

공유결합 타입의 DNA chip 제작용 Slide glass TaKaRa-Hubble Slide Glass

TaKaRa Code TX720 25장

TaKaRa는 DNA chip 제작용 slide glass TaKaRa-Hubble Slide Glass를 신발매하였다. 본 제품은 공유결합 타입으로, 짧은 단편도 고효율로 고정시킬 수 있다. 본 고에서는 제품의 특징과 본 제품을 사용한 DNA chip 제작 예를 소개하고자 한다.

■ 개요

DNA chip 제작에 가장 많이 사용되고 있는 DNA 고정 방법은 아민기질을 함유한 화합물을 slide 표면에 코팅처리하여 (+)전하를 띠도록 하여 (-)전하를 띠는 DNA를 정전기적으로 결합시키는 방법이다.

이 방법은 500 bp 이상의 cDNA 단편을 고효율로 고정화시킬 수 있지만, 짧은 단편은 고정화 효율이 낮고 hybridization 후의 background가 높아지는 단점이 있다. TaKaRa는 이러한 문제를 해결하기 위하여 Mirus사(미국)와 공동으로 짧은 DNA 단편도 고효율로 고정화할 수 있는 DNA chip 용 slide glass를 개발하였다. 신개발한 TaKaRa-Hubble Slide Glass는 표면이 활성 에스테르화되어 있어, 아민 수식된 DNA 단편과 공유결합하여 강하게 고정시킬 수 있으며, hybridization 후의 background도 낮출 수 있다. Spot용 DNA 용해액 Solution I(TaKaRa Code TX002)도 동시 발매하였다.

■ 특징

본 제품은 입체적인 활성 에스테르를 보유하고 있어 아민 수식된 많은 DNA 단편과 공유결합하여 고정할 수 있다. 또한 DNA 고정 후 slide glass 표면이 (-)전하를 띠므로 hybridization시 probe의 비특이적 흡착을 억제하여 background 낮은 데이터를 얻을 수 있다.

기존의 DNA chip 제작에는 UV crosslinker 등의 장치를 사용하여, spotting 후 blocking 조작이나 반응 기질 분해를 했으나, 본 제품을 사용할 경우 특수한 장치 필요 없이 일반적인 hybridization 기구로도 충분하다. 또 반응 기질은 5분 이내에 분해가 완료된다. 따라서 DNA spotting 후의 세척, 분해, 건조 작업이 15분 이내에 가능하다.

고품질의 DNA chip 제작을 위해서는 slide glass뿐 아니라 DNA를 용해시키는 spotting solution도 중요하다. 동시 발매된 전용 Solution I는 최적화된 DNA 용해액으로 높은 고정화율과 형상이 좋은 spot을 얻을 수 있다.

■ 사용 예

5'-말단이 아민화된 Human gene 유래의 각종 ICAN® DNA에서 목적에 적합한 DNA 단편을 선택하여 Affymetrix® 427™ Arrayer(TaKaRa Code GM112)로 spotting하였다. Spotting후, 가수분해, 세척, 건조 후 DNA chip을 제작하였다. Human 배양세포 A431와 HL60의 total RNA 15 µg을 RNA Fluorescence Labeling Core Kit(M-MLV Version) Ver. 2.0(TaKaRa Code TX810)을 사용하여 Cy3™, Cy5™로 각각 표식하고, 두 종류를 혼합하여 probe로 사용하여 hybridization하였다.

그림 1은 본 제품을 사용하여 제작한 DNA chip의 hybridization 화상이다. 그림 2는 타사 slide glass를 사용하여 제작한 DNA chip hybridization 화상이다. 본 제품으로 제작한 DNA chip은 Cy3™, Cy5™ 모두 background가 낮고, spot signal이 높아 DNA가 고효율로 고정화되었다는 것을 확인할 수 있다.

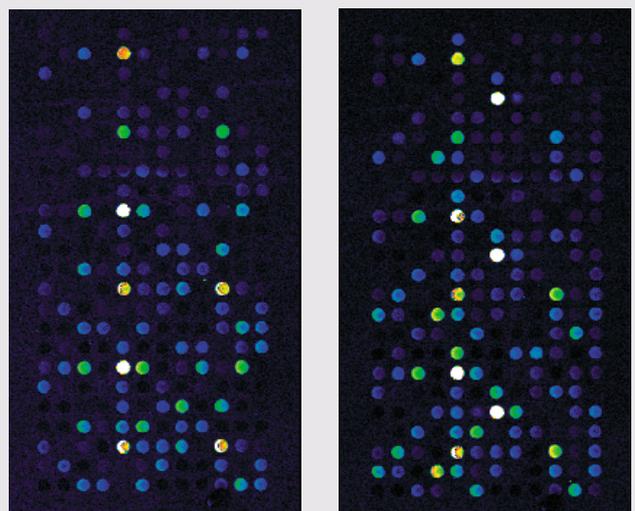
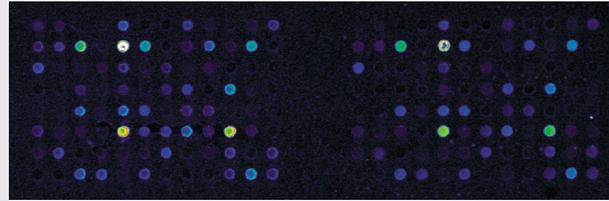


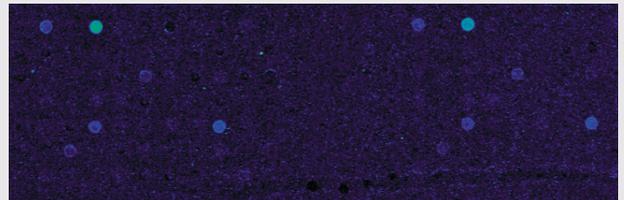
그림 1 본 제품을 사용하여 제작한 DNA chip의 hybridization 화상
좌: Cy3™ 형광 시그널 화상 ; 우: Cy5™ 형광 시그널 화상



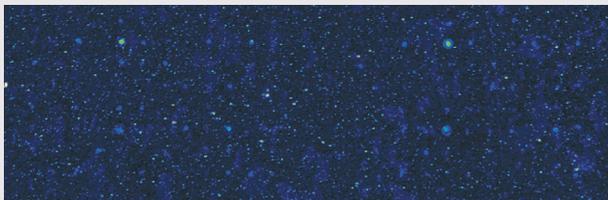
TaKaRa-Hubble Slide Glass



A사



B사



C사



D사

그림 2 본 제품과 타사 slide glass로 제작한 DNA chip의 hybridization 화상(Cy3™ 형광 시그널 화상)의 비교
(Spotting은 각 사 추천 protocol에 따라 시행)

■ 결론

공유결합형 DNA chip 제작용 TaKaRa-Hubble Slide Glass는 3차원적으로 반응 기질을 함유하고 있어 보다 많은 DNA를 고정시킬 수 있다. 또한 slide glass 표면이 (-)전하를 띠고 있어 높은 signal과 낮은

background의 hybridization 화상을 얻을 수 있다. 또한, 실험에 사용한 ICAN® DNA는 말단이 아민으로 수식되어 있어 본 제품에 그대로 고정할 수 있다. 본 제품과 ICAN® DNA를 사용하면 보다 쉽게 DNA chip을 제작할 수 있다.

[관련제품]

제품명	TaKaRa Code	포장량
TaKaRa-Hubble Slide Glass spot 전용 DNA 용해액 Solution I	TX002	30 ml