
Working with DNA

(주)다인바이오 연구소

1. DNA handling 시 주의사항

1.1. DNA의 추출 전, 신선한 샘플 또는 보관된 샘플의 handling

- 세포 또는 조직으로부터 genomic DNA의 분리를 위해, 신선한 샘플 또는 액체질소에 신속히 냉동시켜 -70°C에 보관된 샘플을 사용한다. 이 과정은 endogenous nuclease의 활성을 억제하여 crude DNA의 degradation을 최소화한다.
- 최상의 결과를 위하여, 신선한 혈액 또는 상온에서 2일 미만으로 보관된 혈액을 사용한다. 2~8°C에서 7일 또는 -15~-25°C에서 1개월 미만으로 보관된 혈액은 genomic DNA의 yield를 10~15% 감소시킨다.
- 항응고제로써 heparin이 아닌 EDTA가 첨가된 tube에 혈액 샘플을 모은다. Heparin은 PCR 중의 증폭을 억제하거나 저해하는 원인이 될 수 있다.

1.2. DNA의 보관

- Genomic DNA는 2~8°C에서 보관한다. -15~-25°C에서 보관할 경우, 특히 동결-해동에 반복적으로 노출될 경우 DNA shearing의 원인이 될 수 있다.
- Plasmid DNA 및 이외의 작은 원형 DNA는 2~8°C 또는 -15~-25°C에서 보관할 수 있다.
- Genomic, plasmid DNA는 분주하여 보관할 수 있다. (반복적인 단일 샘플의 사용은 shearing의 원인이 될 수 있다.)
- Modified DNA는 2~8°C에서 보관한다.

1.3. Drying, dissolving and pipetting DNA

- Ethanol 침전 후에 genomic DNA가 overdrying되는 것을 피하기 위해 vacuum을 이용하기 보다 자연 건조시키는 것이 바람직하다. Plasmid DNA 및 이외의 작은 원형 DNA는 vacuum을 이용할 수 있다.
- DNA의 용해를 돕기 위해, buffer를 첨가한 후에 tube를 조심스럽게 수차례에 걸쳐 inverting 하거나 tube 옆면을 부드럽게 tapping 한다. 또는, buffer안에서 DNA를 2~8°C에서 overnight 방치한다.
- 과도한 pipetting은 피한다. Genomic DNA를 입구가 작은 tip으로 pipetting할 경우 shearing

또는 nicking의 원인이 될 수 있다. Genomic DNA의 shearing을 줄이는 한 가지 방법은 genomic DNA의 pipetting 위해 입구가 넓게 디자인된 특별한 tip을 이용하는 것이다. 일반적인 tip은 plasmid DNA 및 이외의 작은 원형 DNA에 문제를 야기하지 않는다.

※ Reference

- <http://www.roche-applied-science.com/labfaqs>