

독자적인 방법으로 선별한 cDNA가 spot된 DNA chip Functional DNA Chip

Functional DNA Chip Rat Toxicology Ver.1.0 TaKaRa Code X830 1매

Functional DNA Chip Human Brain Ver.1.0 TaKaRa Code X810 1매

TaKaRa는 IntelliGene® 시리즈로 human, rat, mouse, *E.coli* 등의 10여종의 DNA chip을 판매하고 있으며, 다양한 연구 분야에서 사용되고 있다. DNA chip을 이용한 해석이 유용한 정보가 되기 위해서는 아래의 두 가지점이 중요하게 대두되고 있다.

① 해석용 시료

DNA chip을 이용하여 2종류의 조직(시료)을 비교할 경우, 정확한 발현량의 차이를 보기 위하여 목적 조직(세포)만을 채취하고, RNA를 추출하여 표식 probe를 조제한다.

② Chip 내용

이미 알려진 데이터가 아닌 유용한 데이터를 얻기 위해서는 문헌이나 데이터베이스에서 선택한 유전자가 아니라, Megaclone™, Megasort™ 기술로 발현량의 차이가 있는 유전자를 스크리닝 한 후 선택해야 한다.

TaKaRa에서는 ① Laser Capture Microdissection(LCM) 이용, ② Functional DNA chip(Life Science & Biotethnology 23호 참조)을 이용하여 이 문제를 해결하고 있으며, 새로운 두 종류의 Functional DNA chip을 발매하였다.

■ Functional DNA Chip Rat Toxicology

본 제품은 약물 대사에 관련된 rat의 유전자 발현 변동을 조사하기 위한 Functional DNA chip으로 다음과 같은 방법으로 제작하였다.

β-naphthoflavone(BNF) 투여/비투여한 rat 간장조직에서 조제한 mRNA를 이용하여 Megaclone™ microbeads를 제작하였다. 또한 β-naphthoflavone(BNF) 투여/비투여, clofibrate 투여/비투여, pentobarbital 투여/비투여 rat 간장조직에서 mRNA를 조제하여, 형광 표식 probe를 제작하였다. 먼저, 제작한 Megaclone™ microbeads에 이들

각각의 probe로 Megasort™하여, 발현량의 변동이 있는 유전자(cDNA 단편)를 선별하고, UniGene에 등록된 유전자(EST 포함)의 약 800 종을 spotting하여 Functional DNA Chip Rat Toxicology를 제작하였다(그림 1). Negative control, positive control로 복수의 DNA 단편을 grid에 spot하여, 시그널 강도 보정과 유효 시그널 값 설정 등을 할 수 있다.



그림 1 Functional DNA chip 해석 예
Benzopyrene 복강내 투여한 rat 간장조직 mRNA를 이용한 결과
Cy3™(녹색 spot) : Control(Corn oil투여)
Cy5™(적색 spot) : Corn oil에 용해한 Benzopyrene

■ Functional DNA Chip Human Brain

본 제품은 사람의 소뇌(cerebellum), 해마조직(hippocampus), 소뇌편도(amygdala)에서 특이적으로 발현량이 변화하는 유전자(cDNA 단편)가 spot된 Functional DNA chip으로 다음과 같은 방법으로 제작하였다.

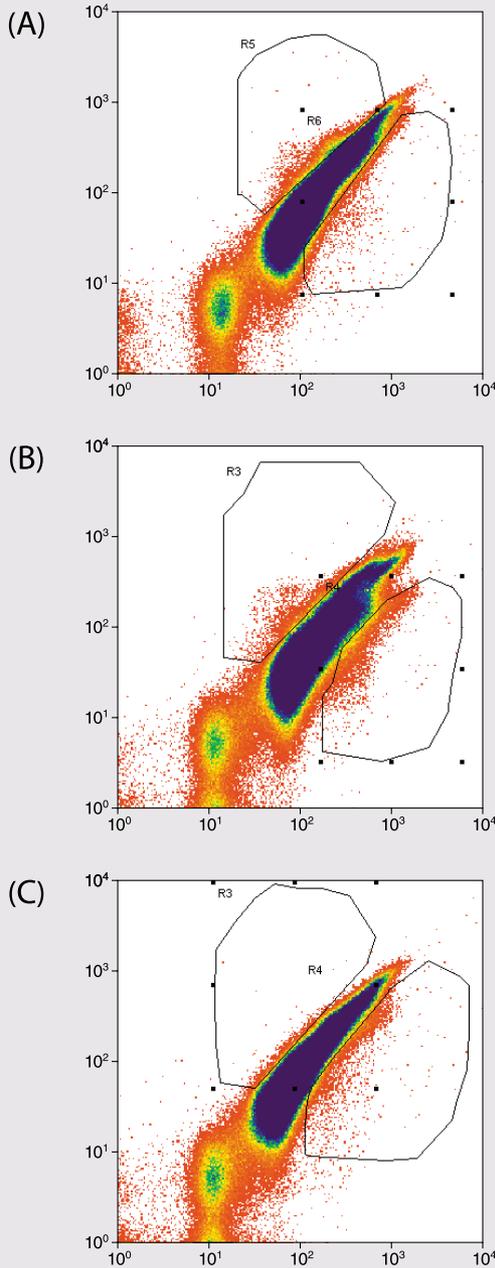


그림 2 사람 소뇌, 부위별 Megasort™
 (A) X축: 사람 소뇌 mRNA ; Y축: 사람 해마 mRNA
 (B) X축: 사람 소뇌 mRNA ; Y축: 사람 소뇌편도 mRNA
 (C) X축: Y축: 사람 소뇌편도 mRNA ; Y축: 사람 해마 mRNA

사람의 소뇌, 해마 및 소뇌편도 유래의 mRNA를 이용하여 Megasort™ microbeads를 제작하였다. 동일한 mRNA를 이용하여 형광 표식 probe를 제작한 후, 각각을 2개씩 조합하여 Megasort™ microbeads에 대해서 Megasort™를 하였다(그림 2-A, B, C). 발현량의 변동이 있는 유전자(cDNA 단편)를 선별하고, UniGene에 등록된 유전자(EST 포함)의 약 1,700 종을 spotting하여 Functional DNA Chip Human Brain을 제작하였다.

Negative control, positive control로 복수의 DNA 단편을 grid에 spot하여, 시그널 강도 보정과 유효 시그널 값 설정 등에 유용하다.

■ 유전자정보

DNA chip에 spot되어있는 DNA 단편 리스트인 array list, 발현 데이터 해석 소프트웨어 ImaGene™(TaKaRa Code BD001)의 Gene ID는 당사 홈페이지에서 다운로드 가능하다. Spot된 DNA 단편의 염기 서열 정보는 제품 내에 플로피 디스크로 첨부되어있다.

■ 결론

Functional DNA chip에 spot된 유전자는 기능과 부위별로 특이하게 선별한 의미있는 유전자(cDNA)로 해석처리가 용이하여, 보다 빠른 실험 결과를 얻을 수 있다. TaKaRa는 이후에도 다양한 Functional DNA chip을 개발하여 판매할 예정이다.

【주의】

Functional DNA chip에 있는 cDNA는 polyA 서열을 함유하고 있다. Hybridization시 competitor로 poly dA를 반드시 첨가한다. RNA 시료에서 probe 조제법, hybridization, 그 후의 해석법은 IntelliGene® DNA chip을 이용할 때와 동일하다.