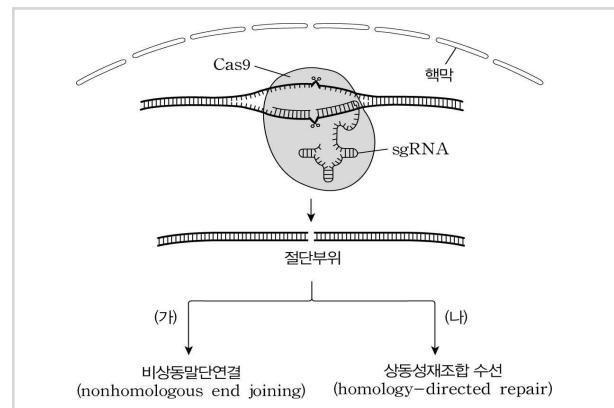


12장. 유전공학

01. 제한효소는 외부핵산가수분해효소의 일종이다. (○, ×)
02. 제한효소는 원핵생물과 효모가 생산한다. (○, ×)
03. 플라스미드는 원핵생물과 효모가 생산한다. (○, ×)
04. 일반적으로 유전공학에 사용되는 제한효소(type II)는 특정 역반복서열(inverted repeat)을 인식하여 절단한다. (○, ×)
05. 서로 동일한 제한효소로 절단한 두 DNA 절편은 연결효소(ligase)를 이용하여 연결할 수 있다. (○, ×)
06. 서로 다른 효소에 의해 생성된 접착성 말단이라도 말단이 상보적이면 연결효소에 의해 연결될 수 있다. (○, ×)
07. DNase I 및 제한효소는 DNA의 인산이에스터 결합을 절단하며, 연결효소는 인산이에스터 결합을 연결한다. (○, ×)
08. 유전자 가위(engineered nuclease) 중 CRISPR–Cas 시스템은 ZFN, TALEN과는 달리 RNA에 의해 DNA 염기서열 특이성이 유도된다 (○, ×)
09. 세균과 고세균의 게놈 내에는 반복된 서열 사이에 외부 DNA에 해당하는 작은 spacer 서열들이 수십, 수백 개 존재하는 cluster가 형성되는 데 이를 CRISPR라고 한다. (○, ×)
10. 원핵세포의 CRISPR/Cas9 system은 선천성 면역(내재 면역, innate immunity), 제한효소는 후천성 면역(적응 면역, adaptive immunity)과 관련된다. (○, ×)
11. *Streptococcus pyogenes*에서 유래한 Cas9은 protospacer의 바로 뒤에 존재하는 protospacer adjacent motif (PAM)을 인식하여 PAM으로부터 3 bp 앞을 절단함으로써 침입한 외래 DNA를 제거한다. (○, ×)
12. 원핵세포의 crRNA/tracrRNA(trans activating crRNA)/Cas9 복합체에서 파지의 protospacer 서열과 상보적인 spacer 서열을 갖고 있는 것은 Cas9이다. (○, ×)
13. 유전공학 실험에서 사용되는 RNA-guided endonuclease(RGEN)은 원핵에서 발견되는 CRISPR/Cas system을 응용한 것이다. RGEN에서는 crRNA/tracrRNA 대신 sgRNA를 사용한다. (○, ×)
14. 상동재조합수선은 indel을 수반하여 돌연변이를 유발하는 과정이다. (○, ×)
15. 상동재조합수선이 일어나기 위해 목적 DNA와 상보적인 단일가닥 DNA를 세포 내로 공급한다. (○, ×)

16. 그림은 CRISPR/Cas9 유전자 가위 기술과 DNA 수선 기작을 이용하여 인간 유전체를 편집하는 과정을 나타낸 것이다.



이에 대한 설명으로 옳은 것만을 <보기>에서 있는 대로 고른 것은?

- ㄱ. 절단 부위는 sgRNA의 염기서열에 의해 결정된다.
 ㄴ. 돌연변이 유전자를 악생형으로 교정(correction)할 때 주로 (가) 과정을 이용한다.
 ㄷ. (나) 과정을 이용하면 유전체의 특정 부위에 돌연변이를 도입할 수 있다.

- ① ㄱ ② ㄴ ③ ㄷ
 ④ ㄱ, ㄴ ⑤ ㄱ, ㄷ ⑥ ㄴ, ㄷ
 ⑦ ㄱ, ㄴ, ㄷ

17. Taq DNA 중합효소는 열안정성 효소로 PCR에 사용된다. (○, ×)

18. 역전사 효소는 telomerase와 HIV에서 관찰된다. (○, ×)

19. 플라스미드를 정제할 때 EDTA는 세균의 세포막 파괴를 위해 첨가하는 시약이다. (○, ×)

20. 알칼리 용해법은 세균의 주 DNA와 플라스미드 DNA를 NaOH 처리로 변성시킨 후, 아세트산을 처리했을 때 플라스미드 DNA 만이 쉽게 재생되는 현상을 이용한다. (○, ×)

21. 페놀과 클로로포름(CHCl₃)의 처리는 RNA를 제거하기 위함이다. (○, ×)

22. 양이온 존재하에서 에탄올을 처리할 경우 혼란의 용해도가 감소되어 침전된다. (○, ×)

23. 유전체 DNA를 분리하기 위해 세포용출액을 얻은 후, 양이온 교환 크로마토그래피를 이용한다. (○, ×)

24. DEPC 및 isothiocyanate는 RNase 억제제이다. (○, ×)

25. 세포에서 얻은 total RNA에서 polyT 칼럼을 이용하여 total mRNA를 분리할 경우, 칼럼을 통과하는 용출용액의 염농도를 서서히 높여준다. (○, ×)

26. polyT 칼럼과 성숙 mRNA의 polyA 서열은 이온결합으로 연결된다. (○, ×)
27. total mRNA를 분리하고자 할 때, 우선 90°C에서 열처리를 하여 RNA의 2차 구조를 풀어낸다. (○, ×)
28. 항생제는 유사하거나 밀접하게 관련된 세균의 성장을 억제하기 위해 또는 죽이기 위해 세균이 생산하는 단백질성 독소이다. (○, ×)
29. 항생제는 세균과 균류에서 얻어지는 2차 대사산물이다. 현존하는 항생제의 2/3 이상을 생성하는 세균의 명칭을 쓰시오.
30. 세포벽 합성을 저해하는 β -락탐계 항생제와 비- β -락탐계 항생제를 쓰시오.
31. 세팔로스포린의 각 세대(generation)는 항생제가 작용하는 세균의 스펙트럼이 서로 다르다. (○, ×)
32. 세균의 엽산 합성을 저해하는 sulfonamide는 dihydropteroate synthase의 Vmax를 감소시킨다. (○, ×)
33. Geneticin(G418)은 진핵세포의 단백질 번역을 저해한다. (○, ×)
34. 항생제 내성을 나타내는 기전을 모두 고르시오.
- ① blocking entry
 - ② alteration of target molecule
 - ③ efflux of antibiotics
 - ④ increase of target molecule
 - ⑤ decrease of inactivating enzyme
35. 페니실린에 내성인 세균이 세팔로스포린에도 내성인 현상을 다재약제내성(multidrug resistance)라고 한다. (○, ×)
36. 케토코나졸(ketoconazole)은 균류 세포막에 위치한 콜레스테롤(cholesterol)의 합성을 저해하는 항진균제이다. (○, ×)
37. 겔 전기영동은 다공성 겔 내부에서 (-)로 하전된 핵산, 단백질들이 (+)극으로 이동하는 현상을 이용하여, 물질을 크기에 따라 분리하는 기술이다. (○, ×)
38. 방사능을 포함하는 크기가 서로 다른 DNA를 겔 전기영동을 통해 분리할 경우, 겔 위에 X선 필름을 올려놓고 감광하는 자기방사법을 통해 DNA 밴드를 확인한다. (○, ×)
39. 노던블랏(Northern blotting)은 크기가 서로 다른 mRNA를 전기영동한 후, 특정 mRNA의 존재유무를 확인하는 기술이다. 전기영동 시 단일가닥 mRNA가 서로 상보적으로 결합하는 것을 막기 위해 SDS를 처리한다. (○, ×)
40. 전기영동에서 사용되는 loading dye(예. BPB)는 DNA와 강하게 결합하는 염료이다. (○, ×)
41. 벡터(vector)에 대한 설명으로 옳은 것을 모두 고르시오.
- ㄱ. 원핵세포 벡터 중 플라스미드의 삽입 가능한 DNA의 크기가 가장 작다.
 ㄴ. 벡터는 선형이어야 한다.
 ㄷ. 벡터는 다양한 제한효소에 의해 인식되는 자리를 지녀야하며, 하나의 제한효소에 대해서 하나의 인식자리만을 지니는 것이 좋다.
- ① ㄱ
② ㄴ
③ ㄷ
- ④ ㄱ, ㄴ
⑤ ㄱ, ㄷ
⑥ ㄴ, ㄷ
- ⑦ ㄱ, ㄴ, ㄷ
42. 진핵세포의 유전자를 포함하는 발현벡터를 세균에서 발현시키고자 할 때 사용되는 발현벡터에 대한 설명으로 옳지 않은 것을 하나 고르시오.
- ① 발현벡터는 원핵세포의 프로모터와 전사종결자를 포함한다.
 - ② amp^R을 선별 표지자로 사용할 수 있다.
 - ③ 유전자 발현을 촉진하기 위해 인핸서(enhancer)를 포함한다.
 - ④ OriC와 같은 세균의 복제 원점이 필요하다.
 - ⑤ 벡터 내에 재조합된 유전자는 인트론을 포함하지 않는다.
43. 숙주의 유전체에는 벡터의 선별표지자로 사용되는 유전자가 없어야 한다. (○, ×)
44. 암피실린 저항성 유전자(amp^R)는 β -lactamase를 암호화한다. (○, ×)
45. 진정세균과 고세균에서 발견되는 효소 및 대사과정 유무를 쓰시오.
- | | 진정세균 | 고세균 |
|-------------------|--------|--------|
| 제한효소 | (○, ×) | (○, ×) |
| 열안정 DNA 중합효소 | (○, ×) | (○, ×) |
| 플라스미드 | (○, ×) | (○, ×) |
| CRISPR-Cas system | (○, ×) | (○, ×) |
46. 클로닝벡터는 숙주 내에서 단백질로 발현되기 위한 벡터를 지칭한다. (○, ×)
47. 세균 프로모터는 핵심프로모터와 조절프로모터로 구성된다. (○, ×)
48. 핵심프로모터에는 TATA box가 존재하며 TFIID의 결합부위이다. (○, ×)
49. 재조합 DNA를 유전자 조작이 쉬운 세균 내에서 증폭(cloning)시키거나 벡터 내에 포함된 DNA의 염기서열을 파악하는 등의 유전자 조작 후, 최종적으로 효모와 같은 진핵세포에서 발현시키기 위해 사용되는 특수한 발현벡터를 무엇이라고 하는가?

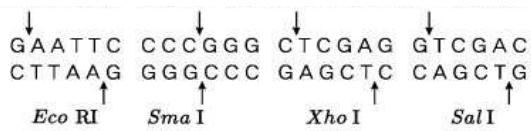
50. 다음 중 재조합 벡터를 가진 숙주를 선별할 수 있는 방법을 모두 고르시오.

- ① 세균을 암페실린 저항성 유전자(amp^R)를 지닌 재조합 벡터로 형질 전환한 후, 암페실린을 처리한 배지에서 배양한다.
- ② 효모를 암페실린 저항성 유전자(amp^R)를 지닌 재조합 벡터로 형질 전환한 후, 암페실린을 처리한 배지에서 배양한다.
- ③ 효모를 네오마이신 저항성 유전자(neo^R)를 지닌 재조합 벡터로 형질 전환한 후, G418(geneticin)을 처리한 배지에서 배양한다.
- ④ 효모를 류신함성유전자($\text{leu}2$)를 포함하는 재조합 벡터로 형질 전환한 후, 류신을 공급되는 배지에서 배양한다.

51. Agar 고체 배지에서 세균이 증식한 집락체를 (colony/plaque)라고 한다.

52. YAC 벡터는 효모의 복제원점(ARS), 동원체, 텔로미어를 지닌다.
(○, ×)

[53~55] 다음은 여러 제한효소의 인식자리를 나타낸다.



53. Eco RI과 Sma I으로 절단한 단편은 ligase에 의해 연결될 수 있다.
(○, ×)

54. Xho I과 Sal I으로 절단한 단편은 ligase에 의해 연결될 수 있다.
(○, ×)

55. 500만 염기쌍(bp)의 길이를 가지는 이중가닥 DNA 분자가 62%의 G+C의 염기조성을 지닌다면 Hind III 제한효소자리는 평균적으로 몇 개 존재하겠는가? (단, Hind III의 인식자는 AAGCTT이다.)

- | | | |
|--------|-----------|--------|
| ① 613개 | ② 626개 | ③ 745개 |
| ④ 856개 | ⑤ 46,176개 | |

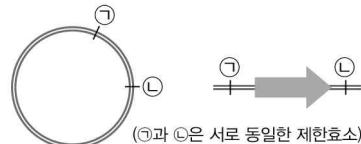
56. Acy I은 GRCGYC의 인식서열을 지닌다.(R: 퓨린, Y: 피리미딘) DNA의 각 염기가 동일한 양으로 임의적인 서열을 이루고 있다고 가정할 때 Acy I에 의해 절단되는 부위 간의 평균 염기쌍의 거리는 얼마인가?

- | | | |
|--------|--------|--------|
| ① 986 | ② 1010 | ③ 1024 |
| ④ 3506 | ⑤ 4102 | |

57. 아그로박테리움(*Agrobacterium tumefaciens*)은 주로 외떡잎 식물을 감염하여 근두암종을 유발한다. (○, ×)

58. 아래 표의 빈칸에 알맞은 내용을 표기하시오

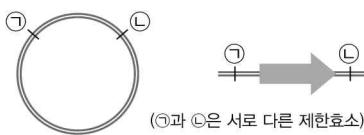
<1개의 제한효소>



① 말단	② 말단	벡터의 방향	자체연결벡터 유무
sticky	sticky	(정방향 / 역방향)	(○, ×)
blunt	blunt	(정방향 / 역방향)	(○, ×)

59. 표의 빈칸에 알맞은 단어를 쓰시오(단, SalI과 XhoI과 같이 절편의 점착 말단이 상보적인 경우는 제외한다.)

<2개의 제한효소>



① 말단	② 말단	벡터의 방향	자체연결벡터 유무
sticky	sticky	(정방향 / 역방향)	(○, ×)
sticky	blunt	(정방향 / 역방향)	(○, ×)
blunt	blunt	(정방향 / 역방향)	(○, ×)

60. 59번에서 벡터와 insert DNA의 ①은 Eco RI으로, ②은 Sma I으로 절단할 경우, ligase를 처리했을 때 자가연결체의 형성이나 벡터 내에 삽입된 insert DNA의 삽입 방향을 걱정할 필요가 없다.
(○, ×)

61. 재조합 DNA 제작 시, 자체연결벡터(self-ligation vector)의 형성을 막기 위해 벡터에 삽입하려는 insert DNA에 탈인산화효소(alkaline phosphatase)를 처리한다. (○, ×)

62. 세균에 형질전환 시 CaCl_2 를 처리하여 반응능 세포로 만들어준 후에 열충격을 준다. (○, ×)

63. X-gal은 *Lac Z* 유전자 산물에 의해 분해되어 청색을 나타낸다.
(○, ×)

64. cDNA는 프로모터 서열을 포함한다. (○, ×)

65. 유전체 도서관(genomic library)은 한 세포의 거의 모든 유전자와 비유전자 서열을 포함한다. (○, ×)

66. 특정 세포에서 발현되는 부위만을 연구하고자 할 때, 유전체 도서관보다는 cDNA 도서관에서 DNA를 탐색하는 것이 좋다. (○, ×)

67. 진핵세포에서 얻은 성숙 mRNA의 역전사를 위해 poly(T) 서열을 프라이머로 사용한다. (○, ×)

68. 겔에서 니트로셀룰로오스(NC) 필터로 DNA를 blotting 한 후, UV 를 조사하면 DNA와 NC 필터 간에 공유결합이 형성된다. (○, ×)

69. 다음은 파지 도서관에서 특정 유전자를 탐색하는 기술이다. 순서대로 나열하시오.

(① → ___ → ___ → ___ → ___ → ___ → ___ → ⑧)

① 세균을 포함하는 평판배지에 파지를 배양한다.

② UV를 조사한다.

③ 파지를 분쇄하여 DNA가 노출되도록 한 뒤 NaOH를 처리하여 DNA를 변성시킨다.

④ NC 필터로 파지를 blotting 한다.

⑤ 방사능을 포함하는 탐침을 넣어 혼성화한다.

⑥ 필터에 연어정자 DNA를 뿐려 전혼성화한다.

⑦ 결합하지 않은 탐침을 세척한다.

⑧ 자기 방사법으로 방사능 위치를 확인한다.

70. DNA의 내부를 방사능으로 표지하려면, [γ -³²P]NTP를 사용한다. (○, ×)

71. DNA를 증폭하는 유전공학 기술 두 가지를 쓰시오.

72. 1개의 이중나선 DNA에 대해 PCR을 3 cycle 진행하였다. 이때 $2^3 = 8$ 분자의 단일가닥 DNA를 얻을 수 있다. (○, ×)

73. *Thermus aquaticus*는 온천에 사는 극호열성 고세균으로 열안정 성 Taq DNA 중합효소를 공급한다. (○, ×)

74. PCR에서 사용되는 열안정성 DNA 중합효소를 아는대로 쓰시오.

75. Taq DNA 중합효소는 Pfu DNA 중합효소에 비해 복제 진행성 (processivity)이 (높다/ 낮다).

76. Taq DNA 중합효소는 Pfu DNA 중합효소에 비해 복제 신뢰도 (fidelity)가 (높다/ 낮다).

77. PCR에서 표적서열만이 복제된 DNA는 세 번째 cycle에서 나타난다. (○, ×)

78. 재생 온도가 너무 높으면 프라이머의 비특이적 결합이 일어난다. (○, ×)

79. PCR의 변성→재생→증합 과정에서 T_m 이 중요시 되는 지점은 변성 과정이다. (○, ×)

80. PCR의 변성→재생→증합 과정에서 가장 낮은 온도에서 진행되는 것은 재생과정이다. (○, ×)

81. 프라이머의 T_m 을 계산하는 식을 쓰시오

82. 원하는 DNA 부분만을 100배 이상으로 증폭하기 위해서는 변성 → 재생 → 증합과정의 cycle을 7번 이상 반복해야 한다. (○, ×)

83. 세포에서 특정 mRNA의 유무를 확인하고자 할 때 역전사 PCR을 사용한다. (○, ×)

84. 시료 내 코로나 바이러스 RNA의 존재 유무를 확인하려고 할 때, 실시간 PCR(real time PCR)을 이용한다. 증폭곡선이 나타난다면 코로나 바이러스 감염에 대해 음성이라고 볼 수 있다. (○, ×)

85. 실시간 PCR에서 시료 내 초기 DNA 양이 적을수록 증폭곡선이 빨리 나타난다. (○, ×)

86. 실시간 PCR에서 주로 사용되는 염료인 cyanine 계열의 SYBR green I은 DNA와 RNA에 모두 결합할 수 있으나, dsDNA보다는 ssDNA, ssRNA에 강하게 결합한다. (○, ×)

87. SYBR green I 염료를 이용한 real time PCR에서 형광의 강도는 증폭 횟수와 DNA의 길이에 비례한다. (○, ×)

88. TaqMan 탐침에는 형광물질과 소광물질이 같이 존재하며 DNA의 특정 서열에 결합하도록 고안한다. (○, ×)

89. 실시간 PCR의 종합 과정에서 TaqMan 탐침이 분해되면 방출되던 형광이 감소된다. (○, ×)

90. 실시간 PCR에서 SYBR green I 염료 분석법은 TaqMan 탐침 분석 법에 비해 정확도가 높다. (○, ×)

91. 다음은 서던 블랏팅 실험법을 순서없이 나타낸 것이다. 순서대로 나열하시오.

(① → ___ → ___ → ___ → ___ → ___ → ___ → ⑧)

① DNA 시료를 제한효소로 절단한다.

② UV를 조사한다.

③ 전기영동한다.

④ 결합하지 않은 탐침을 세척한다.

⑤ 나일론 필터로 blotting 하며, 동시에 blotting 용액에 NaOH를 처리하여 DNA를 변성시킨다.

⑥ 필터에 끓인 연어정자 DNA를 뿐려 전혼성화한다.

⑦ 방사능을 포함하는 탐침을 넣어 혼성화한다.

⑧ 자기방사법으로 탐침과 결합한 DNA를 확인한다.

92. 91번의 ④ 세척 과정에서 세척 온도를 낮추면 비특이적 신호가 줄어든다. (○, ×)

93. 91번의 ②번 과정에서 자외선을 비춰줌으로써 DNA와 나일론 필터 사이의 결합이 더 강해진다. (○, ×)

94. RNA를 전기영동과 blotting 후 DNA 탐침을 이용하여 특정 RNA의 유무를 확인하는 기술을 웨스턴 블랏이라고 한다. (○, ×)

95. 서던 블랏에서 약산인 텔루린 용액을 처리함으로써 NC 필터로의 DNA 전달 효율을 증가시킬 수 있다. (○, ×)

96. 서던 블랏에서 탐침과 혼성화할 때, 용액에 포름아마이드를 처리할 경우 혼성화 온도를 낮출 수 있는 이점을 지닌다. (○, ×)

97. 서던 블랏에서 낮은 온도에서 혼성화 및 세척하고, 높은 염농도에서 실험을 진행하면 탐침에 높은 특이성을 갖는 DNA 절편만 찾아낼 수 있다. (○, ×)

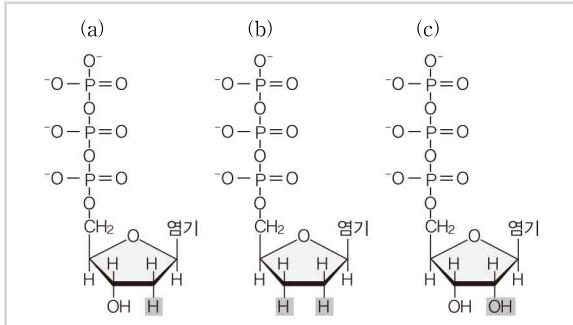
98. 서던 블랏에서 제한효소로 절단된 DNA를 SDS-PAGE로 분리한다. (○, ×)

99. 크기가 서로 다른 DNA를 겔 전기영동을 통해 분리한 후, EtBr을 처리하고 UV를 조사하면 겔에서 직접 모든 DNA를 확인할 수 있다. (○, ×)

100. 서열을 알고자 하는 DNA를 주형으로 새로운 DNA를 합성하는 방식으로 염기서열을 파악하는 기술을 모두 고르시오.

- ① Sanger의 사슬 종결법
- ② Maxam-Gilbert 염기서열 분석법
- ③ 나노구멍 염기서열 분석법
- ④ 파이로 염기서열 분석법

[101~102]



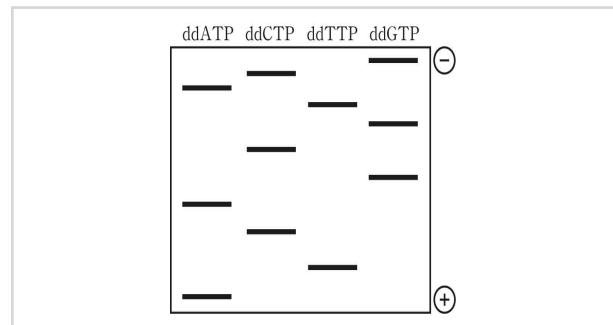
101. (a)~(c) 중에서 Sanger의 염기서열 분석법에서 신생가닥의 합성을 중단시키는 뉴클레오타이드를 고르시오.

102. RNA 합성에 이용되는 뉴클레오타이드를 고르시오.

103. Sanger의 염기서열 분석법에서 신생가닥의 합성을 위해 시료에 포함되는 ddNTP의 농도는 dNTP보다 더 높다. (○, ×)

104. Sanger의 염기서열 분석법에서 합성된 신생 단일가닥 DNA는 수소결합저해제를 포함하는 폴리아크릴아마이드 겔에서 전기영동한다. (○, ×)

105. 다음은 ddNTP를 이용하여 합성한 신생가닥을 전기영동한 결과이다. 실험 결과를 통해 알 수 있는 주형의 DNA 염기서열을 쓰시오.



106. 5'-^{(32)P}ACTATG-3' 서열을 Maxam-Gilbert 분석법을 통해 염기 서열 결정할 때 C lane이나 T + C lane에서 나타나는 절편은 무엇인가?

- I. ^{(32)P}A
- II. ^{(32)P}AC
- III. ^{(32)P}ACT
- IV. ^{(32)P}ACTA
- V. ^{(32)P}ACTAT

- | | | |
|------------------|----------|-------------|
| ① I, II | ② II, IV | ③ I, II, IV |
| ④ I, II, III, IV | ⑤ 답없음 | |

107. 대립유전자, RFLP, SSLP, SNP 등은 연관지도의 유전적 표시자(genetic marker)로 사용된다. (○, ×)

108. 특정 제한효소로 절단했을 때 절편길이가 다양함을 나타내는 용어는 (RFLP/SSLP/SNP/STS)이다.

109. RFLP는 유전적 표지자(genetic marker)로 사용되며, 또한 대립유전자형의 확인 및 개인을 확인하는 DNA 지문법에서도 사용될 수 있다. (○, ×)

110. SSLP는 단순 서열 길이의 다형성을 나타낸다. 이는 감수분열 시 불균등 교차 및 DNA 복제 시 DNA 중합효소의 미끄러짐(sliding)에 의해 생성된다. (○, ×)

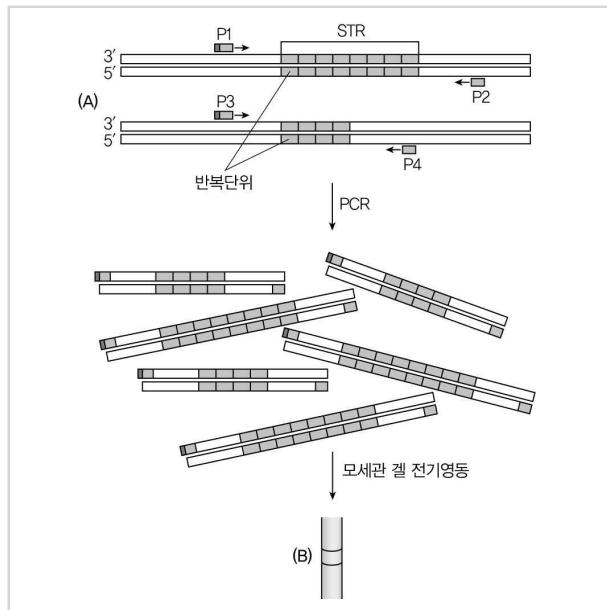
111. 단순 서열 길이의 다형성을 나타내는 SSLP는 유전자 서열이다. (○, ×)

112. SSLP에는 VNTR와 STR이 있으며 계놈에서 특정한 지역에서만 나타난다. (○, ×)

113. 단일 염기의 다형성 또는 그 DNA 자리를 나타내는 용어를 쓰시오.

[114~116]

범죄 수사에서 사용하는 DNA 감식법은 짧은 반복 염기서열(short tandem repeats, STR)의 개인간 변이를 이용하는 것이다. 그림은 어떤 사람에서 염색체 동일한 좌위(locus)에 존재하는 특정 STR의 크기를 분석하는 과정을 나타낸 것이다.



114. (A)의 PCR에서 사용한 P2와 P4의 염기서열은 서로 동일하다. (○, ×)

115. STR은 단백질을 암호화하는 유전자이다. (○, ×)

116. (B)와 같이 동일인에서 2개의 전기영동 빙대가 나타나는 이유는 DNA가 이중가닥이기 때문이다. (○, ×)

117. 휴먼 게놈 프로젝트를 통해 밝혀진 사람들의 DNA 염기서열은 99.9% 일치한다. (○, ×)

118. 특정 세포에서 발현되는 mRNA를 역전사한 cDNA의 일부서열인 EST는 게놈에서 유전자 위치를 동정할 때 사용된다. (○, ×)

119. 다음은 유전자 및 DNA와 관련된 설명이다. 옳지 않은 것을 하나 고르시오.

- ① 유전자의 위치를 파악하고 기능을 지정하는 것을 주석달기(annotation)라고 한다.
- ② 주석달기 과정에서 컴퓨터는 실수를 최소화하기 위해 게놈의 개시 코돈(ATG)에서 종결코돈까지의 길이가 100코돈 이상 되는 염기 서열을 해독틀(ORF, open reading frame)으로 간주한다.
- ③ 기능적으로 중요한 엑손과 조절 염기서열은 생물체가 진화하는 동안 보존되는 경향이 있으나, 중요도가 떨어지는 염기서열을 지닌 DNA는 염기서열 보존도가 떨어진다.
- ④ 원핵생물의 게놈은 반복서열이 많아서 샷건 클로닝으로는 서열 결정이 어렵다.
- ⑤ EST(expressed sequence tag)라 불리는 cDNA 단편은 게놈에서의 유전자 위치 파악에 사용된다.

[120~125]

다음은 메타유전체(metagenome)를 이용하여 토양에 서식하는 원생생물의 생물상을 알아보기 위한 실험 과정이다.

<실험 과정>

- (가) 일정량의 토양 표층 시료를 채집한다.
- (나)(가)의 시료로부터 DNA를 추출한다.
- (다)(나)에서 얻은 DNA를 이용하여 ⑦ 특정 유전자 부위를 PCR로 증폭한다.
- (라) 증폭된 DNA 산물을 플라스미드 벡터에 삽입한 후 대장균 세포에 도입하여 클로닝을 한 후 384 well plate에 보관한다.
- (마) 각 클론의 플라스미드를 추출하여 삽입된 DNA 조각의 염기서열을 결정한다.
- (바) 염기서열을 원생생물 유전자 서열 데이터베이스의 서열과 비교하여 동정한다.

120. 원생생물은 하나의 분기군(clade)을 형성한다. (○, ×)

121. 원생생물은 단계통 분류군이다. (○, ×)

122. 이 실험을 통해 생활사의 특정 단계에 있는 원생생물만 동정할 수 있다. (○, ×)

123. 배양이 불가능한 원생생물 종은 이 실험으로 동정할 수 없다. (○, ×)

124. 루비스코 유전자가 ⑦으로 이용된다. (○, ×)

125. (라)에서 클로닝을 하는 이유는 증폭된 DNA 산물들을 구분하기 위해서이다. (○, ×)

126. HGP를 통해 얻어진 인간 유전체(genome)의 염기쌍의 개수를 쓰시오.

127. Contig란 무엇인가?

- ① 유전자 지도작성에 사용되었던 문자 지표들
- ② 연속되는 DNA 서열을 구성하는 중복되는 조각들
- ③ 제한효소에 의해 만들어지는 조각들
- ④ 서열 분석에 사용되는 작은 DNA 조각
- ⑤ 게놈에서 단 한 번만 나타나는 DNA 조각

128. 127번 문제의 보기 ①과 관련된 서열을 모두 쓰시오.

129. 127번 문제의 보기 ⑤와 관련된 서열을 무엇이라고 하는가?

130. 지도 기반 염기서열 분석법은 (원핵/진핵)생물의 염기서열에 더 적합하며, 산탄총 염기서열 분석법은 (원핵/진핵)생물의 염기서열에 더 적합하다.

131. 생명체로서 처음으로 게놈의 염기서열이 밝혀진 것은 진핵생물이다. (○, ×)

[132~134]

[DNA 족적법(footprinting)]

- ① 한쪽 5' 말단만 방사능으로 표지된 DNA와 단백질 시료를 혼합하고 대조군으로 단백질을 포함하지 않는 시료를 준비한다.
- ② DNase I을 처리한다.
- ③ 전기영동 후 자기방사법으로 밴드를 확인한다.

132. ②에서 높은 농도의 DNase I을 오랜 시간 동안 처리한다.
(○, ×)

133. ③에서 폴리아크릴아미드 겔에서 전기영동 후, X선 필름을 감광하여 방사능을 지니는 DNA를 확인한다. (○, ×)

134. 위 실험은 여러 종류의 DNA에서 단백질이 결합하는 특정 DNA 서열을 파악하기 위한 실험이다. (○, ×)

[135~141]

[노던 블랏팅(Northern blotting)]

- ① 세포에서 얻은 DEPC를 포함하는 total mRNA를 전기영동한다.
- ② NC 필터로 blotting한다.
- ③ 방사능을 포함하는 탐침을 넣어 혼성화한다.
- ④ 자기 방사법으로 확인한다.

135. ①에서 쓰인 DEPC는 완충액(buffer)이다. (○, ×)

136. ① 과정 이전에 제한효소로 RNA를 절단하는 전처리가 요구된다. (○, ×)

137. ①에서 전기영동 시 겔에 요소, 글리옥살/DMSO, 포름아마이드 등과 같은 수소결합 저해제를 첨가한다. (○, ×)

138. ①의 전기영동은 주로 폴리아크릴아미드 겔에서 진행한다.
(○, ×)

139. NaOH를 처리하여 RNA를 변성시키는 과정이 생략되어 있다.
(○, ×)

140. ③ 과정 이전에 탐침의 비특이적 결합을 방지하기 위해 언어정자 DNA를 처리하는 전혼성화과정을 거친다. (○, ×)

141. 자기방사법 이후 밴드가 나타나지 않는다면, 시료 내에 탐침과 결합하는 목적 mRNA가 존재하지 않음을 의미한다. (○, ×)

[142~145]

- ① 겔 지연 분석법(EMSA)
- ② 노던 혼성화(Northern blotting)
- ③ DNA 족적법(DNA footprinting)
- ④ 서던 혼성화(Southern blotting)
- ⑤ DNA 클로닝(cloning)
- ⑥ 전기영동(electrophoresis)

142. mRNAs 시료에서 특정 mRNA를 찾고자 할 때 수행하는 실험을 보기에서 선택하시오.

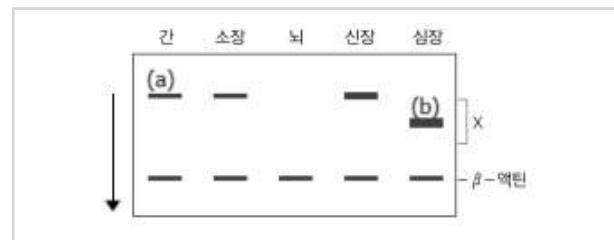
143. RNA 중합효소가 결합하는 DNA의 위치를 파악하기 위해 수행하는 실험을 보기에서 선택하시오.

144. 특정 단백질이 DNA와 결합하는지, 시료 내에 포함된 단백질 중에서 DNA와 결합하는 단백질이 있는지를 확인하기 위해 수행하는 실험을 보기에서 선택하시오.

145. 특정인이 겹상적혈구빈혈증에 대해 동형접합인지, 이형접합인지 알고자할 때 사용할 수 있는 실험법을 보기에서 선택하시오.

[146~155]

쥐의 간, 소장, 뇌, 신장, 심장 조직에서 total mRNA를 각각 분리한 후, X mRNA 및 β -액틴 mRNA와 결합하는 탐침을 이용하여 노던 블랏을 수행한 실험이다.



146. 쥐의 각 조직에서 유전자 X가 발현되는지를 확인할 수 있다.
(○, ×)

147. 노던 블랏에서 항체가 결합된 탐침을 이용하여 혼성화한다.
(○, ×)

148. 뇌의 DNA에는 유전자 X가 존재하지 않는다. (○, ×)

149. 유전자 X의 크기는 심장에서보다 신장에서 더 크다. (○, ×)

150. β -액틴은 전기영동 시 사용된 각 시료의 mRNA 양이 서로 같은지를 확인하기 위해 사용된다. (○, ×)

151. (a)는 (b)보다 크기가 작다. (○, ×)

152. 유전자 X는 간, 소장, 신장, 심장에서 발현되며, 뇌에서는 발현되지 않는다. (○, ×)

153. 선택적 스플라이싱과 같은 기전을 통해 각 세포의 동일 유전자에서 발현되는 mRNA 크기가 서로 다를 수 있다. (○, ×)

154. 유전자 X의 mRNA 발현량은 간 보다 심장에서 더 크다. (○, ×)

155. 전기영동에서 얻어진 밴드의 위치로 탐침의 크기를 유추할 수 있다. (○, ×)

156. RPA(RNase 보호 분석법)에서 사용되는 RNase는 이중나선 RNA만을 절단하는 특징을 지닌다. (○, ×)

[157~162]

[DNA 미세배열 분석법(microarray)]

- ① 암세포와 정상세포에서 얻은 각각의 total mRNA를 역전사하여 탐침을 제작한다.
- ② DNA 미세배열(microarray)과 탐침을 혼성화한다.
- ③ 미세배열에서 각 반점(spot)의 형광 패턴을 확인한다.

157. ①에서 역전사된 단일가닥 cDNA를 제작하기 위해 RNA 의존성 DNA 중합효소(RNA dependent DNA polymerase)를 처리한다. (○, ×)

158. ①에서 각 탐침은 서로 다른 색을 갖는 형광염료로 표지한다. (○, ×)

159. ② 과정 이후 결합하지 않은 cDNA를 세척한다. (○, ×)

160. ③에서 양쪽세포에서 동량으로 발현되는 유전자와 관련된 spot은 검은색을 나타낸다. (○, ×)

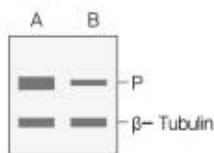
161. ③에서 각 spot은 각각 한 종류의 세포에서 유래되는 cDNA와만 혼성화된다. (○, ×)

162. DNA 미세배열 분석법은 노던 블랏처럼 세포에서 발현되는 유전자를 연구할 때 사용되며 여러 유전자 발현을 한꺼번에 확인할 수 있으므로 유용하다. (○, ×)

[163~170]

[웨스턴 블랏팅(western blotting)]

- ① 쥐의 A와 B 세포에서 얻은 단백질s 시료를 각각 전기영동한다.
- ② NC 필터로 blotting한다.
- ③ P 단백질 및 β -튜불린과 결합하는 1차 항체 첨가 후, 2차 항체를 첨가한다.
- ④ 기질(substrate)을 첨가하여 발색반응을 확인한다.



163. ①에서 SDS-PAGE가 이용된다. (○, ×)

164. ③의 혼성화 과정 이전에 NC 필터에 염색정자 DNA를 처리하는 전혼성화 과정이 요구된다. (○, ×)

165. 2차 항체는 1차 항체의 Fab부위와 결합한다. (○, ×)

166. 1차 항체는 효소와 결합되어 있다. (○, ×)

167. ③과정에서 항체를 첨가한 후에 결합하지 않은 항체는 세척하여 제거하여야 한다. (○, ×)

168. β -튜불린은 전기영동 시 사용된 각 시료의 양이 서로 같은지를 확인하기 위해 사용된다. (○, ×)

169. A와 B 세포는 모두 P 단백질에 대한 유전자를 지닌다. (○, ×)

170. 세포 A와 B 모두 P 단백질을 발현하며, A 세포에서의 P 단백질 발현량이 더 높다 (○, ×)

[171~173]

[ELISA 간접법]

- ① 항원과 blocking 단백질로 코팅된 plate를 준비한다.
- ② 항체를 포함하는 시료를 넣고 결합하지 않은 항체를 세척한다.
- ③ 2차 항체를 넣고 결합하지 않은 항체를 세척한다.
- ④ 기질을 넣어 발색 변화를 확인한다.

171. ②의 항체는 ①의 항원과 결합한다. (○, ×)

172. ③의 항체는 과산화효소(horseradish peroxidase)나 탈인산화효소(alkaline phosphatase)와 결합되어 있다. (○, ×)

173. 발색유무를 통해 시료 내 항원과 결합하는 항체유무를 확인할 수 있으며, 또한 표준시료와의 발색 비교를 통해 시료 내 항체의 양도 정량할 수 있다. (○, ×)

174. 단백질 X는 다음 과정과 같이 샌드위치 ELISA 방법으로 정량할 수 있다.

- (가) 단백질 X에 대한 단일클론항체 A를 ELISA 플레이트의 웰(well)에 붙인다.
- (나) 단백질 X가 들어있는 시료를 각 웰에 넣는다.
- (다) 완충용액으로 여러 번 씻어낸다.
- (라) ()를 각 웰에 넣는다.
- (마) 완충용액으로 여러 번 씻어낸다.
- (바) 효소반응에 필요한 기질을 넣고 발색반응을 시킨 후 흡광도를 측정한다.

(라)의 ()에 해당하는 물질로 가장 적절한 것은? (단, 이 물질에는 발색반응을 촉매하는 효소가 부착되어 있으며, 단백질 X에는 항체 A가 인식하는 부위가 하나이다.)

- ① 단백질 X
- ② 단일클론항체 A와 단백질 X
- ③ 단백질 X에 대한 다클론항체
- ④ 단일클론항체 A의 중쇄 부위를 인식하는 단일클론항체
- ⑤ 항체 A와 항원결합 부위는 같지만 중쇄 부위가 다른 단일클론항체

175. 174번의 샌드위치 ELISA 방법은 간접적 ELISA이다. (○, ×)

[176~178]

[효모 이중 혼성화법(yeast two hybrid system)]

- ① 효모에 (GAL4-DBD)-X와 (GAL4-AD)-Y의 융합단백질을 합성 할 수 있는 재조합 벡터를 각각 형질전환한다.
- ② 형질전환에 성공한 벡터를 배양하고, X-gal을 첨가한다.

176. ①에서 사용된 효모는 $GAL4^-$ 및 $UAS-LacZ^+$ 이다. (○, ×)

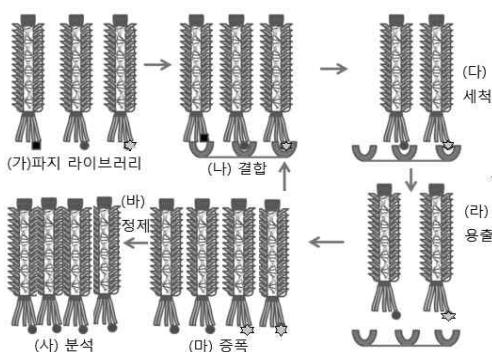
177. 만약 X와 Y가 서로 결합한다면 β -갈락토시데이스가 발현되고, 배지가 파란색으로 발색한다. (○, ×)

178. 만약 융합 단백질의 X와 새로운 단백질 W가 결합하여 $Lac Z$ 유전자를 발현된다면, W는 전사 활성화 기능을 갖고 있다고 할 수 있다. (○, ×)

[179~184]

[파지 전시(phage display)]

- M13 플라스미드에 존재하는 파지 캡시드 단백질 유전자의 특정 부위에 무작위 염기서열을 삽입하여 M13 플라스미드 라이브러리를 만든다.
- - (가) 대장균에 M13 라이브러리를 도입한 후 헬퍼 파지를 감염시켜 다양한 서열의 웨티드가 전시된 파지 라이브러리를 만든다.
 - (나) 단백질 X가 부착(coating)된 시험관에 파지 라이브러리를 첨가하고 37°C에서 한 시간 동안 반응시킨다.
 - (다) PBS로 시험관을 5회 세척한다.
 - (라) 시험관에 글리신 용액을 첨가하여 파지를 용출시킨 후 대장균에 헬퍼 파지와 함께 다시 감염시킨다.
 - (마) 대장균의 배양액에서 얻은 파지를 이용하여 (나)~(마)과정을 3회 반복한다.
 - (바) 증폭된 파지를 정제한다.
 - (라) 최종적으로 얻어진 파지에서 전시된 웨티드 서열을 결정한다.



179. 위 실험은 파지 캡시드에서 발현된 여러 단백질 중에서 특정 단백질(또는 DNA)과 결합하는 단백질을 빠르게 선별할 수 있게 한다. (○, ×)

180. (나)에서 헬퍼 파지를 쓰는 이유는 M13 플라스미드가 스스로 감염성 파지 입자를 생산할 수 없기 때문이다. (○, ×)

181. (바)에서 X에 대해 특이적으로 결합하는 웨티드 서열의 다양성이 증가한다. (○, ×)

182. (마)에서 글리신 용액은 pH를 낮추어 단백질 간 결합을 저해한다. (○, ×)

183. 단백질을 암호화하는 DNA 서열을 실험실에서 무작위로 변형시킴으로써, 자연진화를 통해 얻는 단백질의 종류보다 더 많은 단백질을 빠르게 합성할 수 있는 기술을 무엇이라고 하는가?

184. 휴미라[®](adalimumab)는 단백질 공학 기술을 이용하여 합성된 최초의 단일클론항체성 바이오 의약품이다. 이는 엔zyme를 유발하는 TNF- α 를 억제하여 류마티스 관절염, 건선, 궤양성 대장염 등 의 자가면역질환 치료제로 사용된다. (○, ×)

[185~187]

다음은 세포 내 단백질 X와 결합하는 단백질 Y 유무를 확인하기 위한 [공동 면역 침전법]에 대한 설명이다. (단, X와 Y는 비공유결합한다.)

- ① 쥐의 간세포에서 방사능으로 표지된 total 단백질을 얻은 후, 단백질 X와 결합하는 항체(항 X 항체)를 첨가한다.
- ② A 단백질-비드(bead)를 넣고 원심분리하여 A 단백질-비드에 결합된 단백질을 분리한다.
- ③ SDS-PAGE 후 자기 방사법으로 방사능을 확인한다.

185. 단백질 A는 세포에서 얻은 단백질과 직접 결합한다. (○, ×)

186. ③의 전기영동과정에서 단백질 A-비드와 결합된 단백질들은 복합체로 겔에서 이동한다. (○, ×)

187. 자기 방사법을 통해 X를 제외한 다른 단백질이 확인되지 않는다면, 세포 내에는 Y 단백질이 존재하지 않음을 알 수 있다. (○, ×)

[188~190]

다음은 단백질 X와 결합하는 세포 내 단백질을 검색하기 위한 [표지 단백질 침전법]에 대한 설명이다.

- ① 실험군은 GST-X 융합단백질, 대조군에는 GST만을 포함하는 두 시험관을 준비한다.
- ② 쥐의 간세포에서 방사능으로 표지된 total 단백질과 글루타치온 (G)-비드를 실험군과 대조군 모두에 넣어준다.
- ③ 원심분리한 후 침전액을 SDS-PAGE하고 자기 방사법으로 단백질을 확인한다.

188. 단백질 X와 결합하는 쥐의 간세포 내 단백질이 있다면, 이는 대조군에서 확인할 수 있다. (○, ×)

189. GST와 글루타치온은 효소와 기질 관계로 서로 비공유결합한다. (○, ×)

190. ③에서 원심분리 후 침전물을 얻어 전기영동한다. (○, ×)

[191~200]

[유전자 기능 결손 생쥐(knock out mouse)]

- ① 쥐의 ESC에 유전자 X가 녹아웃된 벡터를 주입한다.
- ② 상동재조합된 ESC를 선별하기 위해 G418과 ganciclovir를 처리한다.
- ③ 선별된 ESC를 배낭(포배)에 주입하고 대리모의 자궁에 넣어 출산을 유도한다.
- ④ 자손 쥐 중에서 키메라 마우스와 정상 마우스를 교배한다.
- ⑤ F₁을 얻어 다시 교배한다.
- ⑥ F₂에서 녹아웃 마우스(-/-)를 얻는다.

191. 녹아웃마우스를 통해 유전자의 기능을 파악할 수 있다. (○, ×)

192. ②에서 ganciclovir 처리 시 비상동재조합과 상동재조합에 성공한 ESC를 얻을 수 있다. (○, ×)

193. 상동재조합 ESC는 Thymidine kinase(tk) 유전자를 포함한다. (○, ×)

194. tk 유전자를 가진 ECS의 경우 G418처리 시 사멸한다. (○, ×)

195. ④의 키메라마우스는 유전자 X가 녹아웃된 생식세포를 생성할 수 있다. (○, ×)

196. ⑤의 F₁ 중에서 이형접합자(+/-)를 선별하여 교배한다. (○, ×)

197. 녹아웃법은 교배를 두 번이나 해야하므로, 양이나 염소와 같은 동물보다는 새끼를 많이 낳고 세대가 더 짧은 생쥐를 실험모델로 사용하는 것이 유리하다. (○, ×)

198. 특정 체세포에서만 또는 발생 중 특정시기에서만 표적 유전자를 녹아웃 시키기 위해 Cre-LoxP 조건부 녹아웃 시스템을 이용할 수 있다. (○, ×)

199. Cre-LoxP 시스템에서 LoxP는 Cre를 인식하여 위치 특이적인 재조합을 수행하는 재조합효소(recombinase)이다. (○, ×)

200. 최근 knock out mouse 대신 유전자의 기능을 제거(knock out)하기 위해 주로 사용되는 유전공학적 기술을 쓰시오.

[201~203]

[생물 반응기(bioreactor) 제작 과정]

- ① β -락토글로불린 프로모터와 α -1 안티트립신(α -1AT) 유전자가 재조합된 벡터를 양의 ESC에 형질전환한다.
- ② G418 처리로 형질전환에 성공한 ESC를 선별한 후, 핵을 추출한다.
- ③ ESC의 핵을 탈핵 난자에 주입한다.
- ④ 포배까지 발생시킨 후 대리모의 자궁에서 발생시켜 출산을 유도한다.
- ⑤ 성장한 암컷 양이 교배하여 새끼를 낳은 후 생성하는 젖에서 α -1AT이 검출된다.

201. ①의 재조합 벡터는 네오마이신 내성 유전자(neo^R)를 선별 표시자로 지닌다. (○, ×)

202. ②에서 추출한 핵의 핵상은 n이다. (○, ×)

203. ⑤의 α -1 안티트립신은 폐기종 치료제로 사용된다. (○, ×)

204. 특정 유전자의 기능을 지배하여 그 결과를 관찰하면 그 유전자의 정상적 기능을 알 수 있다. 과거에 많이 사용하던 방법은 antisense RNA방법으로 mRNA에 상보적인 RNA를 도입하여 특정 mRNA의 발현을 저해하는 것이었다. 이 방법은 아주 효율적이지는 않은데, 그 비효율성을 극복하는 하나의 대안으로 최근에 RNA interference (RNAi) 방법이 개발되었다. 다음 설명 중 옳지 않은 것은?

① RNAi를 위하여 RNA 자체를 도입하지 않고 DNA를 도입하여 같은 작용을 유발할 수도 있다.

② RNAi에 사용되는 RNA의 길이가 길면 불특정 RNA 파괴현상도 생긴다.

③ 동물에서 관찰되는 RNAi 과정은 식물의 유전자 발현 저해현상과 그 기전을 일부 공유한다.

④ RNAi는 특정 유전자의 염기서열에 해당하는 RNA 한쪽가닥을 세포 내로 도입하여 그 유전자의 발현을 저해하는 현상을 말한다.

⑤ RNAi를 이용하여 유전자 치료에 응용할 수 있다.

205. RNAi는 저렴한 비용으로 빠르고 쉽게 유전자의 발현을 억제할 수 있으나, 표적 이외의 수 백개 off-target 유전자 발현도 함께 억제하는 문제가 있고, 표적유전자의 발현을 완전히 차단하지 못한다는 단점이 있다. (○, ×)

206. 205번에서 언급된 RNAi가 표적 유전자의 발현을 완전히 차단하지 못한다는 의미에서 Knock out 대신 사용되는 용어를 쓰시오.

[207~210]

[복제양 Dolly 제작 과정]

- ① 검은 얼굴 양(5세)의 체세포를 채취하여 Go 상태로 유도한다.
- ② 검은 얼굴 양의 난자를 얻어 핵을 제거하고 ①의 세포와 융합시킨다.
- ③ 난자를 포배시기까지 체외에서 발생시킨 후 대리모의 자궁에 착상시킨다.
- ④ 대리모가 출산하여 Dolly를 얻었다.

207. ①에서 공여 체세포의 세포가 휴면기(Go)에 들어가도록 한 배양법의 이름을 쓰시오.

208. ②를 통해 미수정란은 2n의 핵을 갖게 된다. (○, ×)

209. 태어난 Dolly는 검은 얼굴을 갖는다. (○, ×)

210. 태어난 Dolly의 핵 DNA는 체세포 공여양과 같고, mtDNA는 대리모와 같다. (○, ×)

211. 쥐 세포를 계대배양(subculture)하는 과정에서 불멸화된 세포를 세포계(cell strain)라고 한다. (○, ×)

212. 다음 보기 중에서 성체줄기세포(ASC)의 특징을 모두 쓰시오.

- ① 미분화(undifferentiation)
- ② 자기 재생(self-renewal)
- ③ 비대칭적 분열(asymmetric division)
- ④ 텔로머레이스의 발현
- ⑤ 만능성(pluripotency)

213. 성체줄기세포(ASC)의 종류를 쓰시오.

214. 유도만능줄기세포(iPSC)는 체세포를 역분화시켜 얻은 만능성(pluripotency) 줄기세포이다. (○, ×)

[215~220]

다음은 유도만능줄기세포(induced pluripotent stem cell, iPSC)를 제작하는 과정이다.

- (가) 사람의 피부에서 섬유아세포를 분리하여 배양한다.
- (나) 네오마이신 저항성 유전자가 포함된 레트로 바이러스 백터에 전사인자 Oct3/4, Klf4, Sox2, Myc의 유전자를 각각 삽입하여 4 종류의 재조합 레트로바이러스를 제작한다.
- (다) (나)에서 제작한 재조합 레트로바이러스를 섬유아세포에 형질도입(transduction)하여 (나)의 전사인자를 발현시킨다.
- (라) 네오마이신이 포함된 배지에서 세포를 배양한다.
- (마) 배양보조세포층(feeder layer) 위에 (라)의 세포를 옮긴 후 16일 동안 배양하여 콜로니 형성을 관찰한다.
- (바) (마)의 콜로니에서 배아줄기세포의 특성을 갖는 세포를 선별한다.

215. (가)에서 섬유아세포 대신 B 립프구를 사용해도 된다. (○, ×)

216. (다)에서 재조합 레트로바이러스에서 유래된 DNA는 염색체에 삽입된다. (○, ×)

217. (라)에서 형질도입되지 않은 세포가 제거된다. (○, ×)

218. (마)에서 배양보조세포층은 유도만능줄기세포의 분열을 촉진한다. (○, ×)

219. (바)에서 유도만능줄기세포의 텔로머라야제 활성은 섬유아세포보다 낫다. (○, ×)

220. 인간 배아줄기세포 배양의 경우 세포분열이 방지된 마우스 섬유아세포(MEF, mouse embryonic fibroblast) 혹은 인간의 배아세포에서 유래된 섬유아세포(hESC driven fibroblast) 등을 배양보조세포(feeder cell)로 사용한다. (○, ×)

221. 아그로박테리움은 Ti plasmid를 포함한다. (○, ×)

222. Ti 플라스미드 내 T-DNA는 식물세포의 유전체 내로 안정하게 삽입되는 성질을 지닌다. (○, ×)

223. Ti 플라스미드 내 opine 유전자가 발현되어 식물세포의 빠른 분열을 유도함으로써 암(crown gall)이 초래된다. (○, ×)

224. Ti 플라스미드 내 vir(virulence) 유전자는 T-DNA를 식물 유전체로 전달(transfer)하는 기능을 한다. (○, ×)

225. Ti plasmid에서 T-DNA와 vir-DNA 부위를 서로 다른 백터에 둔 형태를 무엇이라고 하는가?

[226~233]

- ① 파지 전시(phage display)
- ② RNAi
- ③ 웨스턴 블랏팅(western blotting)
- ④ RNA 분해효소 보호 분석법(RPA)
- ⑤ 겔 지연 분석법(EMSA)
- ⑥ DNA chip
- ⑦ 효모 이중 혼성화법(yeast two hybrid system)
- ⑧ ELISA
- ⑨ knock out mouse
- ⑩ RNA sequencing(RNA seq)
- ⑪ Sanger의 DNA 염기서열분석법

226. 항체(antibody)가 사용되는 실험을 보기에서 모두 고르시오.

227. 실험과정 중에서 전기영동이 사용되는 것을 모두 고르시오.

228. 실험 과정 중에서 핵산과 핵산 사이의 혼성화(hybridization)가 나타나는 것을 모두 고르시오.

229. 특정 단백질과 단백질 사이의 상호작용을 확인하기 위한 유전공학기술을 고르시오.

230. 특정 단백질과 DNA와의 상호작용을 확인하기 위한 기술을 고르시오.

231. 특정 mRNA의 발현 유무를 확인하기 위한 유전공학기술을 고르시오.

232. 시료 내에 목적 단백질의 존재 유무를 확인하기 위한 유전공학기술을 고르시오.

233. 특정 유전자를 돌연변이시켜 발현을 억제하거나, 유전자 산물의 발현을 억제하는 유전공학기술을 모두 고르시오.

234. knock out mouse에서 쥐의 수정란에 벡터를 주입한다. (○, ×)

235. 유전자 치료에 사용되는 아데노바이러스는 도입유전자를 속주 유전체에 삽입시킨다. (○, ×)

236. DNA 지문법(fingerprinting)은 유전체에서 몇몇 변이가 심한 다양성을 나타내는 부위를 통해 개인을 확인하는 기술이다.
(○, ×)

237. DNA 족적법(footprinting)은 특정 단백질의 DNA 결합 유무를 확인하고자 할 때 사용될 수 있다. (○, ×)

238. 다음 중 핵산의 혼성화(hybridization)가 사용되지 않는 유전공학적 기술은 무엇인가?

- ① PCR
- ② 서던 블로팅
- ③ DNA 미세배열
- ④ 노던 블로팅
- ⑤ ELISA

239. 다음은 핵치환 과정을 통한 젖에서 α -1AT을 생산하는 양에 대한 설명이다. 옳은 것을 <보기>에서 모두 고르시오.

- ㄱ. 미세주입법은 수정란을, 핵치환과 녹아웃마우스는 모두 배아줄기세포를 이용한다.
- ㄴ. 젖샘 상피세포 특이적 프로모터와 α -1AT 유전자를 재조합한 DNA를 배아줄기세포의 핵에 도입시킨다.
- ㄷ. 대리모에서 태어난 양이 수컷이라면 α -1AT을 발현하지 못한다.

240. 다음 중 mRNA의 발현 분석과 관련 없는 유전공학 기술을 하나 고르시오.

- ① 노던 블로팅(Northern blotting)
- ② RNase 보호 분석(RNase protection assay)
- ③ RT-PCR
- ④ DNA microarray
- ⑤ EMSA

241. 다음 중 DNA 종합과 관련된 유전공학 기술을 <보기>에서 모두 고르시오.

- ㄱ. dideoxy DNA sequencing
- ㄴ. 서던 블로팅
- ㄷ. DNA 족적법(footprinting)

- ① ㄱ
- ② ㄴ
- ③ ㄷ
- ④ ㄱ, ㄴ
- ⑤ ㄱ, ㄷ
- ⑥ ㄴ, ㄷ
- ⑦ ㄱ, ㄴ, ㄷ

242. 동물 바이러스는 동물세포 내에서 빠르게 증식하므로 발현벡터의 요소는 바이러스에서 유래한 것이 많다. (○, ×)

243. 혈액 내 항 HIV 항체 유무를 파악하기 위한 유전공학 기술법으로 가장 바른 것은 무엇인가?

- ① 간접 ELISA
- ② 직접 ELISA
- ③ 샌드위치 ELISA
- ④ 노던 블로팅
- ⑤ DNA fingerprinting

[244~249]

다음은 무세포(cell-free) 단백질 합성 시스템을 이용하여 진핵세포의 단백질 X를 합성하는 과정이다.

<실험 과정>

- (가) 진핵세포 단백질 X의 유전자가 삽입된 발현 벡터 A를 준비한다.
- (나) mRNA로부터 단백질을 합성할 수 있는 박테리아(bacteria) 세포 추출물을 준비한다.
- (다) 아미노산 혼합물, NTPs, T7 RNA 중합효소를 포함하는 혼합물을 준비한다.
- (라) DEPC가 처리된 종류수에 (나)와 (다)의 혼합물과 A를 첨가하고 37°C에서 한 시간 동안 반응시킨다.
- (마) (라)의 반응물을 SDS-PAGE로 분리한 후 웨스턴 블로팅으로 단백질 X를 확인한다.

244. 발현 벡터 A에 삽입된 X의 유전자는 인트론을 포함한다.

- (○, ×)

245. 발현 벡터 A는 X의 유전자 앞에 리보솜 결합서열을 갖는다.

- (○, ×)

246. 245번에서 언급된 리보솜 결합 서열은 사인달가르노 서열이다.

- (○, ×)

247. (라)에서 종류수를 DEPC로 처리하는 이유는 RNase 활성을 없애기 위한 것이다. (○, ×)

248. 이 실험 과정에서 X의 유전자는 진핵세포 유전자의 프로모터를 이용하여 전사된다. (○, ×)

249. (라)에서 전사와 번역이 일어난다. (○, ×)

250. ELISA, 웨스턴 블로팅과 같이 항원-항체 반응을 통해 단백질을 검출하는 기술을 면역검출법(immunoassay)라고 한다.

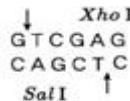
- (○, ×)

01. 외부핵산가수분해효소 \rightarrow 내부핵산가수분해효소
 02. 원핵생물과 효모 \rightarrow 원핵생물 only
 03.
 04. 역반복서열 \rightarrow 회문배열
 05.
 06.
 07.
 08. ZFN, TALEN은 단백질에 의해 DNA 염기서열 특이성이 유도된다
 09.
 10. CRISPR/Cas system은 외부에서 침입한 DNA를 기억해 두었다가 다시 같은 DNA가 침투하면 이를 제거하는 후진성면역, 반면 제한효소는 단순히 외래 DNA의 특정 서열을 절단하므로 선천성면역으로 볼 수 있다.
 11.
 12. Cas9 \rightarrow crRNA
 13.
 14. 상동재조합 \rightarrow 비상동말단연결(비상동재접합)
 15. 상보적인 단일가닥 DNA \rightarrow 동일한 이중가닥 DNA
 16. ⑤ ↗, ↘
 ↳ X. (나) \rightarrow (나).
 ↳ O. 특정 지역에서의 돌연변이 유발에는 상동재조합수선을 사용한다.
 17.
 18.
 19. 세포막 \rightarrow 세포벽
 20.
 21. RNA \rightarrow 단백질
 22.
 23. 양이온 \rightarrow 음이온
 24.
 25. 높여준다. \rightarrow 감소시킨다.
 26. 익온결합 \rightarrow 수소결합
 27.
 28.
 29. 방선균
 30. PC, 세파, 모노, 카바 / 반코마이신
 31.
 32. 감소 \rightarrow 일정
 33. 원핵의 단백질 번역도 저해할 수 있다.
 34. ①②③④ (⑤X.decrease \rightarrow increase)
 35. 타제약제내성 \rightarrow 교차내성
 36. cholesterol \rightarrow ergosterol
 37.
 38.
 39. SDS-단백질 / 요소, 포름알데히드-ssDNA, ssRNA
 40. 결합한다. \rightarrow 결합하지 않는다.
 41. ⑤ ↗, ↘
 ↳ X. 선형 \rightarrow 벡터는 원형(플라스미드)와 선형(파지) 모두 가능하다.
 42. ③X. 일반적으로 인해서는 진핵세포에서 유전자 발현에 요구되는 서열이다.
 43.
 44.

	진정세균	고세균
제한효소	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
열안정 DNA 중합효소	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
플라스미드	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
CRISPR-Cas system	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

46. 클로닝벡터 \rightarrow 발현벡터
 47. 세균프로모터 \rightarrow 진핵 II급 프로모터
 48.
 49. 셔틀벡터(shuttle vector)
 50. ①③

51. 콜로니(colony)
 52.
 53.
 54. 두 절편의 점착성 말단에 위치한 염기가 상보적이다. 따라서 서로 연결될 수 있다. 아래 그림은 Sal I과 Xho I의 절편을 연결한 것이다.



Q. Sal I과 Xho I으로 절단한 점착성 말단을 서로 연결한 선형 DNA에, 다시 Sal I을 처리할 경우 두 개의 DNA로 나뉘진다. (O, X)

55. ② 626개
 G+C=62%이므로 A+T=32%이다. 따라서 G=C=31%, A=T=19%이다.
 AAGCTT이 나타날 확률을 계산하자.
 $(0.19 \times 0.19 \times 0.31 \times 0.31 \times 0.19 \times 0.19) \times 5,000,000\text{bp} = 626\text{bp}$
 56. ③ 1024
 Acyl은 GRCGYC의 염기서열을 인식한다. 각 염기가 나타날 확률은 1/4이며, R(퓨린) 또는 Y(피리미딘)이 나타날 확률은 2/4이다. $1/4 \times 2/4 \times 1/4 \times 1/4 \times 2/4 \times 1/4 = 1/4^5 = 1/1024$
 따라서 GRCGYC서열은 1024 염기마다 한 번씩 나타나게 된다.
 57. 외떡잎식물 \rightarrow 쌍떡잎식물
 58.

①말단	②말단	벡터의 방향	자체연결벡터
sticky	sticky	정방향/역방향	X
blunt	blunt	모두 생성	(생성)

①말단	②말단	정방향/역방향	자체연결벡터
sticky	sticky	정방향 only	X (생성 안 됨)
sticky	blunt	정방향/역방향	(생성 안 됨)
blunt	blunt	모두 생성	O (생성)

59. 60. 방향성 클로닝에 대한 설명이다.
 61. insert DNA \rightarrow 벡터
 62.
 63.
 64.
 65.
 66.
 67.
 68.
 69. ① \rightarrow ④ \rightarrow ③ \rightarrow ② \rightarrow ⑥ \rightarrow ⑤ \rightarrow ⑦ \rightarrow ⑧
 70. X. \rightarrow a
 71. DNA 클로닝(cloning), PCR
 72. 단일가닥 \rightarrow 이중가닥(dsDNA)
 73. 코세균 \rightarrow 진정세균
 74. Taq, Tth, Tfl, Vent, Pfu DNA polymerase
 75. 높다
 76. 낮다
 77.
 78. 너무 높으면 \rightarrow 너무 낮으면
 79. 변성 \rightarrow 재생
 80.
 81. $T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$
 82. $O. 2^7 - 2 \cdot 7 = 114$ 개의 target dsDNA 생성.
 (if 6번이라면 $2^6 - 2 \cdot 7 = 52$ 개의 target dsDNA 생성)
 83.
 84. 음성 \rightarrow 양성

85. 적을수록 \rightarrow 많을수록
86. dsDNA보다는 ssDNA, ssRNA \rightarrow ssDNA, ssRNA보다는 dsDNA
87. 예를들어 200bp와 800bp의 DNA를 증폭할 경우 800bp의 DNA 증폭실험에서 더 강한 형광이 검출된다.
88.
89. 방출되던 형광이 감소된다 \rightarrow 형광이 방출되기 시작한다.
90. 정확도가 높다 \rightarrow 낮다.
91. ① \rightarrow ③ \rightarrow ⑤ \rightarrow ② \rightarrow ⑥ \rightarrow ⑦ \rightarrow ④ \rightarrow ⑧
92. 줄어든다 \rightarrow 증가한다.
(세척온도를 낮추면 탐침은 낮은 특이성에도 DNA에 결합할 수 있으므로 상대적으로 높은 온도에서 진행했을 때에 비해 탐침으로 검출하게 되는 DNA가 증가한다. 즉, 원하지 않는 DNA 서열도 확인할 수 있으므로 비특이적 신호가 증가한다.)
93. 라디칼 반응으로 DNA와 필터 간의 공유결합이 형성된다.
94. 웨스턴 \rightarrow 노던
95.
96.
97. 낮은 온도, 높은 염농도 \rightarrow 높은 온도, 낮은 염농도
98. SDS-PAGE는 단백질의 전기영동 기술이다.
99.
100. ①, ④
101. (b) 3'에 OH가 없으므로 더 이상의 중합이 억제된다.
102. (c)
103. ddNTP의 농도는 dNTP에 비해 1/100이다.
104.
105. 5'-CGTA CGCT GAT-3'. 젤에서 얻어진 신생가닥은 5'-ATC AGCG TACG-3'이므로 상보적으로 주형가닥의 서열을 얻는다.
106. ③ I, II, IV (절단된 단편의 뒷 염기에 의해 절편이 lane에 배열된다. 예를들어 "I. (³²P)A"의 뒷 염기는 C이므로 "I. (³²P)A"는 C, C+T lane에 서 검출된다.)

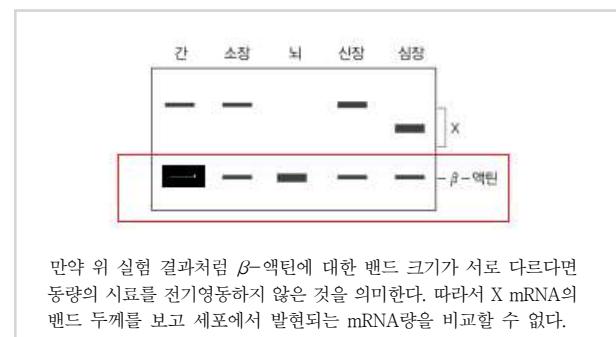
5'-(³²P)ACTATG-3'

- I. (³²P)A \rightarrow C, T+C lane
- II. (³²P)AC \rightarrow T+C lane
- III. (³²P)ACT \rightarrow A+G lane
- IV. (³²P)ACTA \rightarrow T+C lane
- V. (³²P)ACTAT \rightarrow G, A+G lane

107.
108. RFLP
109.
110.
111. 유전자 \rightarrow 유전자가 아니다.
112.
113. SNP
114. PI=P3, P2=P4이다.
115. 유전자 \rightarrow 유전자가 아니다.

116. (B)에서 각 band는 동일한 크기의 dsDNA가 모여 형성한다. 크기가 서로 다른 STR 두 위치에서 dsDNA를 증폭했으므로 2개의 밴드가 나타난 것이다.
117.
118.
119. ④. 원핵세포 \rightarrow 진핵세포
120. 하나의 분기균
121. 단계통 \rightarrow 측계통. 120번 문제와 같은 보기.
122. 모든 단계의 원생생물이 동정된다.
123. 배양과정이 없다. 따라서 배양이 가능한 원생생물도 이 실험으로 동정할 수 있다.
124. 토양에서 얻어진 원생생물에 공통적인 유전자를 이용해야 한다. 루비스코 유전자의 경우 광합성 원생생물에만 적용되는 유전자이므로 사용할 수 없다.

125. 각 DNA를 세균 내로 형질전환하고, 서로 다른 훈(well)에 넣어 보관함으로써 증폭된 DNA가 서로 섞이는 것을 방지할 수 있다.
126. 32억상(bp)
127. ②
128. 대립유전자, RFLP, SSLP(VNTR, STR), SNP
129. STS(sequence tag site)
130. 진핵, 원핵
131. 친핵 \rightarrow 원핵(페렴균)
132. 높은 농도, 오랜 시간 \rightarrow 낮은 농도, 짧은 시간
133.
134. X. DNA 족적법은 단백질 시료에 DNA에 결합하는 단백질이 존재하는지 확인하는데 쓰이며, 또한 단백질이 결합하는 DNA의 위치를 파악할 수 있게 한다. 특정 단백질이 DNA에 결합하는지를 확인하는 기술은 엘리먼트 분석법(EMSA)이다.
135. 원증액 \rightarrow RNase 억제제
136. X. RNA는 DNA와 달리 크기가 작으므로 제한효소로 절단할 필요가 없다. 또한 제한효소는 ds에 작용하므로 ssRNA의 절단에 사용되지 않는다.
137. ssRNA가 전기영동 중에 서로 수소결합하여 헤어핀을 형성하지 않도록 젤에 수소결합저해제를 처리한다.
138.
139. X. DNA는 이중가닥이므로 탐침과의 혼성화전에 NaOH를 처리하여 단일 가닥으로 만든다. 그러나 RNA는 단일가닥이므로 단일가닥화하는 과정이 불필요하다. (NaOH를 처리하면 dsDNA는 ssDNA가 되지만, RNA는 분해된다.)
140.
141.
142. ②
143. ③
144. ①, ③
145. ④ (p121)
146.
147. 서던블랏과 노던블랏의 탐침은 ssDNA를 이용한다. 웨스턴 블랏의 경우 항체를 이용한다.
148. X. 동일 줄에서 얻어진 각 세포의 DNA는 동일하다. 따라서 모든 조직은 유전자 X DNA 서열을 갖고 있다, 단지 유전자 X를 mRNA로 발현하나 아니냐의 차이만을 지닌다.
149. 터크타 \rightarrow 동일하다. 동일 줄에서 얻어진 각 세포의 DNA는 동일하다.
150.



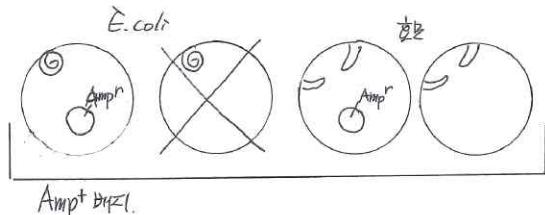
만약 위 실험 결과처럼 β -액틴에 대한 밴드 크기가 서로 다르다면 동량의 시료를 전기영동하지 않을 것을 의미한다. 따라서 X mRNA의 밴드 두께를 보고 세포에서 발현되는 mRNA량을 비교할 수 없다.

151. 쪽타 \rightarrow 크다. 멀리 이동하지 못한 (a)가 더 크다.
152.
153.
154. β -액틴 밴드가 동일하므로 동량의 시료를 전기영동했음을 알 수 있다. 심장의 X mRNA 두께가 두꺼운 것은 동량의 시료내 X mRNA 양이 더 많다. 즉 유전자 X의 발현량이 더 높음을 의미한다.
155. 노던블랏실험에서는 mRNA를 전기영동한 후에 탐침으로 특정 mRNA를 찾게 된다. 따라서 젤에서 얻은 밴드는 탐침(probe)의 크기가 아니라 전기영동된 X mRNA와 β -액틴 mRNA의 크기를 나타낸다.

156. X. dsRNA → ssRNA
157. ○ RNA 의존성 DNA 중합효소 = 역전사효소
158. ○
159. ○
160. X. 검은색 → 노란색
161. X. 노란색 spot의 경우 정상세포와 암세포 유래 cDNA가 모두 결합된다.
162. ○
163. ○
164. X. 연아정자-DNA → BSA(bovine serum albumin), casein 등의 단백질
165. X. -Fab → Fc
166. X. 1차 항체 → 2차 항체
167. ○
168. ○
169. ○
170. ○ internal control로 사용된 β -튜불린 단백질의 양이 일정하므로 각 세포에 서 얻은 동량의 시료를 전기영동 했음을 알 수 있다. 따라서 P-단백질 밴드 두께를 통해 발현량을 비교할 수 있다.
171. ○
172. ○
173. ○
174. ③. 단백질 X와 결합하는 항체를 넣어주자. 이때 단일클론항체를 사용해도 되지만 단백질 X의 여러 epitope에 결합하는 다클론항체를 사용할 경우 실험 민감도를 높일 수 있다.
175. X. 관찰 → 직접
176. ○
177. ○
178. ○ W만의 결합으로 전사가 활성화되었으므로 W는 그 자체가 전사활성화 도메인(activation domain, AD)이다.
179. ○
180. ○
181. X. 다양성 증가 → 특정 단백질을 증폭
182. ○
183. 유도 전화
184. ○
185. X. 세포에서 얻은 단백질 → 단백질 X에 대한 항체의 Fc 부위
186. X. SDS 처리로 인해 복합체는 분리되어 A-비드, 항A항체, X, Y 모두 따로따로 젤에서 이동한다.
187. ○
188. X. 대조군 → 실험군
189. ○
190. ○
191. ○
192. X. ganciclovir → G418
193. X. 포함한다 → 포함하지 않는다.
194. X. G418 → ganciclovir
195. ○ 키메라 마우스가 생성한 생식세포에는 X'가 포함될 수 있다.
196. ○
197. ○
198. ○
199. X. LoxP → Cre
200. CRISPR-Cas 유전자 가위
201. ○
202. X. -n- → 2n
203. ○
204. ④X. 한쪽 카다(단일카다) → 이중카다
205. ○
206. Knock down
207. 혈청 기아 배양법(serum starvation)
208. ○
209. X. 검은 얼굴 → 흰 얼굴
210. X. 태과포 → 난자공여양
211. X. 세포계 → 세포주(cell line)
212. ①, ②, ③, ④ (⑤X. 판능성 → 다분화능, 다능성(multipotency))
213. 조혈모세포, 중간엽줄기세포(간충직줄기세포), 장줄기세포, 모낭줄기세포, 신경줄기세포
214. ○
215. ○ B 립프구도 체세포이므로 섬유아세포 대신 사용할 수 있다.
216. ○
217. ○
218. ○
219. X. 낮다 → 높다.
220. ○ feeder cell은 줄기세포의 미분화상태를 유지하고 세포분열을 촉진하는 인자를 분비한다.
221. ○
222. ○
223. X. 오픈(opine) → 옥신, 시토카닌
224. ○
225. 이중벡터(binary vector)
226. ③, ⑧
227. ③, ④, ⑤, ⑪
228. ②, ④, ⑥, ⑪
- (② RNAi의 경우 목적 mRNA와 miRNA, siRNA의 혼성화가 나타나며, ⑪에서는 염기서열을 파악하고자 하는 주형 DNA와 프라이머의 혼성화가 나타난다.)
229. ①, ⑦
230. ①, ⑤,
231. ④, ⑥, ⑩
232. ③, ⑧
233. ②, ⑨
234. X. 수정판 → 베이줄기세포
235. X. 아데노바이러스 → 레트로바이러스
236. ○
237. ○ DNA 족적법은 특정 단백질의 DNA 결합 부위와 결합여부를 확인할 수 있게 한다.
238. ⑤X. ELISA는 항체를 이용한다.
239. ⑦ㄱ, ㄴ, ㄷ
240. ⑤EMSA: 단백질과 DNA의 결합여부를 확인하는데 쓰인다.
241. ①ㄱ
242. ○
243. ①
244. X. 인트론을 포함한다 → 포함하지 않는다. (실험에 사용된 시료 중에는 인트론을 제거하는 스플라이싱과 관련된 물질들이 없다. 따라서 전사 이후 번역된다면 원래의 X 단백질과 다른 단백질이 합성되므로, 미리 인트론을 포함하지 않는 단백질 X의 cDNA를 발현벡터와 연결시킨다.)
245. ○ (나)에서 세균의 단백질 번역 시스템을 얻었으므로, 세균의 리보솜이 번역 과정에 사용된다. 진핵세포에서 유래된 X 단백질은 세균 리보솜이 결합하는 서열을 갖지 않으므로 발현벡터에 SD-서열을 추가하여야 한다.
246. ○
247. ○
248. X. 친핵 프로모터 → 원핵 프로모터. 실험에서 세균을 감염하는 과정에서 유래되는 T7 RNA 중합효소를 사용한다. 따라서 세균의 프로모터를 사용해야 한다.
249. ○ T7 RNA 중합효소와 세균의 단백질 번역 시스템을 이용하여 전사, 번역된다.
250. ○
- A. X. 서로 연결된 선형 DNA는 더 이상 *Sal* I과 *Xba* I의 인식부위가 아니므로 *Sal* I 또는 *Xba* I를 처리해도 절단되지 않는다.

12장. 유전공학(강의자료)

<선별표시자는 숙주에 맞게 사용되어야 한다.>

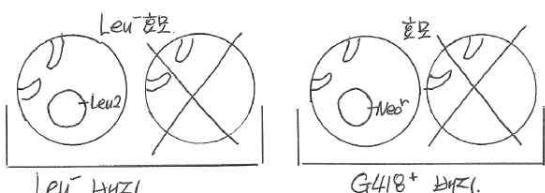


→ [대장균]: Amp' 유전자가 발현되면 β -lactamase가 발현되어 암피실린의 작용을 억제한다. 따라서 Amp' 플라스미드를 포함하는 [대장균]은 암피실린 배지에서 살아남아 콜로니를 형성하지만, 플라스미드를 포함하지 않는 대장균은 콜로니를 생성하지 못한다.

→ [진핵:효모]는 펩티도글리칸 세포벽을 지니지 않으므로, Amp' 플라스미드를 포함하는 효모나 포함하지 않는 효모 모두 암피실린 배지에서 콜로니를 생성할 수 있다.

따라서 Amp' 유전자는 효모에 대해 선별표시자로 사용될 수 없다.

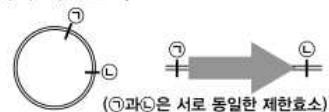
대신 류신 합성 유전자(*leu2*)와 Neo' 유전자는 효모에 대해 선별표시자로 사용될 수 있다.



	Taq	Tth	Tfl
균주	<i>Thermus aquaticus</i>	<i>Thermus thermophilus</i>	<i>Thermus flavus</i>
교정판독			
진행성			

	Vent(Tli)	Pfu
균주	<i>Thermococcus litoralis</i>	<i>Pyrococcus furiosus</i>
교정판독		
진행성		

〈1개의 제한효소〉



(①과 ②는 서로 동일한 제한효소)

①	②	방향성	자체연결벡터
sticky	sticky	↙ ↘ ↗ ↘	○
blunt	blunt	↙ ↘ ↗ ↘	○

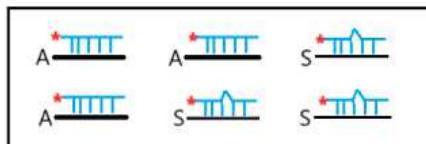
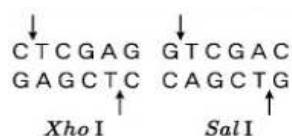
〈2개의 제한효소〉



(①과 ②는 서로 다른 제한효소)

①	②	방향성	자체연결벡터
sticky	sticky	↙ ↗ ↘ ↗	X
sticky	blunt	↙ ↗ ↘ ↗	X
blunt	blunt	↙ ↗ ↘ ↗	○

(단, 상보적인 sticky end를 형성하는 *Bam*H I & *Sau*3 A I이나 *Sal* I & *Xba* I으로 절단한 절편의 경우 정방향과 역방향의 재조합 플라스미드가 모두 생성될 수 있다.)



세척

