

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:** CUT&RUN-Seqを用いることで、従来のChIP-Seqより少ない細胞数から解析でき、ChIP解析では使用できなかった抗体での解析も可能になりました。

【キーワード】 エピジェネティクス、クロマチン、転写因子、ChIP、ヒストン修飾、少数細胞

## CUT&RUN-Seqを用いた転写因子のプロファイリング

—アリの寿命はエピジェネティクスによって制御される?—

DNA結合タンパク質は細胞プロセスに密接に関与しており、研究者はそのメカニズムを解明することに興味を持っています。細胞プロセスの解析、特にタンパク質が結合するゲノム領域を同定する方法は、クロマチン免疫沈降法(ChIP)とハイスループット解析が可能な次世代シーケンサー(NGS)を組み合わせたChIP-Seqで行われてきました。しかし、ChIP-Seqは必要な細胞数やターゲットタンパク質に関して制限がありました。

CUT&RUN-Seq(Cleavage Under Targets and Release Using Nuclease)は、タンパク質が結合するゲノム領域を簡単に同定することを可能にしました。タカラバイオはこの技術の利点や課題について、ペニンシユラ大学Shelley Berger研究室のポストドクターのKarl Glastadとインタビュー形式で議論しました。彼は現在、アリのカーストに関して、エピジェネティクスの観点から研究を行っています。



### ■ 最近注力している研究テーマは何ですか？

私たちはアリのカーストを決定する分子メカニズムについて研究しています。つまり、元々同一個体であったアリが環境刺激によって極めて異なる表現型をどうやって発達させるのかという疑問に興味を持っています。私たちが注目している研究の1つは、ある1匹のアリの寿命は1年未満なのにその兄弟アリの寿命は10年~20年というように、アリ集団内の極端な寿命の違いです。重要なことは、この違いが生まれる要因は異なるクロマチン修飾や転写因子(TF)の結合によるということです。

### ■ CUT&RUN-Seqは実験目的にどのように適していますか？

従来の方法では不可能であったことが、CUT&RUN-Seqで可能になった部分を教えてください。

アリの組織は生物材料として制限される(15-150k細胞)ことがあるため、従来のクロスリンクを用いたChIP-Seq(X-ChIP)では、条件的に厳しいことがありました。ネイティブChIP法はアリのサンプルにおけるヒストン修飾のアクセシビリティに有用でしたが、非ヒストンクロマチン結合タンパク質である転写因子の解析を行うことはできませんでした。しかしCUT&RUN-Seqを用いることで、X-ChIPでは不可能だった複数の転写因子の解析が可能になりました。さらに私たちは、哺乳類のタンパク質の保存領域に対するいくつかの抗体がX-ChIPでは機能しなかったが、CUT&RUN-Seqでは機能することを発見しました。したがって、CUT&RUN-Seqはアリ脳内の複数の転写因子を調べられるだけでなく、哺乳類の抗原・タンパク質に対する抗体を使って、標的分子を解析することも可能になりました。

### ◆ 微量DNAサンプルからCUT&RUN-Seq、ChIP-Seqを簡便に行えるライブラリー調製キット

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

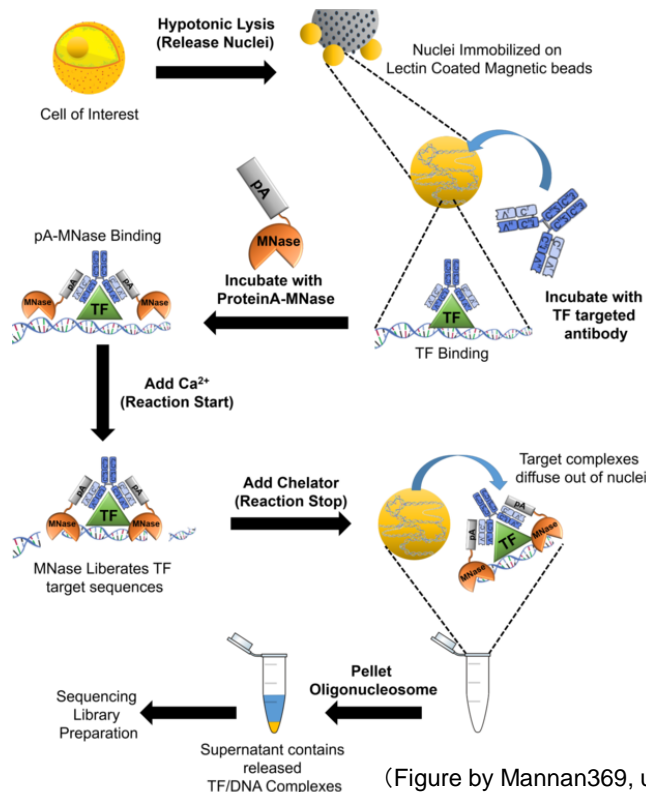
※ 別途 Index Kit が必要です。



裏面につづく ➡

## ■ CUT&RUN-Seqの方法と分子レベルでの作用について教えてください。

ソニケーションやヌクレアーゼによってゲノムが断片化され、標的タンパク質と結合した遺伝子領域が免疫沈降される従来のChIPとは異なり、CUT&RUN-Seqはインтактな細胞または核に*in situ*で抗体が結合し、その後、標的タンパク質が結合したDNAが切断されます。これは、標的タンパク質が結合したDNAのみを特異的に切断するプロテインA-MNase融合タンパク質によって行われます。その結果、免疫沈降などで見られるバックグラウンドを大幅に削減することが可能です。さらに、CUT&RUN-Seqは免疫蛍光染色法(IF)と同様、インтактな細胞または核を用いて行うため、従来のChIPでは機能しなかった抗体を使用できることもあります。



## ■ CUT&RUN-Seqはどのようなアプリケーションに適していますか？

ChIP-Seqのような他の手法の方が適しているアプリケーションはありますか？

CUT&RUN-Seqは、材料が非常に少ないサンプルや、免疫蛍光染色法では機能するが免疫沈降では機能しないような抗体を使用する場合に適しています。また、特異性の高いDNA切断をするため、従来のChIP-Seqよりもはるかにバックグラウンドが低いことが特徴です。

しかし、CUT&RUN-Seqはまだ技術的に初期段階であり、ChIP-Seqで使用しているような情報リソースを使うことができません。例えば、ChIP-Seqの“インプットサンプル”のようなコントロールが制限されてしまい、さまざまな条件(特に転写因子結合量の差)を比較する最善の方法は見つかっていません。さらにさまざまな細胞数におけるコントロールが無い場合も、解析することが難しいとわかっています。しかしこの問題も、CUT&RUN-Seqの普及とサポートが進むにつれ、解消されるはずで。

## ■ CUT&RUN-Seqで得られたデータを補完するために、他にどのような方法を使っていますか？

発現解析のためにRNA-SeqとsmRNA-Seq、クロマチン3次元構造解析のためにhiChIP-Seq、そしてクロマチンへのアクセシビリティの解析にATAC-Seqを用いています。

・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。  
 ・ライセンスなどに関する最新の情報は弊社ウェブサイトをご覧ください。  
 ・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12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12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