

高効率なクロマチン免疫沈降を目指したタンパク質タグの開発

1170232 中村優里

Development of protein tags for high-efficiency chromatin immunoprecipitation

Yuri Nakamura

クロマチン免疫沈降 (ChIP) 法は、核内におけるクロマチン中のタンパク質と DNA の相互作用を調べる強力かつ汎用性の高い手法である。この手法は、ある特定の転写因子が相互作用している部位をゲノム全体にわたって同定する際に使用される。しかし、この ChIP 法では本来、転写因子それぞれに対して特異性が高く、親和性も高い抗体を用意する必要がある。この問題点を回避するため、転写因子にタグ (短いペプチド配列) を付加する方法があるが、実用的なタグの種類は限られている。本実験では親和性が高い抗体が利用できる PA タグに関して、PA タグをマルチマー (2 量体 **【PA×2】**、3 量体 **【PA×3】**) にすることにより、ChIP 法により適したタグが得られるかを調べた。まず、GST タンパク質に PA×1、PA×2、PA×3 をつなげたものをそれぞれ作った。そしてそれらが抗 PA 抗体によりどのように認識されるかを Western Blotting 法により調べたところ、PA×3 が極めて感度よく検出された。次に PA×3 タグが付加された *sox3* をゼブラフィッシュ胚で発現させ、効率よく ChIP 法が行えるかを調べた。その結果、抗 PA 抗体により、*sox3* のターゲットであるゲノム配列が効率よく回収されることがわかった。従って、PA×3 は高効率にクロマチン免疫沈降を行うことができるタンパク質タグであると言える。