

## 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  
(ChIP 技術の高度化)
3. 研究開発代表者：国立大学法人東京工業大学 大学院生命理工学研究科 教授 木村 宏
4. 研究開発の成果

本事業課題は、創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業における機能ゲノミクス支援のため、機能ゲノミクス解析に必要な抗体と ChIP 技術の供給を行うことを目的としている。また、機能ゲノミクス支援の高度化のため、モノクローナル抗体や実験条件のスクリーニングにより沈降率 10%以上の抗体を 20 のタンパクや修飾について取得すること、及び、少数細胞を出発材料として用いる事が出来る新規解析法を開発することも目標としている。

本年度は、以下の支援と高度化を行った。

### 1. ChIP-seq 解析基盤技術提供

ChIP-seq の技術支援に関して、大学に属する研究者からの 5 件以上の事前相談に乗った。また、採択課題に対して、12 件の抗体を依頼者及び代表機関に提供した。具体的には、ヒストン H3K4me2, H3K4me3, H3K9ac, H3K9me1, H3K9me2, H3K9me3, H3K14ac, H3K27ac, H3K27me3, RNA polymerase II Ser2ph, RNA polymerase II Ser5ph の抗体を依頼者及び代表機関に提供した (12 件)。目標は 8 抗体であったが、本年度に高感度化が確認された抗体も含めて、それ以上 (12 種類) が達成できた。

特に、徳島大学に関する支援では、ブロードな局在を示す H3K9me2 の局在解析に成功したことに加え、ヒストンメチル化酵素欠損細胞と脱メチル化酵素欠損細胞における分布の変化を明らかにした。この結果により、脱メチル化酵素は遺伝子領域の脱メチル化に働くことが示唆された。

### 2. 抗体スクリーニング

昨年度の解析の結果から、ChIP で 10%以上の回収率が達成されると 1 万細胞の ChIP-seq にも適用できることから、概ね 10%以上の回収率を達成するための条件を検討した。その結果、新たに H3K9ac, H3K14ac, H3K4me1, RNA polymerase II Ser2ph, RNA polymerase II Ser5ph, RNA polymerase II K7me2 の ChIP で 9%以上の回収率を達成する条件を確認でき、昨年度までの抗体とあわせて全体で 15 の修飾について少数細胞へ適用できる目途が立った。前年度のバッファー条件に加え、抗体とクロマチンとの量比を検討することで、高効率化を達成することができた。他の H4 修飾についても検討を進め、

数%の効率で回収可能になった。また、RNA polymerase II K7me1,  $\gamma$  H2AX 等に対する抗体を開発し、ChIP 条件の検討を行った。

### 3. 極少数細胞からの ChIP-seq 法

100 細胞を用いた微量 ChIP-seq 法の開発のために、細胞の調製法などを検討した。特に、従来の ChIP とは異なる方法で微量化できる可能性が示唆されたため、新規技術について検討した。この方法では、1 細胞レベルまで少数化できる可能性を示す結果も出ており、今後 ChIP に替わる方法として期待できた。

以上の成果をまとめると、支援、高度化とも順調に進んでいる。支援を 13 件行っているほか、1 万細胞に使用できる性能を持つ抗体が目標の 15 に達した。また、極少数細胞のエピゲノム解析に適用可能な新技術の開発も進んでいる。