

製品データ No. 215

Alexa Fluor® 色素を用いたマイクロアレイの使用例と従来色素 (他社) との比較

2005 年 11 月

データの提供: 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 高田 久先生・稲澤譲治先生

製品使用目的

Array-based Comparative Genomic Hybridization (Array-CGH) 法は腫瘍細胞のゲノム一次構造異常の網羅的スクリーニングに有用である。微細なコピー数の変化 (1 コピーレベル) を検出するためには、強い特異的蛍光シグナルと高いシグナル/ノイズ比が要求され、プローブに用いる DNA を効率よく安定して蛍光標識することが必要である。従来使用していた色素 (他社) と本色素 (Invitrogen 社) との結果を比較検討する。

方法

ゲノム DNA の間接蛍光標識は製品プロトコールに従って行った。Dpn II 制限酵素にて断片化した DNA 0.75 µg (test DNA: 胃癌細胞株 MKN45、reference DNA: 健康人男性末梢血リンパ球、) を BioPrime® Plus Array CGH Indirect Genomic Labeling System (5'-3' および 3'-5' exonuclease 活性を失活させた exo-Klenow、Random primer、Nucleotide Mix with aha-dUTP、Alexa Fluor® Reactive Dye などが添付) にて本色素 (test DNA-Alexa Fluor® 555、reference DNA-Alexa Fluor® 647) でラベルした後、PureLink™ PCR Purification System を用いて精製し、DNA 0.375 µg をそれぞれゲノムアレイにハイブリダイズさせた。蛍光色素の性能評価には MCG Cancer Array -800 Ver. 3 (800 種類の癌関連遺伝子を搭載した癌個性診断用ゲノムアレイ) を用いた。また、マイクロアレイの画像解析には GenePix 4000B (Axon Instruments、Foster City、CA、USA) を使用した。

検討

従来、当教室にて Dpn II 制限酵素にて断片化した DNA 0.75 µg を BioPrime® labeling Kit にて従来色素 (Cy™ 3-test DNA、Cy™ 5-reference DNA、他社) でラベルした後、QIAquick PCR Purification Kit (他社) を用いて精製し、MCG Cancer Array-800 Ver. 1 にて行っていたアレイ結果と比較した。

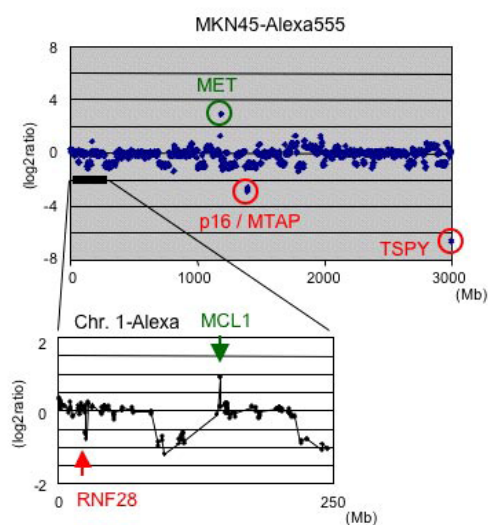
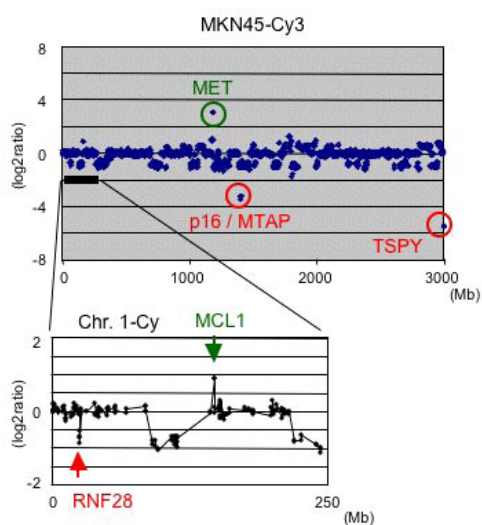
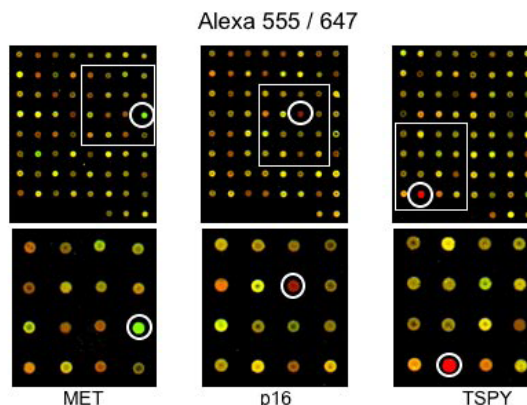
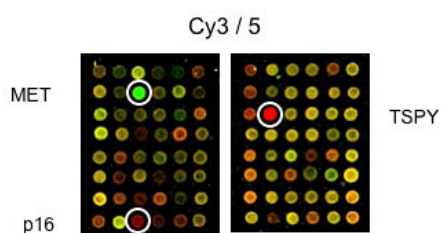
結果

図 (次ページ) のようにシグナル強度は従来色素と比べ遜色なく得られた。ゲノムプロファイル上もパターン、定量性ともに高い再現性を認め、1 コピーの変化 (増幅、欠失) まで同様に検出できた。上図のマイクロアレイの画像で MET 遺伝子は test DNA (胃癌細胞株 MKN45) で著明に増幅し (緑色)、また、p16 と TSPY 遺伝子は test DNA で完全に欠失していることを示している (赤色)。

結論

Alexa Fluor® 色素を用いることにより、高く安定したシグナル強度が得られ、1 コピーレベルの微細なゲノムコピー数の変化も検出することができる。Cy™ 3、Cy™ 5 を用いたアレイ結果と比較し、再現性が得られた。

Alexa-Cy-比較



製品名	製品番号	サイズ
BioPrime® Plus Array CGH indirect Genomic labeling System	18096-011	30 反応分
PureLink™ PCR Purification System	K3100-01 K3100-02	50 反応分 250 反応分
Alexa Fluor® 555 Reactive Dye	A32756	1 セット
Alexa Fluor® 647 Reactive Dye	A32757	1 セット
Alexa Fluor® 555 and Alexa Fluor® 647 Reactive Dye decapacks	A32755	1 セット

価格については、ウェブをご覧ください。

研究用에만使用できます。診断目的およびその手続き上での使用は出来ません。

記載の社名および製品名は、弊社または各社の商標または登録商標です。

標準販売条件はこちらをご覧ください。 www.lifetechnologies.com/TC

The trademarks mentioned herein are the property of Life Technologies Corporation or their respective owners.

© 2012, Life Technologies Japan Ltd. All rights reserved. Printed in Japan.

ライフテクノロジーズジャパン株式会社

本社：〒108-0023 東京都港区芝浦 4-2-8

TEL.03 (6832) 9300 FAX.03 (6832) 9580

大阪：〒564-0052 大阪府吹田市広芝町 10-28

TEL.06 (6339) 8165 FAX.06 (6339) 8138

www.lifetechnologies.com

life
technologies™