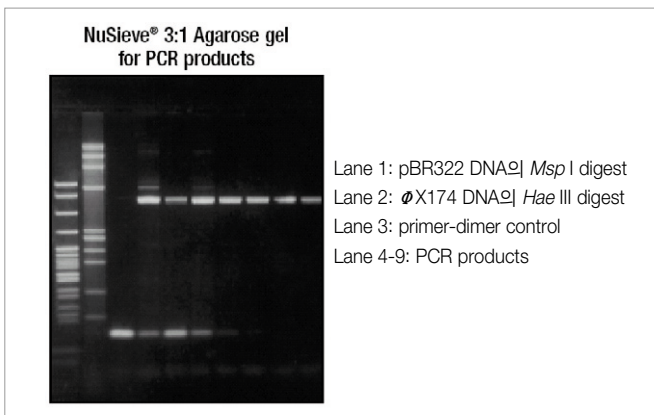


그림 1 PCR products를 위한 NuSieve® 3:1 agarose gel
Lambda DNA의 550 bp 서열을 여러 조건 하에서 증폭하였다(25 cycles). PCR products는 3시간 동안 5 V/cm로 1× TAE buffer에서 4% NuSieve® 3:1 agarose gel로 전기영동하였다.

NuSieve 3:1 Size Range (bp)	Final Agarose Concentration % (w/v)	
	1X TAE Buffer	1X TBE Buffer
500-1,000	3.0	2.0
100-500	4.0	3.0
10-100	6.0	5.0

정밀 분리를 위한 MetaPhor® agarose

MetaPhor® agarose는 표준 agarose 분리능의 두 배에 해당하고, 시판되고 있는 제품 중에 가장 강한 분리능을 가진 agarose로 분리능에 있어서 polyacrylamide와 비교될 수 있다. 일반적으로 MetaPhor® agarose는 단 2% 차이가 있는 밴드까지 분리(예를 들어 200 bp와 204 bp)할 수 있으며, 실험조건을 조정하면 1% 차이까지 분리 가능하다. MetaPhor® agarose는 20 bp에서 800 bp까지의 아주 작은 단편을 분리하는데 권장하며, multiplex PCR, STR 또는 AMPFLP 분석에 가장 적합하다. MetaPhor® agarose는 polyacrylamide를 사용할 때 일반적으로 발생하는 위험에 대한 부담없이도 모든 작업을 할 수 있는 장점이 있다.

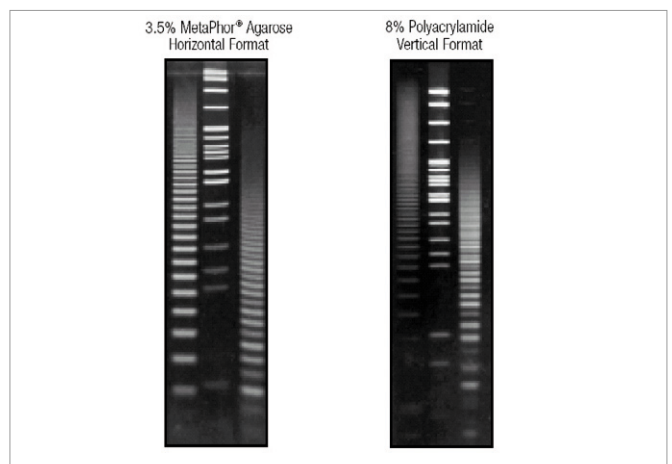


그림 2 Short DNA ladders의 분리능 비교
4 bp(Lane 3)나 8 bp(Lane 1)의 크기를 가진 DNA ladder는 Bgl II linker를 ligation하여 준비하였다. Lane 2: pBR322의 Msp I digest, MetaPhor® agarose gel은 15 ℃에서 4시간 동안 6.7 V/cm로 전기영동하였다. Polyacrylamide gel은 2시간 동안 8 V/cm로 전기영동하였다.

MetaPhor® Size Range (bp)	Final Agarose Concentration % (w/v)	
	1X TAE Buffer	1X TBE Buffer
150-800	2.0	1.8
100-600	3.0	2.0
50-250	4.0	3.0
20-130	5.0	4.0
<80	-	5.0

회수(recovery)를 위한 NuSieve GTG® agarose

NuSieve GTG® agarose는 최상의 결과를 내기 위한 엄격한 시험 기준에 따라 테스트된 제품으로 Genetic Technology Grade™(GTG) agarose이다. low melting temperature agarose (≤ 65 °C)로 작은 조각들을 탁월하게 분리할 수 있으며, 여러가지 실험 결과 핵산 단편들을 분리하는데 있어 신뢰할 수 있는 성능을 가지고 있다. NuSieve GTG® agarose는 작은 단편들을 회수하는데 이상적이고, in-gel 반응으로 사용할 수 있어 시간을 절약할 수 있고 회수시 손실되는 양을 줄일 수 있다.

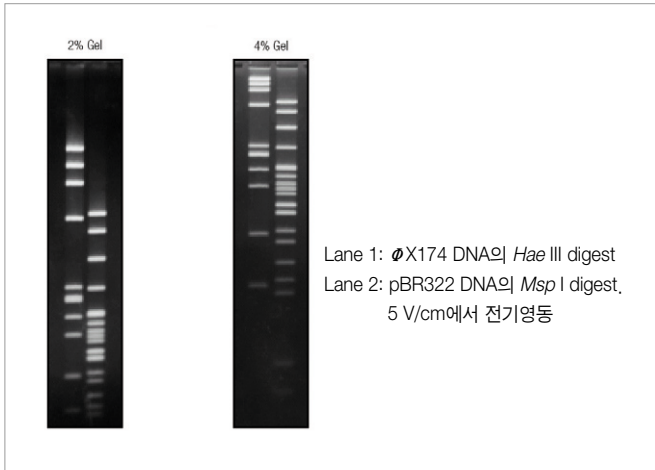


그림 3 NuSieve® GTG® agarose gel에서 작은 DNA 조각들의 정밀 분리는 DNA 단편들은 1× TBE buffer 내에 2%와 4% NuSieve® GTG® agarose gel에서 분리되었다.

NuSieve GTG Size Range (bp)	Final Agarose Concentration % (w/v)	
	1X TAE Buffer	1X TBE Buffer
500-1,000	2.5	2.0
150-700	3.0	2.5
100-450	3.5	3.0
70-300	4.0	3.5
10-100	4.5	4.0
8-50	5.0	4.5

당사에서는 선택할 수 있는 여러 agarose가 있으며, agarose 제품들 사이의 여러 가지 특성을 이해하는 것이 agarose 선택에 있어서 가장 중요하다. 당사에는 Agarose 전기영동법의 선두주자로, agarose의 선택과 새로운 응용 기술에 대하여 많은 실험과 자료를 축적하고 있으므로 agarose와 관련된 제품들에 대하여 문의사항이 있으면 언제든지 Technical Support Line으로 연락하기 바란다.

전세계 모든 연구실에서 만족하며 사용중인 바로 그 제품!

Cambrex Agarose 선택가이드

