

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DNAからでも効率よく発生制御因子のChIP-Seq解析が行える手法を確立しました。

【キーワード】 微量DNA、ChIP-Seq、クロマチン免疫沈降、発生制御因子、動物胚

ThruPLEX® DNA-Seq Kitを使用した、ネッタイツメガエル初期胚で発現する発生制御因子に対するChIP-Seq解析手法の確立

(データご提供: 理化学研究所 生命医科学研究センター 応用ゲノム解析技術研究チーム 安岡有理様)

■ 実験の背景

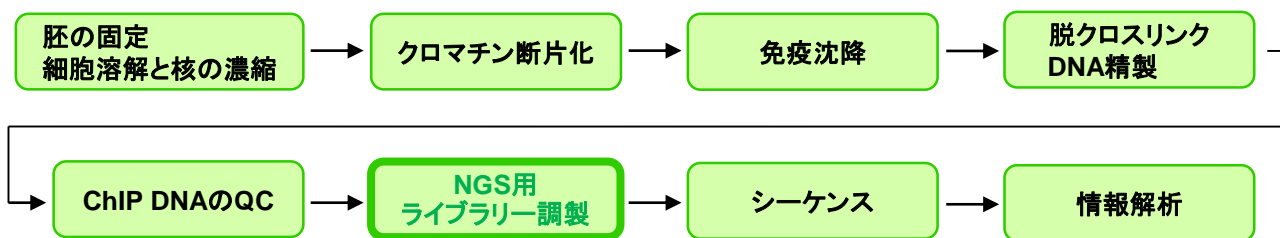
ChIP-Seqとは、クロマチン免疫沈降(ChIP)によって目的タンパク質が結合しているゲノムDNA領域を濃縮し、その領域を次世代シーケンサー(NGS)で解読することで網羅的に決定する手法である。動物の胚発生において、細胞の運命決定を担う転写因子と呼ばれる一連のDNA結合タンパク質がどのようにゲノムDNAに作用して細胞の発生運命を制御しているのかを解き明かす上で、動物胚を用いたChIP-Seq解析は非常に重要な意味を持つ。しかし、動物胚の中でも一部の細胞にのみ発現する発生制御因子(転写因子)を標的としたChIP-Seq解析を実施するためには、限られた発現細胞からChIPによって濃縮されたごく微量のDNAを用いてNGS解析を行う必要がある。我々が研究に用いているネッタイツメガエルは、同調的に発生する胚を一度に多量に入手できる優れた実験動物であり、特に初期発生における遺伝子発現制御ネットワークの解析に適している。そこで我々は、少量のネッタイツメガエル胚からChIPによって濃縮された微量DNAを、タカラバイオ社のThruPLEX® DNA-Seq KitによってNGSライブラリー化することで、効率よく発生制御因子のChIP-Seq解析を行う手法を確立した。

■ 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。

■ 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



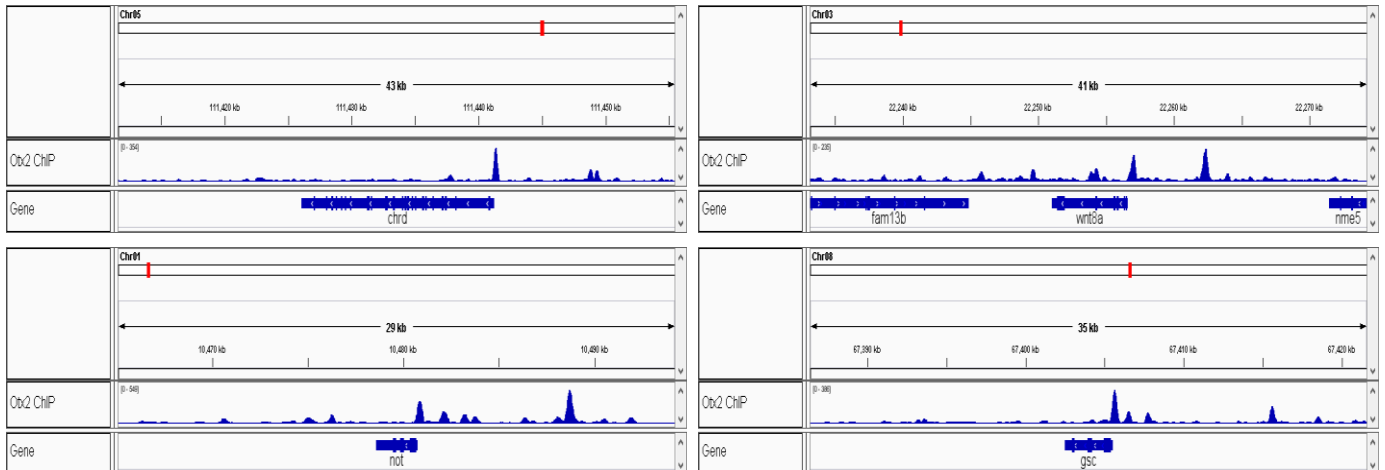
裏面につづく ➡

■ マッピング結果

シーケンス: NextSeq 550
(75 bp × 2)
マッピング: BWA

サンプル	Total reads	Mapped reads (%)
Input	74,426,066	70,219,181 (94.35%)
Otx2 ChIP	82,794,598	75,710,767 (91.44%)

■ IGVによるOtx2 ChIP-Seq結果の可視化例



ネットイツメガエル原腸胚 約250個からChIP反応を行い、1 ng程度のChIP DNAを用いてシーケンスライブラリーを作製した(PCRサイクル=12)。
マッピングデータを見る限り、以前に約2,000個の原腸胚を用いて行ったChIP-Seq解析(※)と同等の結果が得られた。

※ Yasuoka et al., *Nature Communications* 2014; 5:4322.

■ 今回の実験結果を受けての今後のご計画・展望

ThruPLEX® DNA-Seq Kitを用いることで微量DNAからのライブラリー作製が可能となったので、同一転写因子に対するChIP-Seq解析を繰り返し行い、転写因子がどの程度のばらつき(揺らぎ)を持って結合しているのかを今後明らかにしたい。

＜新学術領域「進化制約方向性」公募研究班 http://constrained-evo.org/proposed_projects.html＞

標的とする転写因子や使用する抗体にもよるが、ChIPに用いる胚の数を50~100個ほどに減らせる可能性もあり、今後さらなる条件検討によってより効率よく研究を進められると期待できる。

■ ThruPLEXを使ってChIP-Seqをしたことがない方へ

ThruPLEX® DNA-Seq Kitは蛍光光度計でも測定できないほどの微量DNAからライブラリー作製が可能なので、少数細胞のChIP-Seq解析を行う方にはオススメです。

実験の工程が少なく簡便で、キット内の試薬のチューブラベルも色分けされていてわかりやすく、とても使いやすい仕様になっているので、ライブラリー作製に慣れていない方にもオススメです。

・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7月1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7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