

クロマチン免疫沈降(ChIP)によるメチル化K4ヒストンH3の局在解析

No. CEM_006

カテゴリ: エピジェネティクス

キーワード: クロマチン免疫沈降、修飾ヒストン、ヒストン局在解析、ChIP、Chromatin localization, Chromatin immunoprecipitation, histone antibody, histone modification

データソース: タカラバイオ株式会社

方法:

転写活性化状態の異なる2種類の遺伝子プロモータ領域におけるメチル化K4(Lys4)ヒストンH3の局在化をクロマチン免疫沈降により解析した。

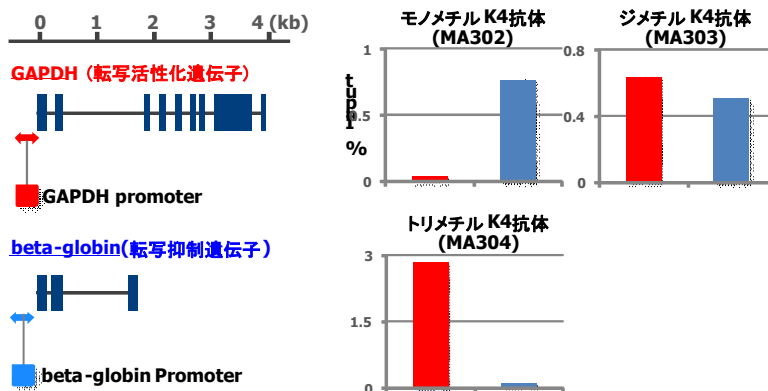
ヒト由来株化細胞 HeLaを対象に3種類のメチル化K4ヒストンH3抗体[モノメチル化K4(製品コード MA302)、ジメチル化K4(製品コード MA303)、トリメチル化K4(製品コード MA304)]とEpiScope® ChIP Kit (anti-mouse IgG)(製品コード 5331)を用いたクロマチン免疫沈降を行い、各修飾ヒストンH3が局在するゲノムDNA領域を回収した。

得られた各ゲノムDNAサンプルを鋳型に、転写活性化状態の異なる2種類の遺伝子、GAPDH(転写活性化型)、beta-globin(転写抑制型)のプロモータ領域における各メチル化K4ヒストンH3の局在化を、Premix Ex Taq™ GC (Perfect Real Time)(製品コード RR039A)とThermal Cycler Dice® Real Time System II(製品コード TP900)を使用して、リアルタイムPCRにより解析した。リアルタイムPCRプライマーには、ChIP qPCR Primer GAPDH promoter(製品コード 5311)、ChIP qPCR Primer beta-globin promoter(販売終了)を使用した(下図)。

結果:

3種類のメチル化K4ヒストンH3抗体とEpiScope® ChIP Kit (anti-mouse IgG)で調製した各修飾ヒストンH3局在領域のゲノムDNA中に含まれるGAPDHおよびbeta-globinプロモータ領域の相対量を、免疫沈降無しに調製したゲノムDNA(Input)中の各値をコントロール(%input=1)として表した。

その結果、K4メチル化頻度の高いヒストンH3抗体を用いて調製したゲノムDNA中ほど、GAPDHプロモータDNA領域の相対量がbeta-globinプロモータ領域の相対量に対して高くなった。つまり、K4メチル化頻度の高いヒストンH3(トリメチル化K4ヒストンH3)ほど、転写活性化型遺伝子(GAPDH)プロモータ領域に局在化する傾向が高いことが示唆された。



関連製品:

EpiScope® ChIP Kit (anti-mouse IgG)(製品コード 5331)

TB Green™ Premix Ex Taq™ GC (Perfect Real Time)(製品コード RR071A/B)

Thermal Cycler Dice® Real Time System II(製品コード TP900)