

DNA를 어떻게 확인할 수 있을까?

1. 서론

생명공학이 발전함에 따라 DNA에 대한 세계의 관심이 커지고 있다. 얼마 전에는 6.25때 헤어진 남북 이산가족이 DNA(유전자)검사를 통해 처음으로 가족관계를 확인했다. 이것은 사람의 DNA를 추출해서 핑거프린팅을 이용해 분석하는 것이다. 이런 핑거프린팅처럼 DNA를 다루는 실험에서는 전기영동이 중요하다. 전기영동은 간단한 장치를 이용해 전하와 크기에 따라 DNA를 분리하는 방법이다.

2. 학습목표

- (1) 전기영동의 원리를 설명할 수 있다.
- (2) 전기영동을 이용하여 DNA를 분리할 수 있다.
- (3) 전기영동을 통해 DNA의 특성을 설명할 수 있다.

3. 준비물

Agarose gel (agaros, 0.5X TBE, 에디티움 브로마이드(EtBr)), DNA용액, loading 염색액, 전기영동장치, 전원공급장치, 0.5X TBE, (yellow) tip, pipetteman, microtube(1.5ml)



전기영동장치

4. 탐구활동

실험 I. Agarose gel 만들기

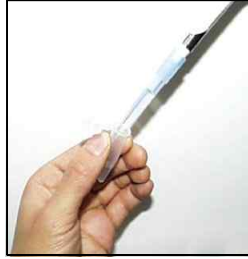
- ① Agarose 0.21g, 0.5X TBE buffer 30ml를 삼각플라스크에 넣는다. (0.7% Agarose gel) (5X TBE buffer 1l : Tris base 54g, Boric acid 27.5g, 0.5M EDTA(pH8.0) 20ml, 증류수)
- ② 전자렌지에 1~2분 정도 또는 알코올 램프로 가열하여 끓여 녹인다.
- ③ 젤 용액을 식힌 후 젤 제작 키트에 붓는다.
- ④ 젤이 굳은 후 전기 영동에 사용한다.



실험 II. 전기영동하기

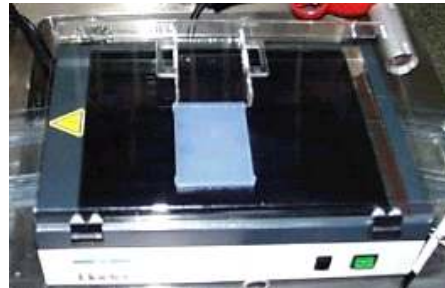
- (1) 실험 과정

- ① 전기영동 장치에 gel 판을 올려놓은 후에 0.5× TBE 용액을 부어 gel이 살짝 잠기게 한다.
- ② 준비된 DNA 용액 15 μ l 에 DNA loading 염색액을 3 μ l 씩 넣고 섞어준다.



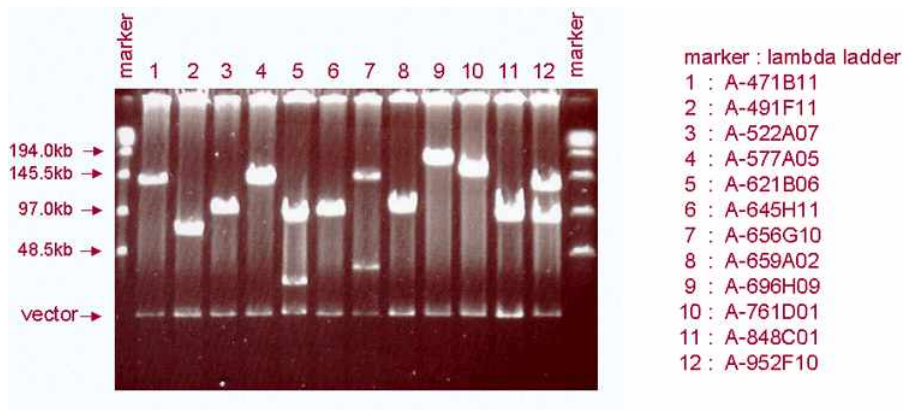
DNA loading 염색액 : 색깔을 나타내는 성분 외에도 glycerol 이 들어있어 DNA 용액을 무겁게 하여 agarose의 홈(well)으로 잘 가라앉히는 역할을 한다. 색깔을 나타내는 성분은 DNA와 같이 전기영동되어 DNA의 흘러간 정도를 알 수 있게 한다. 이외에 EDTA도 들어 있어 제한효소의 활성을 막는 역할도 한다

- ③ Gel의 well에 DNA+염색액 18 μ l 을 가만히 집어 넣는다.
- ④ Well에서 먼 쪽이 (+)극이 되도록 전선을 전원공급장치에 연결시킨다.
- ⑤ 50~100V 정도에서 30분~1시간 정도 전기영동시킨다.(loading 염색액이 gel에서 빠지지 않을 때까지 한다.)
- ⑥ 전기영동된 gel을 EtBr 용액(대략 물 100ml 에 EtBr 10 μ l 정도, 또는 임의로 EtBr양 조절 가능)에 10~30 분 정도 담구어 염색한다.
- ⑦ 염색한 젤을 증류수에 넣어 탈색시킨 후 UV illuminator에 올려 놓고 관찰한다.



UV illuminator

(2) 결과



(3) 토의

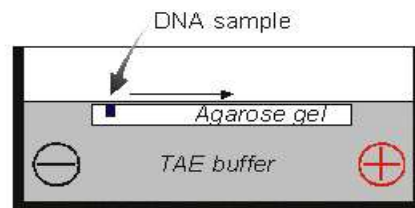
- ① DNA는 어떤 전하를 띠까? 또 이유는 무엇일까?
- ② 전기 영동할 DNA 용액에 DNA loading 염색액을 섞어주는 이유는 무엇인가?
- ③ 전기 영동 장치에 전압을 높여주면 DNA가 이동하는 속도는 어떻게 변하는가?
- ④ 전기 영동이 끝난 후에 Ethidium bromide 용액으로 겔을 염색하는 이유는 무엇인가? 또, 염색의 원리는 무엇인가?
- ⑤ Ethidium bromide는 강력한 발암 물질이라고 한다. 그 이유는 무엇인가?

5. 참고자료

(1) 전기 영동의 원리

전기영동(electrophoresis)은 전기장의 영향을 받아 하전된 물질들이 유동성 매체 내에서 이동하는 것을 말한다. 전하 또는 크기가 다른 분자들은 서로 다른 속도로 이동하며 이것이 전기영동 분리의 기본이 된다. 아가로스(agarose)는 갈락토스(galactose)와 겔리뒀 아만시(Gelidium amansii)의 한천(agar)으로부터 유도된

Agarose gel을 이용한 DNA의 전기영동



3,6-안하이드로칼락토스 단위체들 (anhydrogalactose units)로 구성되는 천연의 다당류이다. 겔은 전분 겔과 유사한 방법으로 끓는 물에 건조한 중합체를 넣고 상온에서 식힘으로써 얻어진다. 전분 겔보다 다공성 구조이며 적절한 강도를 가진다. 아가로스 겔(agarose gel)에서의 전기영동은 보다 진정한 의미의 전기영동으로써 하전된 분자들은 전기장의 영향에 의해 이동하나 지지 물질에 의해 저지되지 않는다. 아가로스 겔을 이용한 전기영동은 가장 큰 거대 분자와 그 복합체인 바이러스 효소 복합체, 지질단백질(lipoprotein), 핵산(nucleic acid)등의 전기영동에 이용되고 있다.

(2) agarose(한천)

- ① agarose는 한천이라고 하는데 천연의 다당류이며, 가루로 되어 있고 찬물에 녹지 않는다. 그러나, 전기영동 완충 용액 속에 넣어서 전자렌지로 가열하면 녹는다. 가열된 플라스크는 몹시 뜨거우므로 반드시 장갑을 끼고 잡아야 합니다.

agrose는 액체일 때에는 투명하지만 굳으면 불투명하게 된다. 굳어진 gel은 냉장고에 보관하여 필요할 때 사용한다.

- ② agarose gel은 다공성 구조이며 적절한 강도를 가진다. agarose gel을 이용한 전기영동은 DNA분자들이 전기장의 영향에 의해 이동하나 지지 물질에 의해 지지되지 않는다. agarose gel을 이용한 전기영동은 가장 큰 거대 분자와 그 복합체인 바이러스 효소 복합체, 지질단백질, 핵산 등의 전기영동에 이용되고 있다.

(3) Agarose gel 전기영동시 DNA의 이동에 영향을 주는 요인들

- ① DNA 분자의 크기가 클수록 느리게 이동한다.
- ② Agarose의 농도가 높을수록 느리게 이동한다.
- ③ DNA 형태(구조)에 따라 이동속도가 다르다. 일반적으로 supercoiled DNA가 가장 빠리, 그다음 linear DNA, open circular DNA의 순으로 빠르게 이동한다.
- ④ 부하되는 전압이 높을수록 이동속도가 빠르다.
- ⑤ 전기장의 방향도 이동속도에 영향을 미친다.
- ⑥ Ethidium bromide는 DNA 이동속도를 15% 정도 감소시킨다.
- ⑦ 전기영동 완충용액의 성분과 이온강도도 전기영동 속도에 영향을 준다.