

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 補助事業名：創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業）
2. 補助事業課題名：改良型 ChIP-seq 解析によるタンパクプロファイリング技術の高度化
3. 研究開発代表者：国立大学法人東京大学 教授 白髭 克彦
4. 研究開発の成果

今年度は下記の通り実施した。

### 【支援】

#### ①少数細胞の ChIP-seq 解析技術基盤の提供

ヒストン修飾抗体を用いた ChIP（染色体免疫沈降）-seq を中心に 11 グループから計 191 サンプルを受託し、7 割を超えるサンプルについては固定した細胞より染色体免疫沈降産物を調整する段階から、その他のものについては ChIP された DNA をライブラリ化する段階から受託した。191 サンプル全てについてライブラリー作成、うち 156 サンプルについてシーケンス、さらに DROMPA（情報解析パイプライン）によるデータ解析を行った。また、4 つの研究室についてはそれぞれの研究室より助教、あるいはポスドクが代表者の研究室にて直接指導を受けながら染色体免疫沈降の段階からのサンプル調製も行った。

### 【高度化】

#### ②「微量化」による高度化 (抗体と DNA 増幅法の検討)

##### 1) 染色体免疫沈降効率の高い抗体の作成 (分担機関と共同)

従来の 6 種のヒストン修飾に加え、新たに Pol2 修飾、H3K9ac、H3K9me2 抗体について 10000 細胞での ChIP-seq に供することが出来る段階になった。

2) 試行錯誤の結果、Picorupter による染色体可溶化の後に ThruPLEX DNA-seq kit に依る増幅とライブラリ作成を行うことで  $10^4$  の 4 乗細胞からの ChIP-seq を問題なく行うことができるようになった。この課題についてはセルソーターで分画した細胞についてもデータをルーチンに得ることに成功しており、達成度は 100%に近い。

##### ③分担機関により準備される微量化検討サンプルのシーケンス解析を行う。

受託した 11 件中ほぼ全てが微量化が対象の課題であり、全てについて、ライブラリー作成、シーケンスまで終了した(達成度 100%)。

クロマチン断片化手法の最適化と、ThruPLEX DNA-seq kit によるライブラリー化により ChIP-seq の微量化プロトコルをほぼ固定できた。 $10^4$  で得られた H3K4me3 の局在プロファイルは、 $10^5$  から得られたプロファイルと同様の精度の高いデータを得ることが出来た (図 1)。

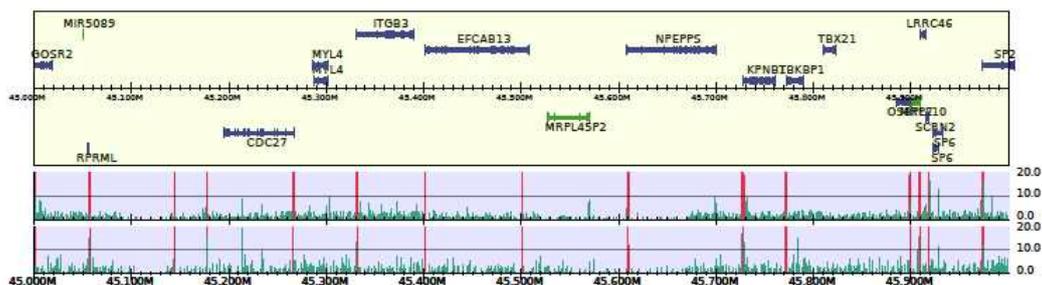


図 1 RPE 細胞 ( $1 \times 10^4$ ; 上段、 $2.5 \times 10^5$ ; 下段)における H3K4me3 の ChIPseq プロファイル

#### ④ChIP-seq の生物種別ノイズの検証と除去による高度化

