

# SMARTer NGS 文献集

## ChIP-seq 解析編

- ThruPLEX DNA-seq Kit 使用 -

### SMARTer NGSとは

タカラバイオではSMART技術を軸にシングルセルや微量RNAからのRNA-seq用のライブラリー調製試薬を提供してきました。さらに、シングルセルや微量DNAからの次世代シーケンス(NGS)ライブラリー調製を可能とするThruPLEX技術、PicoPLEX技術を提供することが可能となり、更に試薬ラインナップを充実いたしました。これらの試薬を総称して、“SMARTer NGS”と呼んでいます。

ここではクロマチン免疫沈降シーケンス解析(ChIP-seq)の分野での報告例をご紹介します。これからも、タカラバイオは独自の酵素開発技術により、NGS分野で、扱いやすく信頼性の高いライブラリー調製試薬を提供していきます。

### ヒストン修飾

1. Maatouk, D.M. *et al.* Genome-wide identification of regulatory elements in Sertoli cells. *Development* **144**, 720–30 (2017).

性決定中のマウスセルトリ細胞の調節因子を同定するため、ChIP-seq、DNase I-seq、およびRNA-seqを行っています。ThruPLEX DNA-seq Kitを用いて、セルソーターで分離したマウスセルトリ細胞からH3K27acのChIP-seqライブラリーを調製しています。著者らは、性決定の初期段階においてセルトリ細胞のみで活性化するエンハンサーを同定したことを報告しています。(† H3K27ac)

2. Liu, Y. *et al.* Transcriptional landscape of the human cell cycle. *PNAS* **114**, 3473–78 (2017).

ChIP-seq、DNase-seq、RNA-seq、およびGRO-seqを組み合わせて、細胞周期中の転写の様相を調べています。ThruPLEX DNA-seq Kitを用いて、H3K27acとH3K4me2のChIP-seqおよびDNase-seqのライブラリーを調製しています。MCF-7乳癌細胞株をモデルとして、著者らは、間期と静止期におけるRNA発現量の差異を細胞周期レベルで明らかにしたことを報告しています。また、細胞周期の進行における転写およびエピジェネティックな変動の重要性を報告しています。(† H3K27ac, H3K4me2)

3. Spangle, J.M. *et al.* PI3K/AKT signaling regulates H3K4 methylation in breast cancer. *Cell Rep.* **15**, 1–13 (2016).

ChIP-seqおよびRNA-seqを用いて、乳癌の前臨床モデルにおけるPI3K / AKT経路活性化の役割について報告しています。H3K4me3およびKDM5Aの細胞内局在を測定するため、ThruPLEX DNA-seq Kitを用いてChIP-seqライブラリーを調製しました。著者らは、乳房悪性腫瘍のエピジェネティックな調節におけるPI3K / AKTシグナル伝達経路の重要性を実証し、より具体的に、AKT / KDM5A複合体により調節される細胞周期遺伝子の発現は、進行ステージの乳癌に関連していることを報告しています。(† H3K4me2)

4. Cejas, P. *et al.* Chromatin immunoprecipitation from fixed clinical tissues reveals tumor-specific enhancer profiles. *Nat Med.* **22**, 685–691 (2016).

ヒストンマークの正確な検出のために、FFPE固定化組織から可溶性クロマチンを確実に抽出するクロマチン免疫沈降シーケンス(Fit-seq)と呼ばれる新しい方法についての報告しています。ThruPLEX DNA-seq Kitを使用して、FFPE標本からFit-seqライブラリー、新鮮な凍結サンプルからChIP-seqライブラリーを作製し、2つのライブラリー間のデータが互いに一致することを報告しています。この研究は、Fit-seqが、腫瘍特異的エンハンサーおよびスーパーエンハンサーを明らかにし、既知の発癌性ドライバーと結びつけて、クロマチンの状態が遺伝子調節にどのように影響するかについての理解に寄与できることを報告しています。(† H3K4me2, H3K4me3, H3K4me3, H3K36me3, H3K27me3, H3K9ac)

5. Si, S. *et al.*, Loss of Pcgf5 affects global H2A monoubiquitination but not the function of hematopoietic stem and progenitor cells. *PLOS One* **11**, e0154561 (2016).

ChIP-seqとRNA-seqを用いて造血幹細胞および前駆細胞(HSPC)におけるPolycomb-group(PcG)RINGフィンガータンパク質Pcgf5の役割を解析しました。ThruPLEX DNA-seq Kitを用いてChIP-seqのライブラリーを作製しました。ChIP-seqにより、pcgf5欠損HSPCにおいてH2AK119ub1レベルの低下を確認しましたが、遺伝子発現レベルとの有意な関連性は明確ではありませんでした。著者らは、Pcgf5が*in vivo*でヒストンH2AK119のモノユビキチン化を調節するが、造血における役割はわずかであると結論付けました。(† H3K27me3, H2Ab1)

6. Luizon, M.R. *et al.*, Genomic characterization of metformin hepatic response. *PLOS Genet.* **12**, e1006449 (2016).

ChIP-seqおよびRNA-seqを用いて、ヒト肝細胞におけるメトホルミン肝応答に関与する遺伝子および調節エレメントを報告しています。ChIP-seqライブラリーは、ThruPLEX DNA-seq Kitを用いて調製しています。ヒト肝細胞におけるメトホルミン依存性応答の包括的なゲノムワイドな理解を提供し、2型糖尿病の治療の候補者を特定できたことを報告しています。( + H3K27ac, H3K27me3)

## 転写因子

7. Baejen, C. *et al.* Genome-wide analysis of RNA Polymerase II termination at protein-coding. *Genes. Mol. Cell* **66**, 1–12 (2017).

この論文では、ChIP-seq、ChIP-qPCR、およびその他の方法を用いて、出芽酵母においてRNA Pol. IIの終結がどのように起こるのか報告しています。ThruPLEX DNA-seq Kitを用いてChIP-seqのライブラリーを作製しています。著者らは出芽酵母における3 '転移がPol II伸長因子Spt5を必要とし、DNAからのポリメラーゼIIの遊離がRat1エキソヌクレアーゼを必要とすることを示しました。( + RDB1)

8. Warrick, J.I. *et al.*, FOXA1, GATA3 and PPAR $\gamma$  cooperate to drive luminal subtype in bladder cancer: A molecular analysis of established human cell lines. *Sci. Reps.* **6**, 38531 (2016).

膀胱癌における分子サブタイプの研究に適したヒト細胞株を同定するために、ChIP-seqおよびRNA-seqを行っています。ThruPLEX DNA-seq Kitを用いてChIP-seqライブラリーを調製しています。PPAR $\gamma$ 、GATA3およびFOXA1の過剰発現が、膀胱癌細胞の侵襲性の高い表現型から侵襲性の低い表現型への分化転換に寄与することを報告しています。( + FOXA1)

9. Roy, N. *et al.*, PDX1 dynamically regulates pancreatic ductal adenocarcinoma initiation and maintenance. *Genes Dev.* **30**, 2669–83 (2016).

ChIP-seq、RNA-seq、およびBrU-seqを使用して、膵管腺癌(PDA)の各ステージにおけるPDX1の多様な機能について報告しています。PDX1の免疫沈降DNAからChIP-seqライブラリーを調製するために、ThruPLEX DNA-seq Kitが使用されています。著者らは、PDAの各ステージでPDX1の異なる役割を報告しました。( + PDX1)

10. Hojo, H. *et al.* Sp7/Osterix Is restricted to bone-forming vertebrates where it acts as a Dlx co-factor in osteoblast specification. *Dev. Cell* **37**, 1–16 (2016).

マウスにおける骨形成中の転写因子Sp7 / Osterixの役割を分析するためにChIP-seqおよびRNA-seqを行っています。著者らは、ピオチンモチーフおよび3つのFLAGエピトープがSp7タンパク質のC末端に結合してSp7の結合部位がChIPによって同定することが可能なトランスジェニックマウス系統を作製しました。ThruPLEX DNA-seq Kitを用いて、骨芽細胞エンハンサーを同定するためのChIP-seqライブラリーを作製しました。著者らは、Spファミリー内のSp7の出現は、脊椎動物の進化中の骨形成骨芽細胞の出現において重要な役割を果たす可能性が高いと結論付けました。( + SP7)

11. O'Brien, L.L. *et al.*, Differential regulation of mouse and human nephron progenitors by the Six family of transcriptional regulators. *Development* **143**, 595–608 (2016).

ChIP-seqとRNA-seqを用いて新生仔期のマウスおよびヒト腎臓前駆細胞における転写因子Six1とSix2の調節作用を比較しました。ThruPLEX DNA-seq Kitを用いて、マウスおよびヒトChIP DNAからシーケンスライブラリーを作製しました。この研究は、ヒトおよびマウスのネフロン前駆細胞間での6個の因子の異なる調節の存在を実証し、ヒト腎臓前駆細胞の自己再生の延長期間と腎臓形成の機構的な関連性について報告しています。( + SIX1, SIX2)

+ ChIP用抗体の標的タンパク質 \* ご利用の際には必ず原著論文をご確認ください。

製品の詳細は、タカラバイオのSMARTer NGSのWebページで

SMARTer NGS 文献

検索 

【お問い合わせ先】 Tel:077-565-6972 Fax:077-565-6987 タカラバイオ株式会社 営業企画部

2017年10月作成N

## タカラバイオ株式会社

東京支店 TEL 03-3271-8553 FAX 03-3271-7282

関西支店 TEL 077-565-6969 FAX 077-565-6995

テクニカルサポートライン

TEL 077-565-6999 FAX 077-565-6995

Website <http://www.takara-bio.co.jp>

Facebook <http://www.facebook.com/takarabio.jp>

取扱店