

次世代シーケンス(NGS)に関するお役立ち情報をお届けします。

今号のポイント: タカラバイオのイルミナ社NGS装置用ライブラリー調製キット「ThruPLEX®」を使うことで、微量なChIPサンプルからでもサンプル量が多い場合と遜色のない解析結果が得られました。

【キーワード】 ChIP-Seq、クロマチン免疫沈降、少数細胞、少量サンプル、イルミナ社NGS装置

ThruPLEX® DNA-Seq Kitを使用した少量細胞(10,000細胞)からの安定したChIP-Seq解析手法の確立

(データご提供: 東京大学 定量生命科学研究所 白髭先生、坂東先生)

■ 実験の背景

ChIP(クロマチン免疫沈降)は、目的タンパク質が結合している染色体領域を免疫沈降により濃縮する技術で、その領域を次世代シーケンス(NGS)で網羅的な解析を行う手法がChIP-Seq解析である。ChIP-Seq解析はエピジェネティクスの研究を行うために必要不可欠な技術となっているが、使用する細胞が少なくChIPにより回収されるDNA量が非常に少ない場合があり、微量サンプルから高感度なNGS解析を可能にする技術の確立は重要な課題の一つであった。

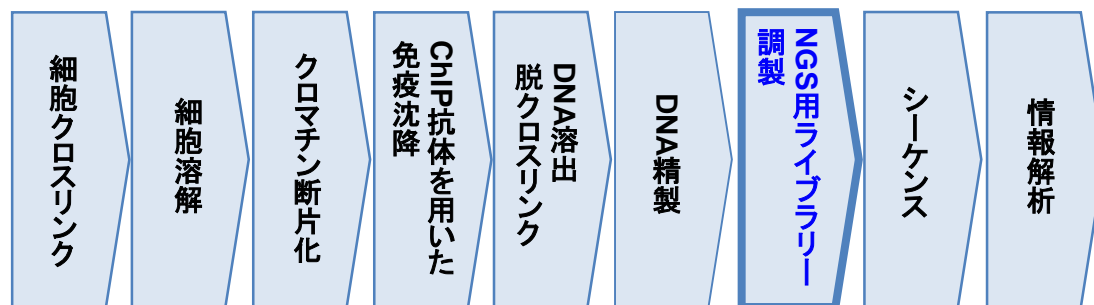
そこで我々は、クロマチン断片化手法の最適化とタカラバイオのThruPLEX® DNA-Seq Kitによるライブラリー化により、ChIP-Seq解析の微量化プロトコールをほぼ固定できた。

■ 使用製品: わずか50 pgのDNAからでも高品質ライブラリーが調製可能なキット

製品名	容量	製品コード	価格(税別)
SMARTer® ThruPLEX® DNA-Seq Kit	24回	R400674	¥104,000

※別途Index Kitが必要です。Indexについては裏面をご覧ください。

■ 実験ワークフロー ※実験ワークフローの詳細は、弊社ウェブサイトの製品ページでご確認ください。



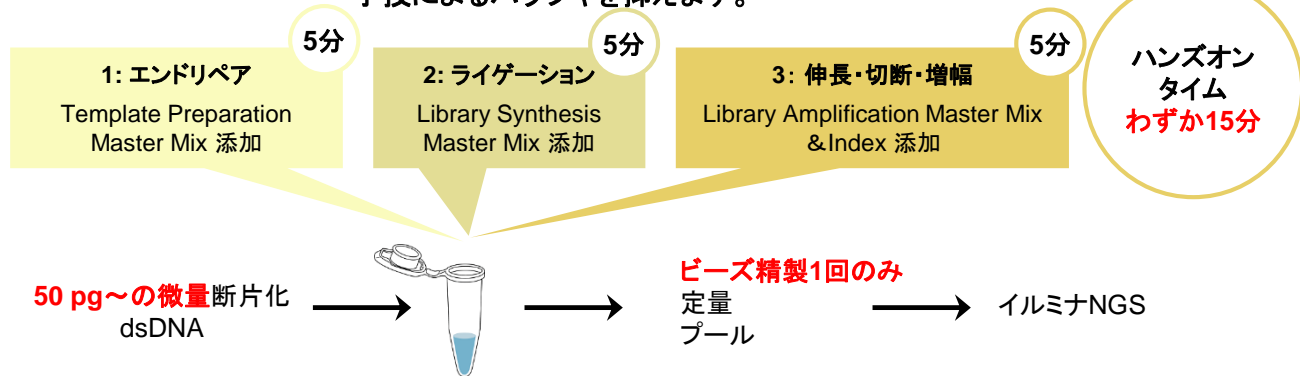
ここで「ThruPLEX®」を使用



NGS試薬担当が、詳しい製品説明にお伺いいたします。ご希望の方は弊社営業担当、もしくは弊社試薬販売店までお気軽にお声かけください。

裏面につづく ➡

■ ThruPLEX®の操作ステップ： シンプルなステップで操作ストレスとサンプルロスを減らし、手技によるバラツキを抑えます。



■ マッピング結果

サンプル	総リード数	マップされたリード数 (%)	マップされなかったリード数 (%)	PCRバイアス (duplicate)
Input	31,400,938	24,696,740 (78.7%)	3,087,220 (9.8%)	3,616,978 (11.5%)
1 × 10 ⁴ 細胞 (H3K4me3)	30,823,404	21,336,878 (69.2%)	6,697,451 (21.7%)	2,789,075 (9.1%)
2.5 × 10 ⁵ 細胞 (H3K4me3)	45,738,702	37,730,704 (82.5%)	4,018,338 (8.8%)	3,989,660 (8.7%)

1 × 10⁴個または2.5 × 10⁵個のRPE細胞から、H3K4me3抗体を用いて免疫沈降してChIP DNAサンプルを取得した。免疫沈降しなかった細胞をInputサンプルとした。その後、ChIP DNAサンプルの全量を用いてSMARTer® ThruPLEX® DNA-Seq Kitでライブラリーを作製し、シーケンス解析した。

少数細胞の1 × 10⁴個の場合でもduplicate率は9.1%となり、細胞数が多い場合(2.5 × 10⁵個)とほぼ同程度の割合となった。

■ まだ使ったことがない方へ言

SMARTer® ThruPLEX® DNA-Seq Kitは、少量から比較的多めのDNAでも使用できることから、少数細胞のChIP-Seq解析を行いたい方はもちろん、サンプル量が少量かどうか見積もることが非常に困難な方にもおすすめです。簡便で効率よくChIP DNAをライブラリー化できるため、初めての方にもおすすめです。

■ 関連製品: Index Kit (Indexプライマー) ※他にも種類があります。詳しくはウェブサイトでご確認ください。

シングルインデックス (イルミナ社 TruSeq DNA シングルインデックス配列)

製品名	Index 種類	容量	製品コード	価格 (税別)
SMARTer® DNA Single Index Kit - 12S Set A	12	96回	R400695	¥54,000

デュアルインデックス (イルミナ社 Nextera XT Index Kit v2 インデックス配列)

製品名	Index 種類	容量	製品コード	価格 (税別)
SMARTer® DNA HT Dual Index Kit - 24N	24	48回	R400664	¥43,000

ユニークデュアルインデックス ("IDT for Illumina UD" ユニークデュアルインデックス配列)

製品名	Index 種類	容量	製品コード	価格 (税別)
SMARTer® DNA Unique Dual Index Kit - 24U Set A	24	48回	R400665	¥49,200

・本チラシで紹介した製品はすべて研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
 ・タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
 ・ライセンス情報については弊社ウェブサイトにてご確認ください。 ・本チラシに記載された社名および製品名は、特に記載がなくても各社の商標または登録商標です。
 ・本チラシ記載の価格は2019年6月10日現在の希望小売価格です。価格に消費税は含まれておりません。

2019年6月作成G

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