



BioChain Products FAQ

Endothelial Progenitor Outgrowth Cell

Total RNA

Total Protein

cDNA

Dr. P kit

Frozen Tissue Section

Total Protein Array

Calcium Channel Cell Lines

Endothelial Progenitor Outgrowth Cell

- Q1.** EPOC 성장배지, EPOC 성장배지 보충제, EPOC 기본배지는 어떤 점이 다른가요?
- A1.** EPOC 성장배지는 EPC 기본배지와 EPOC 성장배지 보충제의 두 가지 구성 요소를 포함합니다. 다시 말해 즉, EPOC 성장배지 = 기본배지 + EPOC 성장 배지 보충제입니다. 기본배지는 2 - 8°C에서 보관되고, 유효기간은 적절한 보관 조건에서 수령한 날로부터 6개월입니다. 또한, EPOC 성장배지 보충제는 -20°C에서 보관되고, 유효기간은 적절한 보관 조건에서 수령한 날로부터 최소 1년입니다.
- Q2.** BioChian사의 EPOC는 얼마나 신선한가요?
- A2.** ICC 분석 프로그램을 사용해서 EPOC 표지를 본 결과, 95% 이상의 EPOC가 양성을 나타냈습니다.
- Q3.** EPOC는 한 명의 기증자로부터 얻어진 것인가요, 아니면 혼합 기증자로부터 얻어진 것인가요?
- A3.** 현재, 우리는 각각의 기증자로부터 EPOC를 제공받습니다. 앞으로는 다른 기증자로부터 공동으로 EPC를 제공받을 것입니다.
- Q4.** 저온 보존된 EPOC 해동 시 즉시 세척이 필요한가요?
- A4.** 저온 보존된 EPOC 해동 시 즉시 세척이 필요하지는 않습니다. 하지만 세포가 plate 바닥에 부착한 후 한번의 세척은 해야 됩니다.
- Q5.** 세포 배양 중 약간의 세포 잔해물을 발견하였다면, 어떻게 해야 하나요?
- A5.** 1 x PBS/1% BSA로 3번의 세척을 합니다. 그리고 잔해물이 없어질 때까지 매일 배양액을 교체합니다.
- Q6.** EPC는 CD133에 양성반응을 나타내나요?
- A6.** CD133은 조혈모세포 인자이기 때문에, EPC에 특이적이지 않습니다.
- Q7.** 증식하고 있는 EPOC와 비교해서 저온 보존된 EPOC는 어떤 점이 다른가요?
- A7.** 저온 보존된 EPOC와 증식하고 있는 EPOC를 함께 비교를 한 결과, 증식율(복제 시간), passages의 숫자, wWF immunostaining, LDL-uptake/lectin binding 같은 qRT-PCR profile에 관해서 이 둘 사이에 다른 점은 없습니다

- Q8.** EPOC는 얼마의 passage를 배양 할 수 있나요?
- A8.** 실험 자는 EPOC를 제공 받은 후 6회 혹은 그 이상의 passages를 할 수 있습니다. 하지만 중요한 실험을 진행 할 경우 3회의 passages를 넘기지 않는 것을 권장합니다. 성장 속도 감소, 세포 밀도 감소와 세포 잔여물의 증가는 후기의 passages에서 관찰 되지만, 세포의 형태는 여전히 좋을 것입니다.
- Q9.** 질소탱크에서 동결된 세포의 품질은 얼마 동안 보장 할 수 있나요?
- A9.** 질소탱크에서 EPOC는 EPOC 본연의 생물학적 활동을 잃지 않고 3년 동안 보관 됩니다.
- Q10.** 같은 제품간의 lot-to-lot variation은 어떠한가요?
- A10.** 제공자의 편차는 매우 일반적입니다. 다른 여러 기증자들로부터 제품을 개발하기 때문에, Lot-to-lot variation은 크지 않습니다. 다른 점은 세포증식의 잠재력(즉, 어떤 Lot은 다른 lot 보다 passages가 더 증식할 것입니다)과 세포 밀도를 포함합니다. 같은 제공자로부터 받은 다른 lots는 항상 일관적입니다. 또한 형태, 증식속도 혹은 다른 특성에서 큰 차이를 보이는 lots는 판매하지 않습니다.
- Q11.** EPOC를 배양하기 위해 BioChain사의 EPOC 성장배지를 사용해도 되나요?
- A11.** EPOC 성장 배지는 우리의 보충제와 함께 만들어졌고, 세포 증식, 형태, uptake/lectin binding에 대한 테스트를 마쳤습니다. 우리가 아는 바로는, 특별히 EPOC 성장을 위해 다른 상업 적으로 이용 가능한 배지는 없습니다. EPOC를 배양하기 위해 BioChain의 EPOC 성장 배지를 사용하기를 권장합니다.

Total RNA

- Q1.** Total RNA extraction kit으로 어떤 종류의 RNA를 추출 하는데 사용할 수 있나요?
- A1.** 백혈구, 골수, 식물 등에서 RNA를 추출하는데 사용 할 수 있습니다.
- Q2.** Total RNA extraction kit을 사용해서 식물에서 RNA를 추출한다면, 얼마의 식물 조직이 필요하고, 얼마의 수율이 나와야 되나요?
- A2.** 만약 1그램의 식물 조직으로 RNA를 추출을 한다면, 약 600 ug의 total RNA 를 측정할 수 있을 것입니다.

- Q3.** 심장 또는 심방으로부터 total RNA를 얻기 위해 조직 전체를 사용하나요? 아니면 조직의 일부를 사용하나요?
- A3.** 조직의 일부를 사용하여 total RNA를 얻습니다.
- Q4.** 애기장대(Arabidopsis) 식물로부터 total RNA를 추출하기 위해서, 특별한 부위를 사용하나요? 아니면 애기장대 전체 조직을 사용하나요?
- A4.** 애기장대 전체 조직을 사용하여 total RNA를 추출합니다.
- Q5.** 특정 lot의 RNA가 DNase I 처리가 되었는지, 안 되었는지의 상태에 대해서, lot별 특정 COA를 보내주나요?
- A5.** 실험 자는 특정 lot의 RNA에 대해서 DNase I 처리가 되었는지, 안 되었는지의 상태를 알고자 할 때, 특정 lot에 대한 COA를 요청해야만 합니다. 그렇지 않으면 실험 자는 일반적인 COA를 받게 될 것입니다.
- Q6.** 골수종 조직의 RNA를 판매하나요?
- A6.** 현재 준비 중입니다.
- Q7.** Total RNA의 농도는 어떻게 되나요?
- A7.** Total RNA의 농도는 1-3 ug/ul 범위 입니다.
- Q8.** 다른 개체로부터 같은 total RNA를 얻을 수 있나요?
- A8.** 최소 10명의 다른 기증자의 주요 장기에서 얻은 total RNA를 항상 제공 할 수 있습니다.
- Q9.** Total RNA를 추출하기 위해 어떤 방법을 사용하나요?
- A9.** 페놀 추출 방법을 변형해서 사용합니다.
- Q10.** RNA는 DNase I 처리를 하나요?
- A10.** 대부분의 RNA, 특히 주요 기관으로부터 추출한 RNA는 DNase I 처리를 합니다. 하지만 주요하지 않은 조직과 약간의 종양 조직의 RNA에는 DNase I 처리를 하지 않습니다.

- Q11.** Total RNA로 RT-PCR을 수행하였지만 PCR product를 얻을 수가 없었습니다. 그 이유는 무엇인가?
- A11.** 그것은 타겟 유전자가 발현 양이 매우 적은 유전자이기 때문입니다. RT 반응을 하기 위해 total RNA의 양을 증가시키거나 우리의 mRNA를 사용합니다.
- Q12.** Total RNA를 구입 후 DEPC를 처리한 물에 total RNA를 희석하여 농도를 측정하였는데, 측정된 농도는 BioChain에서 제시한 것보다 낮았습니다. 그 이유는 무엇인가요?
- A12.** Total RNA의 농도를 측정하기 위해 다음의 방법을 사용합니다. RNA를 10 mM Tris-Cl, pH 7.5에 희석합니다. 이때 DEPC 처리한 물은 사용하지 않습니다. 그런 후, 2 ul RNA를 498 ul 10 mM Tris-Cl, (pH 7.5)에 넣고 OD를 측정합니다. OD값은 x40ug/ml, 최종 농도는 x250을 사용합니다. DEPC 물을 사용하면 항상 낮은 UV260/280 비율과 낮은 농도를 얻을 수 있고, DEPC에 의해 측정된 농도는 안정하지 않습니다.

Total Protein

- Q1.** 단백질을 용해시키기 위해 어떤 기구를 사용하나요?
- A1.** Ultra turrex T25 homogenizer를 사용합니다. 또한, polytron homogenizers나 manual homogenizers도 단백질을 추출하는데 사용할 수 있습니다.
- Q2.** 단백질의 인산화 상태는 보존되나요?
- A2.** 단백질에 인산화 억제제를 첨가하기 때문에 단백질의 인산화는 보존됩니다.
- Q3.** Total protein으로부터 핵단백질을 분리하는 방법과 동일한 방법으로 total RNA로부터 microRNA를 분리 할 수 있나요?
- A3.** 없습니다
- Q4.** Total protein에는 핵단백질이 포함되어 있나요? 현재 data의 구성 율을 공개할 수 있나요?
- A4.** Total protein은 매우 작은 양의 핵단백질을 포함하고 있기 때문에, total protein에 핵단백질이 얼마만큼 포함되어있는지 확실하게 알 수 없지만, 그 양은 매우 작습니다. 만약 실험자가 주로 핵단백질에만 관심이 있다면, total protein 대신에 핵단백질을 구매할 것을 권장합니다.

- Q5.** SDS에 Protein lysate가 포함되어 있고, boil 작업 또한 이미 마쳤나요? Protein lysate를 loading 하기 전에 어떤 처리를 했는지 확인 할 수 있나요?
- A5.** Protein lysate는 SDS에 포함되어 있지 않고, boil 작업은 하지 않았습니다. SDS용액에서 protein lysate와 loading dye을 섞어준 후, lysate를 5분 동안 끓여줍니다. 마지막으로 loading 하기 전에 얼음에 놓아 둡니다.
- Q6.** Total protein extraction kit는 곰팡이에서 단백질을 추출하기에 적합한가요?
- A6.** Total protein extraction kit을 사용해서 곰팡이로부터 protein 추출을 할 수 있습니다. 그 실험 절차는 조직에서 단백질을 추출하는 방법과 동일합니다.
- Q7.** Total protein을 추출 하기 전에 micro-dissection을 하나요? 혹은 종양 주변에 존재 하는 약간의 정상 조직은 종양과 함께 추출되나요?
- A7.** Total protein은 추출하기 전에 micro-dissection을 하지 않습니다. 그리고 샘플 준비 과정 중에 종양 주변의 아주 일부의 정상 세포가 함께 포함될 가능성은 높습니다.
- Q8.** Mouse의 정상세포에서 total protein을 추출하기 위해 어떤 anti-protease를 사용하나요?
- A8.** Protein은 BioChain의 total protein isolation kit를 사용해서 추출 할 수 있습니다. 하지만 protease inhibitor cocktail의 정보를 공개 하지 않습니다.
- Q9.** 흑색종 단백질은 원발 흑색종에서 완전히 파생된 흑색종에서 추출 하나요? 또는 이는 전이 된 단백질 인가요? Total protein을 추출하기 위해, 흑색종 주변에 얼마의 정상조직이 포함되어 있나요?
- A9.** 흑색종은 원발 흑색종입니다. 조직에서 종양세포의 비율은 약 80%이기 때문에, 20% 정도의 정상 조직이 종양 조직에 인접해 있습니다.
- Q10.** BioChian은 단백질 lysate의 양을 어떻게 측정 하나요?
- A10.** Bio-rad's Kc kit을 사용해서 단백질의 양을 측정합니다. 때때로 겔에서 단백질의 강도는 단백질 양을 매우 정확하게 대응하지 못하고, 이유는 다음과 같습니다.
- 1) 단백질이 용액에서 고르게 분산되지 않을 수 있기 때문에, 단백질은 겔에 로딩하기 전에 매번 resuspend를 해야 합니다.
 - 2) 동결과 융해는 단백질의 분해를 가져올 것입니다.
 - 3) 일부 lysate는 많은 양의 작은 분자 단백질을 가질 것입니다. 작은 분자 단백질들은 겔에서 실행되지 않을 것이고, 이것은 겔에서 단백질이 덜 보여지는 결과를 발생할 것입니다. 실험을 하기 위한 가장 좋은 방법은 GAPDH antibody와 함께 단백질을 정상화(normalize) 하는 것입니다.

- Q11.** 연골에서 사용하기 위한 total protein kit를 판매하나요?
- A11.** BioChains사의 total protein extraction kit는 연골을 포함하는 모든 조직과 세포에서 total proteins를 추출할 수 있습니다.
- Q12.** 단백질 lysate는 RIPA 버퍼와 함께 준비되나요?
- A12.** 우리는 RIPA 버퍼를 사용하지 않습니다. 그 대신 RIPA buffer를 형성하는 2가지 구성요소인 NP-40 와 Sodium deoxycholate를 포함하는 buffer M을 사용합니다. Buffer M은 Tris-HCl, sodium chloride, SDS를 포함하지 않습니다. Buffer M은 NP-40과 Sodium deoxycholate 뿐만 아니라 HEPES (pH 7.9), KCl, EDTA, Sucrose, Glycerol, Sodium Ortho Vanadate, MgCl₂을 포함합니다.
- Q13.** 단지 PBS만을 사용해서 단백질을 추출 할 수 있나요?
- A13.** 가능합니다. 하지만 이 같은 경우 주문제작 제품만 가능합니다. 실험자가 필요한 단백질 lysate의 양에 대한 정보와 함께 대명사이언스 학술부로 문의해 주시기 바랍니다.
- Q14.** 전체 조직의 균질화는 사람의 특정 조직 샘플에서 단백질 가수분해 효소의 활성을 screening을 하기 위해 사용될 수 있나요? (예를 들어, 이러한 조직에 있는 특정 단백질의 기능 저하를 분석)
- A14.** 전체 조직 균질화는 사람의 특정 조직 샘플에서 단백질 가수분해 효소의 활성을 screening 하기 위해 사용 할 수 없습니다. 그 이유는 Lysis buffer에는 대부분의 단백질 가수 분해 효소 활성을 억제하는 단백질 가수분해 효소 억제제가 포함되어 있기 때문입니다.
- Q15.** Total protein lysate buffer의 구성성분은 무엇인가요?
- A15.** Protein lysis buffer에는 HEPES, MgCl₂, KCl, EDTA, Glycerol, sodium deoxycholate, sucrose, NP-40, cocktail of protease inhibitors가 포함되어있습니다.
- Q16.** Total protein은 구입 후 바로 사용 할 수 있나요? SDS-PAGE 겔에 바로 단백질을 load 해도 되나요?
- A16.** 단백질은 protein loading dye와 섞어준 후 95°C에서 5분 동안 가열하고, 겔에 loading 하기 전에 얼음에 놓아 두어야 합니다.

cDNA

Q1. mRNA로부터 합성된 모든 cDNA는 DNase I digestion 처리를 했나요?

A1. 그렇습니다.

Q2. Optimax cDNA synthesis kit는 cDNA 합성을 위해 조직이나 세포를 바로 사용하나요?

A2. Optimax cDNA synthesis kit는 total RNA나 mRNA로부터 합성되어야 되기 때문에, 조직이나 세포에서 바로 사용할 수 없습니다.

Q3. cDNA에 대해서, 모든 종에서 동일한 beta-actin control primer를 제공하나요?

A3. 우리의 Beta-actin primer control은 현재 모든 동물 종에 대해서 사용할 수 있습니다.

Q4. cDNA의 small group에 대한 open reading frames를 분리하고자 합니다. BioChain의 library로 PCR 증폭을 시키는 것이 가능하나요? 또한, colony blots를 사용한 library 스크리닝이 필요하나요?

A4. 만약 실험자가 타겟 유전자의 서열을 알고 있다면, PCR로 타겟 유전자를 “fish”하기 위한 primers 제작이 쉬울 것입니다. 하지만 이것은 colony blots에 의해 library를 screening 하기 위해서는 필요하지 않습니다. 타겟 유전자의 서열을 모르는 약간의 연구자들이 현재 library screening 하는 것으로 보입니다. 그들은 단지 타겟 유전자의 일부 서열만을 알고 있고, 이것을 library screen을 위해 prove로 사용합니다.

Q5. 높은 품질의 Total RNA를 만들기 위해 어떤 품질 관리 방법을 사용하나요?

Bioanalyzer 나 northern을 실행하나요?

A5. RNA의 상태는 denaturing agarose gel에서 전기영동을 할 때, 18s와 28s의 ribosomal RNA 밴드를 육안으로 검사하여 측정합니다. Total RNA의 품질과 순도는 분광광도계를 사용하여 테스트를 하였고, A260/280는 1.8과 2.0(10 mM Tris-Cl, pH 7.5 에서 측정) 사이입니다. RNA는 DNase 처리가 되었고, PCR에 의해 DNA free RNA로서 테스트 했습니다. 하지만, 일부 조직에서 total RNA를 추출할 때 DNase I을 처리를 하지 않기를 권고합니다. 일반적인 total RNA 생산물의 80%가 Agilent bioanlyze의 데이터를 사용하지만, BioChain은 모든 total RNA 생산물에 사용하는 기본적인 QC 방법인 Agilent Bioanalyzer를 사용하지 않습니다. 만약 실험자의 요청에 의해 Agilent Bioanalyzer에서 테스트를 해야 하는 경우에는 추가 비용이 적용 될 것입니다. Agarose gel에서 RNA의 이미지를 눈으로 확인하기 위해, 우리는 BioChain(1% agarose gel in 1xMOPS buffer with formaldehyde)의 젤 시스템을 권장합니다. BioChain은 TAE gel, TBE gel, Urea gel과 같은 다른 젤 시스템을 사용하

여, 파괴된 실험자의 RNA 이미지에 대해서 책임 지지 않습니다.

Q6. BioChian의 cDNA나 RNA로부터 어떤 product도 얻지 못했다면, 다른 lot의 cDNA나 RNA를 제공 받을 수 있나요?

A6. 제품에 문제가 있다면, 다른 lot의 제품으로 교체 할 수 있습니다. 하지만 이것은 특별한 경우에 한해서 다른 lot으로 교체가 가능하고, 또한 우리가 제공하는 control primer로 실행되지 않을 때에 해당됩니다. 하지만 이런 경우는 매우 드물고, 다른 lot의 제품을 교체해 주기 전에 우리는 충분한 검토 과정을 거칩니다. 실험자가 성공적으로 관심 유전자를 증폭시킬 확률에는 여러 가지 요인이 있기 때문에, 우리는 실험자의 관심 유전자 증폭 여부에 대해서 보장할 수 없습니다.

첫 번째 요소는 실험자의 관심 유전자가 풍부하게 존재하는지 또는 존재하지 않는지입니다. 다시 말해, 실험자의 유전자는 실험자의 조직에서 많이 발현 한다고 과학적으로 알려져 있나요? BioChain의 모든 cDNA는 mRNA가 아닌 total RAN로부터 역 전사되었습니다. 만약 발현 양이 매우 적은 유전자를 가지고 있다면, 우리는 첫 번째로 약간의 mRNA를 사용하기를 제안하고, cDNA를 합성하기 위한 template로 그 mRNA를 사용하기를 권장합니다. 이것은 발현 양이 적은 유전자를 복제하기 위한 기회를 증가시킬 것입니다. 몇몇 연구자들은 mRNA를 사용해서 발현 양이 적은 유전자를 성공적으로 복제 했습니다. 하지만 결론적으로, 실험자의 유전자 증폭 여부에 대해서 보장 할 수 없다는 것을 명심하시기 바랍니다. mRNA를 사용하여 실험자의 유전자 증폭 확률을 증가 시키지만, 증폭을 보장 하지는 않습니다. 두 번째 요소는 만약 실험자의 타겟 유전자에 GC가 풍부하다면, Betaine 혹은 DMSO를 실험자의 PCR 반응 용액에 첨가 해야만 합니다. 이것은 유전자의 증폭을 높일 것입니다. 만약 큰 크기의 DNA(약 6KB 이상)를 증폭시키길 원한다면, 이것은 불가능 할 것입니다.

Q7. cDNA의 농도는 얼마인가요?

A7. 우리의 cDNA는 PCR을 바로 수행 할 수 있도록 제작되고, 1번의 PCR 반응을 수행하기 위해서는 1 ul 의 cDNA가 적절합니다. 11ug의 total RNA로 40ul의 cDNA가 생산되었으며, cDNA의 농도는 약 2.5 ng/ul입니다.

- Q8.** 타겟 유전자를 증폭시키기 위한 template로 BioChain의 cDNA를 사용하였다. 그러나 실험 결과, house keep gene에서는 좋은 결과(signal)을 얻었는데 반해, BioChain의 cDNA에서는 결과(signal)를 얻을 수가 없었다. 무엇이 문제인가?
- A8.** 실험자의 관심 유전자가 GC가 풍부한 유전자라면, 가능한 일이다. PCR을 할 때, 0.5M Betaine을 첨가 하여 PCR을 최적화 할 수 있고, 이것으로 이 같은 문제를 해결 할 수 있을 것이다. 또한, 실험자의 타겟 유전자는 low abundant gene일 것이다. 이 같은 경우, BioChain의 mRNA나 다른 source를 구매하기를 권장하고, cDNA 합성을 위한 template로 mRNA를 사용하기를 권장한다.
- Q9.** PCR을 여러 용량으로 하기 위해, 같은 양의 cDNA를 사용한다면, 생성된 PCR product의 양이나 농도 또한 달라지나요?
- A9.** 이론적으로, PCR product 의 양은 같습니다. 그러나 농도는 PCR 용량에 매우 의존적 입니다. 만약 처음 PCR을 수행했을 때 매우 희미한 밴드를 얻었다면, 처음 PCR을 통해 얻은 template를 사용해서 두 번째 PCR을 수행하면 선명한 밴드를 얻을 것입니다.

Dr. P Kit

- Q1.** Dr. P kit을 사용해서 신선한 혈액으로부터 샘플을 추출 할 수 있나요?
- A1.** 사용자 설명서의 단계를 수행합니다. 그리고 kit에 포함된 solution은 샘플을 직접적으로 용해 할 수 있기 때문에 혈액 샘플을 homogenize 할 필요가 없습니다.
- Q2.** 핵산(DNA, RNA)의 농도는 언제 측정 하나요? 만약 분광계 측정 시, 다양한 농도를 얻었다면 이것은 정상 인가요?
- A2.** 농도는 일정한 범위 내에서 다를 수가 있습니다. 10 mM Tris buffer, pH 7.5에서 RNA나 DNA를 완전히 분해 합니다. 그러면 일정한 결과 값을 얻을 수 있을 것입니다.
- Q3.** Dr. P kit을 사용해서 동물세포로부터 DNA/ RNA/ Protein을 추출 할 수 있나요?
- A3.** Kit의 3가지 구성요소를 사용해서 DNA/ RNA/ Protein을 추출 할 수 있습니다.
- Q4.** Dr. P kit을 사용해서 백혈구와 골수에서 RNA를 추출 할 수 있나요?
- A4.** 가능합니다.

Q5. Dr. P set 은 어떤 제품인가요?

A5. Dr. P set는 50 ug의 RNA, 10 ug의 genomic DNA 그리고 100 ug의 total protein을 포함하는 구성품 입니다. 이 3가지 요소는 같은 조직에서 동시에 분리된 것입니다.

Q6. Dr. P genomic DNA와 일반적인 genomic DNA의 다른 점은 무엇인가요?

A6. 일반적인 genomic DNA는 조직이나 세포로부터 단지 genomic DNA만 추출되고, RNA나 protein은 같은 부위에서 함께 추출되지 않는다. 일반적인 genomic DNA의 품질은 최상이다. 하지만 Dr. P genomic DNA는 genomic DNA가 추출될 때, RNA 와 protein도 함께 추출된다. 이것이 두 가지 제품의 추출 방법상 다른 방법이다.

Frozen Tissue Section

Q1. Frozen tissue section을 할 때 RNA의 품질을 어떻게 확인 하나요? 각각의 blocks에 대해서 in situ hybridization을 시행하나요?

A1. BioChain은 frozen tissue section으로 total RNA를 추출하지 않습니다. 그 대신, total RNA는 sectioning(절편)을 하기 전에 frozen tissues로부터 추출합니다. 품질 보장을 위해, 각 lot의 tissue slide 중 최소 한 개는 H&E 염색을 합니다.

Q2. 냉동 조직의 절편을 만들기 위한 시작물질로 OCT embedded tissue block이나 OCT가 없는 frozen tissue block 중 어떤 것을 사용하나요?

A2. 냉동 조직의 절편을 만들기 위한 시작물질로 항상 OCT embedded tissue block을 사용합니다.

Q3. 냉동 절편이 아세톤에 의해서 고정되는걸 본 적이 있습니다. 냉동 절편을 고정하지 않은 상태로 받을 수 있나요?

A3. 그 내용에 대해서 구체적으로 요청 한다면, 가능합니다.

Total Protein Array

Q1. Total protein array에서 얼마나 많은 단백질이 각 spot에 사용되나요?

A1. 약 30 ng정도 사용 됩니다.

- Q2.** Total protein array는 무엇과 같은가요? Array의 각각의 spot 마다 하나의 단백질이 포함되어 있나요?
- A2.** Total protein array는 다른 조직에서 얻은 단백질로 nitrocellulose membranes에 spot 으로 제작 되었습니다. array상의 각각의 spot은 기관으로부터 얻어진 단백질 pool을 포함하지만, 단일 단백질은 아닙니다.

Calcium Channel Cells

- Q1.** T-type calcium channels이 무엇인가?
- A1.** 전압 관문 칼슘 채널(Voltage-gated calcium channels)은 전기 신호 전달과 세포 내 칼슘 수준을 모두 제어한다. 전압 관문 칼슘 채널은 일반적으로 CaV1~3 families로 나눌 수 있고, T-type Ca²⁺ channels, low-voltage-activated calcium channels, CaV3 family 이온 채널이 속한다.
- Q2.** T-type 칼슘 채널의 기능은 무엇인가?
- A2.** T-type 칼슘 채널은 휴지기인 membrane potential 주변의 분 전압 변화에 따라 활성화 된다. 그들의 활성화는 cardiac action potential, neuronal rebound burst firing, synchronization of thalamic activity에 영향을 주는 것을 볼 수 있습니다. 그들의 기능 장애는 다양한 신경 및 심장 혈관 장애와 연관되어 있습니다. 잠재 길항근과 억제제와의 상호 작용은 통증과 간질에 대한 약물 치료와 연관되어 있습니다.
- Q3.** Cell lines의 passage 동안 G418을 계속 유지시켜 줘야 하나요?
- A3.** 배양을 하는 동안 G418 selection은 권장하지만, 절대적으로 필요하지는 않습니다. 세포 배양을 하는 동안 500ug/ml의 G418을 사용하기를 권장하지만, 짧은 기간의 배양과정에서의 selection은 필요하지 않습니다.
- Q4.** 이들 cell line은 어디에 적용 되나요?
- A4.** HEK-Cav3.x cell lines은 manual 과 automated patch-clamping studies를 포함하는 in vitro electrophysiology에 적합합니다. Fluo-8H fluorescent calcium dye 또는 다른 calcium / membrane potential dyes를 사용하여 높은 처리량의 스크리닝 확인에 적합합니다.

Q5. 이들 채널들을 분석 하기 위해 칼슘 다이를 확인 하였나?

A5. 이들 cell line들의 많은 처리량을 스크리닝 하기 위해 Fluo-8H dye를 권합니다. Fluo-8H는 형광 플레이트 리더와 96well 마이크로미터 플레이트로 확인했습니다.

Q6. 이들 cell line은 얼마나 많은 passages를 지날 수 있나요?

A6. HEK-Cav3.x cell lines는 최대 30 passages동안 지냅니다. cell lines은 지속적으로 전파하고 재조합 유전자를 발현 합니다. 또한, 배양과 동결 조건에 대한 권장사항을 준수합니다.