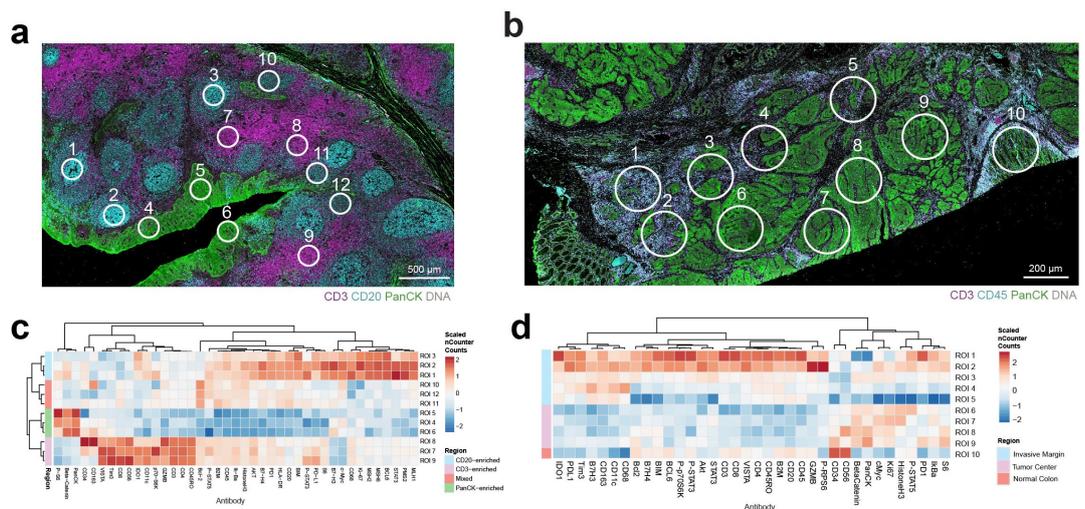


nanoString GeoMx Digital Spatial Profiler(DSP)

1. 장비 용도 및 특징

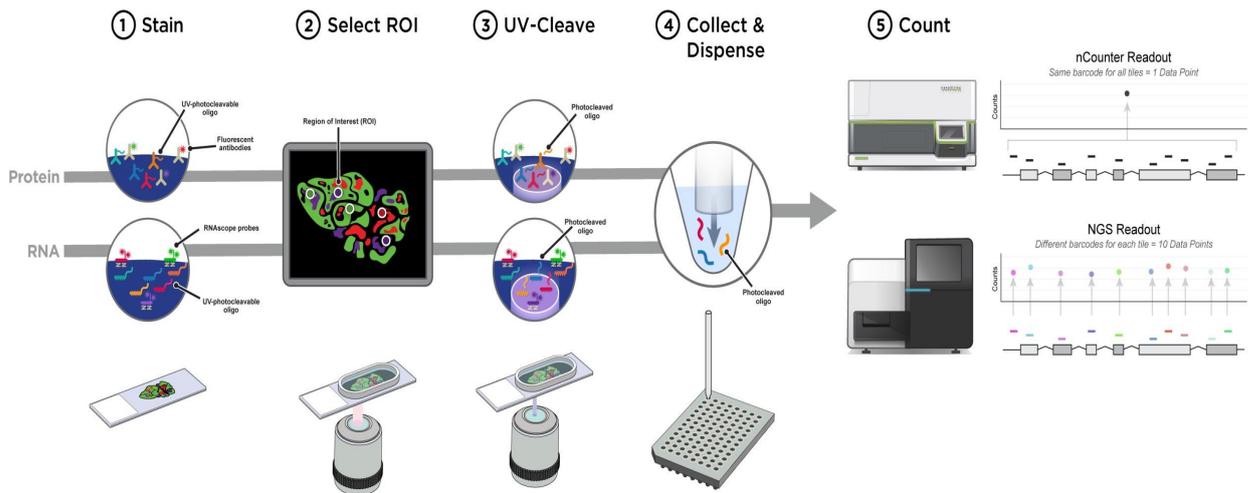
- 나노스트링에서 개발한 GeoMx Digital Spatial Profiler(DSP) 장비는 매우 독특하고 새로운 기술의 Digital Spatial 분석 장비로 nCounter 바코딩 기술과 NGS reading 기술을 접목하여 분석하고자 하는 Tissue의 특정 region에서 유전자(RNA) 혹은 단백질의 발현 정도를 정량 하는 장비임
- Spatial 분석으로 흔히 사용하고 있는 IHC/IF 실험 방식의 경우 하나의 Tissue slide에서 detection 할 수 있는 target의 수가 1~3개 정도로 제한이 되어 있는 반면 GeoMx Digital Spatial Profiler(DSP) 장비의 경우 하나의 Tissue slide에서 RNA의 경우 84개 /1,833개/18,000개 (Mouse 23,000개) 유전자, Protein의 경우에는 최대 154개의 target에 대해 multiplex가능하므로 특정 cancer 및 disease에서 biomarker 개발 및 증양 및 면역 관련 pathway 분석에 유용하게 사용 가능함
- 분석 가능한 Tissue는 FFPE(Formalin Fixed Paraffin Embedded) Tissue 및 FF(Fresh Frozen) Tissue, Biopsy 샘플 이며 Target region의 경우 10um~800um 크기로 설정 가능하므로 Rare cell 분석부터 heterogeneous한 넓은 region에 대한 분석이 가능함
- 분석하고자 하는 tissue에서의 target region은 최소 12개부터 최대 96개 까지 지정이 가능하며 각각의 target region에서의 RNA 및 Protein의 분석 결과를 tissue image 결과와 함께 획득 가능함



- 전 실험 과정이 full automation으로 진행이 되므로 실험 결과에 대한 재현성 및 정확도가 매우 높음

2. 실험 원리 및 실험 과정

- GeoMx Digital Spatial Profiler(DSP) 실험은 RNA 혹은 Protein에 대해 실험을 진행할 수 있으며 RNA에 대한 발현량 분석에 사용되는 RNA profiling reagent는 target RNA에 hybridization 가능한 oligo를 사용하게 되며 해당 oligo는 UV photocleavable linker과 DNA oligo가 결합된 형태로 합성이 되며 Protein의 경우에는 target protein에 결합 가능한 antibody에 UV photocleavable linker과 DNA oligo가 결합된 형태로 합성되어 제공됨
- nanoString GeoMx Digital Spatial Profiler(DSP) 실험은 준비된 Tissue slide를 fluorescence dye가 label 되어 있는 항체를 이용한 staining 과정과 target RNA 혹은 Protein에 oligo 및 antibody를 hybridization 하는 과정을 수행함
- Staining이 되어 있는 tissue slide는 GeoMx Digital Spatial Profiler(DSP) 장비로 옮겨 target region (ROI:Region Of Interest)을 선정하게 되며 선정된 region에 대해서만 UV light가 excitation 되며 UV로 인해 UV photocleavable linker가 분리 되면서 target RNA 혹은 Protein에 결합되었던 DNA oligo가 분리됨.
- 분리된 oligo는 liquid handler를 통해 자동으로 장비에 있는 96 well plate에 분주 되며 분주된 oligo는 nCounter 장비를 통해서 barcoding reagent를 이용 실험을 통해 최종 RNA 혹은 Protein의 발현량을 count 하게 되며 NGS 장비를 이용해서는 library prep 후 sequencing을 통해 RNA 발현량을 정량하게 됨



3. 결과 분석

- nCounter 장비를 통해 최종 count 된 target RNA 혹은 Protein 발현량에 대한 결과 분석은 GeoMx DSP analysis program을 통해 진행되며 NGS를 통해 read된 결과는 Digital Count Conversion 소프트웨어를 통해 GeoMx DSP Analysis Program을 통해 분석 가능한 형태의 데이터로 변환시킨 후 동일한 Process를 통해 분석이 진행됨
- 각각 target region에서의 RNA/Protein profiling data는 tissue image와 함께 제공이 됨
- 분석은 Data QC - Background Calculation - Data Normalization - Data Analysis 과정을 통해 진행됨

