

DNA Chip IntelliGene® 시리즈 -Human Stem Cell Chip

IntelliGene® Human Stem Cell CHIP Ver.1.0

TaKaRa Code X105 2매

TaKaRa는 DNA Chip IntelliGene® 시리즈에 Human Stem Cell CHIP를 신발매 하였다. 본 고에서는 본 제품의 개요와 DNA chip 관련 제품에 대하여 소개한다.

■ Human Stem Cell CHIP

Human 유래 유전자 중 조혈모세포(hematopoietic stem cell)에서 발현하고 있다고 생각되는 유전자 약 370종류의 DNA 단편을 slide glass상에 정렬·고정화한 DNA chip으로 조혈모세포의 분화 유도시 유전자 발현 양의 변화를 알 수 있다. 또한 control로 아래의 DNA 단편을 각 grid마다 spot하여(그림 1) signal 강도 보정과 유효 signal 값을 나타내는 spot의 결정 등에 이용할 수 있다.

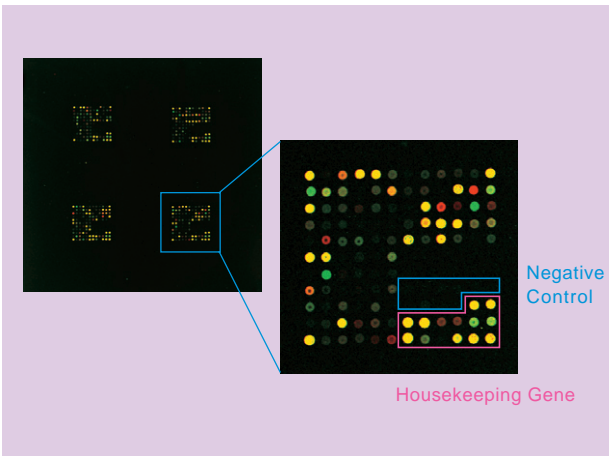


그림 1 IntelliGene® Human Stem Cell CHIP Ver.1.0

Human 유래 cDNA 단편 (housekeeping gene으로)

beta-actin	4 spots
tubulin alpha 2	8 spots
GAPD	8 spots
hexokinase 1	8 spots
transferrin receptor	8 spots
ribosomal protein S5	4 spots
general transcription factor III B	4 spots
phospholipase A2, group V	4 spots
ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F ₀ complex, subunit b, isoform 1	4 spots

다른 생물 유래 DNA 단편

(negative control과 internal control로)

lambda-A	4 spots
lambda-B	4 spots
lambda-C	4 spots
vector pUC18	12 spots
<i>Arabidopsis chlorophyll ab binding protein</i>	8 spots
<i>E. coli ompA</i>	8 spots

DNA chip상의 spot 위치 정보는 당사 홈페이지의 [IntelliGene Series Download Service]에서 download 할 수 있다.

■ TaKaRa Spaced Cover Glass 등의 DNA chip관련 상품

DNA chip을 이용한 표준실험은 다음과 같다.

- 1) Reverse Transcriptase XL (AMV) (TaKaRa Code 2620A)나 Reverse Transcriptase M-MLV (RNase H) (TaKaRa Code 2640A), RNA Fluorescence Labeling Core Kit (TaKaRa Code TX807)을 사용하여 역전사반응을 하고 두 종류의 세포에서 유래한 RNA로 형광표식 cDNA probe를 제작한다.
- 2) 두 종류의 형광표식 probe를 혼합하여 DNA chip과 hybridization한다.
- 3) Hybridization 후에 DNA chip을 세정한다.
- 4) DNA chip상의 DNA와 hybridization한 형광 probe signal을 Affymetrix® 428™ Array Scanner (TaKaRa Code GM210) 등의 DNA chip 해석장치를 이용하여 scanning한다.
- 5) 데이터를 해석한다.

위의 조작 중 hybridization 조작은 TaKaRa Spaced Cover Glass S (TaKaRa Code TX702) 나 TaKaRa Spaced Cover Glass L (TaKaRa Code TX703)을 이용하여 hybridization하면 간단하고 재현성이 높다.

【방법】

- ① 두 종류의 형광표식 probe를 혼합한 후 95°C에서 3분간 가열하여 probe를 변성시킨다.
- ② 실온에 방치하여 냉각한 후 25°C, 15,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 불용물을 제거하고 probe 용액을 조제한다.

- ③ DNA chip을 spot면이 위로 향하게 하여 사각 샤알레에 넣어 테이프로 고정한다.
- ④ Spacer가 붙어있는 면을 아래로 하여 TaKaRa Spaced Cover Glass 를 DNA chip의 spot 영역위에 얹는다(그림2).
- ⑤ ②에서 조제한 probe용액을 cover glass와 DNA chip사이에 pipet으로 넣는다(Probe용액의 양은 TaKaRa Spaced Cover Glass S는 10 μ l, TaKaRa Spaced Cover Glass L는 20~25 μ l).
- ⑥ DNA chip을 고정한 사각 샤알레를 밀봉한 후 밀폐용기내(물로 적신 킴스타올을 밑에 깔아 용기내 습도를 유지)에 둔다.
- ⑦ 밀폐용기를 65°C 항온수조에서 12~16시간 보온한다.

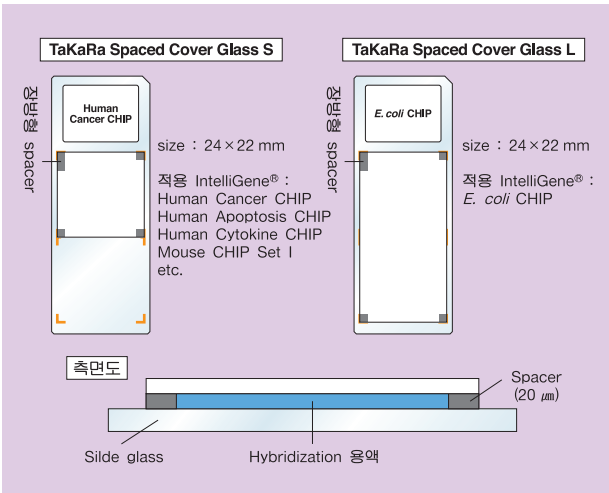


그림 2 TaKaRa Spaced Cover Glass 모식도

위와 같이 TaKaRa Spaced Cover Glass를 이용하여 hybridization 조작을 실시하므로써 기포의 유입으로 인한 hybridization data에 얼룩 등 background를 줄일 수 있다.

TaKaRa에서는 hybridization시 비특이적결합을 감소시키는 competitor로 Human DNA chip용 5× Competitor I (Human)을 발매하여 판매중이며, Mouse DNA chip용 5× Competitor II (Mouse)를 신발매 하였다. IntelliGene® Mouse CHIP Set I Ver. 1.0 을 사용한 실험에 이용한다.

【관련제품】

TaKaRa DNA Chip IntelliGene® 시리즈

제품명	TaKaRa Code	포장량
IntelliGene® TestARRAY Ver. 3.0	TaKaRa Code X000	2매
IntelliGene® CyanoCHIP Ver. 1.2	TaKaRa Code X001	1매
IntelliGene® Arabidopsis CHIP I Ver. 1.0	TaKaRa Code X0021	1매
IntelliGene® E. coli CHIP Ver. 1.0	TaKaRa Code X003	1매
IntelliGene® Human Apoptosis CHIP Ver. 1.1	TaKaRa Code X101	2매
IntelliGene® Human Cancer CHIP Ver. 3.0 Ver. up	TaKaRa Code X102	2매
IntelliGene® Human DNA CHIP for endocrine disruption study Ver. 1.1 Ver. up	TaKaRa Code X103	2매
IntelliGene® Human Cytokine CHIP Ver. 2.0 Ver. up	TaKaRa Code X104	2매
IntelliGene® Human CHIP 1K Set I Ver. 1.0 NEW	TaKaRa Code X1071	2매
IntelliGene® Mouse CHIP Set I Ver. 1.0 NEW	TaKaRa Code X2011	2매
IntelliGene® Human Stem Cell CHIP Ver. 1.0 NEW	TaKaRa Code X105	2매

DNA Chip 관련시약 시리즈

제품명	TaKaRa Code	포장량
λ polyA ⁺ RNA-A	TaKaRa Code TX802	10 μ l
λ Control Template & Primer Set-A	TaKaRa Code TX803	1 Set
Human TFR RNA (1kb)	TaKaRa Code TX805	10 μ l
Human TFR (1kb) Template & Primer Set	TaKaRa Code TX806	1 Set
RNA Fluorescence Labeling Core Kit	TaKaRa Code TX807	10반응
RNA Fluorescence Labeling Core Kit M-MLV Version 큰입발매	TaKaRa Code TX810	10반응
5× Competitor I (Human)	TaKaRa Code TX808	20 μ l
5× Competitor II (Mouse) NEW	TaKaRa Code TX809	20 μ l
TaKaRa Slide Glass NEW	TaKaRa Code TX704	25매
TaKaRa Spaced Cover Glass S NEW	TaKaRa Code TX702	25매
TaKaRa Spaced Cover Glass L NEW	TaKaRa Code TX703	25매