

# DNA Chip IntelliGene® 시리즈

## Rat Toxicology CHIP Ver. 1.0

IntelliGene® Rat Toxicology CHIP Ver. 1.0 TaKaRa Code X301 2장

TaKaRa에서는 DNA chip IntelliGene® 시리즈에 Rat Toxicology CHIP Ver. 1.0을 신발매하였다.

### ■ 개요

Rat(*Rattus norvegicus*) 유래 유전자 중 약물 독성이나 스트레스 반응에 관여하는 약 390 종류의 cDNA 단편을 slide glass상에 정렬·고정화한 chip이다. 고정화된 cDNA 단편은 Rat UniGene 데이터베이스에 등록되어 있는 다른 유전자에 비해 가장 homology가 낮은 영역(약 300 bp)이다. Rat 조직이나 세포에서 추출한 두 종류의 RNA(polyA<sup>+</sup> RNA 또는 total RNA)를 주형으로 조제한 형광 표식 cDNA를 chip에 hybridization한 후, 각 유전자의 발현양 변화를 검출한다. 또 control로 아래의 DNA 단편을 각 grid마다 spot하여 signal 강도 보정과 유효 signal 값의 결정 등에 이용할 수 있다.

### Rat 유래 cDNA 단편 (housekeeping gene으로)

MHC class I	4 spots
ornithine decarboxylase	4 spots
polyubiquitin	4 spots
cytoplasmic beta-actin	4 spots
glucose-6-phosphate dehydrogenase	4 spots
hypoxanthine phosphoribosyl transferase	4 spots
alpha initiation factor	4 spots
pancreatic phospholipase A-2	4 spots
F <sub>0</sub> -ATPase subunit b	4 spots
H2A and H2B histones	4 spots
Hexokinase 1	4 spots
RT1 class Ib	4 spots
ribosomal protein S5	4 spots
alpha-tubulin	4 spots

### 다른 생물 유래 DNA 단편 (negative control과 internal control로)

lambda-A	4 spots
lambda-B	4 spots
lambda-C	4 spots
vector pUC19	4 spots
<i>Arabidopsis</i> chlorophyll ab binding protein	4 spots
<i>E. coli</i> ampA	4 spots

DNA chip상의 spot 위치 정보는 당사 홈페이지 「IntelliGene Series Download Service」에서 download 받을 수 있다.

### ■ 실험예

Cytochrome P450의 유도 약제인  $\beta$ -naphthoflavone을 rat에 투여한 후, Rat Toxicology CHIP Ver. 1.0을 이용하여 간장 조직의 유전자 발현 변화를 조사하였다.

### | 방법 |

6주된 수컷 SD rat에, 올리브 오일로 걸러낸  $\beta$ -naphthoflavone을 1일 1회 100 mg/kg, 4일간 연속 복강 투여하였다( $\beta$ -naphthoflavone 투여). 대조군은 올리브 오일만 투여하였다(미투여). 투여 2시간 후에 간장을 적출한 후, *Oligotex*<sup>TM</sup>-dT30 <super> mRNA Purification Kit을 이용하여 mRNA를 추출하였다. RNA Fluorescence Labeling Core Kit(M-MLV Version)(TaKaRa Code TX 810)를 이용하여  $\beta$ -naphthoflavone 투여 및 미투여 유래의 mRNA 1.0  $\mu$ g을 주형으로 Cy5<sup>TM</sup>, Cy3<sup>TM</sup>로 표식한 cDNA를 조제하였다. 두 개의 표식 cDNA를 혼합한 후, TaKaRa Spaced Cover Glass S (TaKaRa Code TX702)를 사용하여 Rat Toxicology CHIP Ver. 1.0을 65°C에서 하루 밤 동안 hybridization하였다. 세정 후 Affymetrix® 428<sup>TM</sup> Array Scanner(TaKaRa Code GM 210)로 scanning하여, 해석용 software ImageGene<sup>TM</sup>으로 데이터를 해석하였다.

### | 결과 |

Cy3<sup>TM</sup>과 Cy5<sup>TM</sup> 사이의 signal 강도 보정은 global normalization으로 하였다. Spot signal의 Mean이 각 spot 주변의 background signal의 Mean+2.0×SD보다 큰 수치를 보이는 것을 유효 signal로 보고, 양 channel에서 유효 signal을 가진 spot 데이터만을 normalization 산출에 사용하였다. 각 형광 signal 화상을 녹색과 적색으로 구분하여 겹쳐 그림 1, 각 spot Cy3<sup>TM</sup>과 Cy5<sup>TM</sup>의 signal 강도 Scatter Plot을 그림 2에 나타내었다.  $\beta$ -naphthoflavone의 투여로 hybridization 강도에서 2배 이상의 변화를 보인 유전자가 51개였으며, 발현양이 크게 증가한 유전자군 중에는 약제 대사에 관여한다고 알려진 유전자가 여러개 포함되어 있었다.

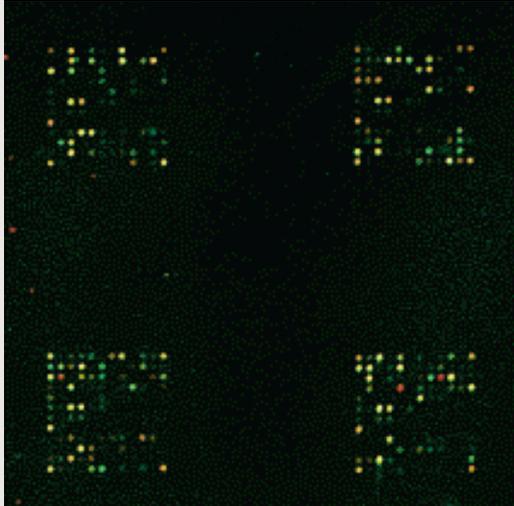


그림 1. Hybridization 화상  
 녹색: 미투어 간장 signal  
 적색:  $\beta$ -naphthoflavone 투여한 간장 signal

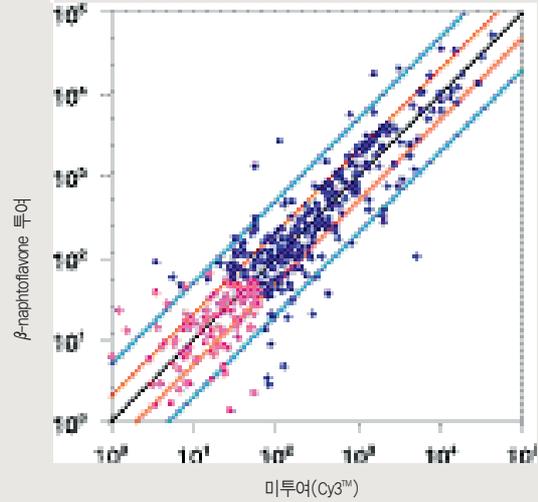


그림 2. Scatter Plot  
 X축은 Cy3™ signal(미투어), Y축은 Cy5™ signal( $\beta$ -naphthoflavone투여)을 나타낸다.  
 그래프의 검은선은 1:1, 빨간선은 1:2 또는 2:1, 파란선은 1:5인 경우이다.

**【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	TaKaRa Code X102	2매
IntelliGene® Human DNA CHIP for endocrine disruption study Ver. 1.1	TaKaRa Code X103	2매
IntelliGene® Human Cytokine CHIP Ver. 2.0	TaKaRa Code X104	2매
IntelliGene® Human CHIP 1K Set I Ver. 1.0	TaKaRa Code X1071	2매
IntelliGene® Mouse CHIP Set I Ver. 1.0	TaKaRa Code X2011	2매
IntelliGene® Human Stem Cell CHIP Ver. 1.0	TaKaRa Code X105	2매

**DNA Chip 관련시약 시리즈**

제품명	TaKaRa Code	포장량
$\lambda$ polyA <sup>+</sup> RNA-A	TaKaRa Code TX802	10 $\mu$ l
$\lambda$ Control Template & Primer Set-A	TaKaRa Code TX803	1 Set
Human TFR RNA (1kb)	TaKaRa Code TX805	10 $\mu$ 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	TaKaRa Code TX810	10반응
5× Competitor I (Human)	TaKaRa Code TX808	20 $\mu$ l
5× Competitor II (Mouse)	TaKaRa Code TX809	20 $\mu$ l
TaKaRa Slide Glass	TaKaRa Code TX704	25매
TaKaRa Spaced Cover Glass S	TaKaRa Code TX702	25매
TaKaRa Spaced Cover Glass L	TaKaRa Code TX703	25매