

タンパク質-DNA複合体の新規解析法 CUT&RUN製品25% OFFキャンペーン

タンパク質-DNA相互作用の新しい解析手法として注目のCUT&RUNアッセイ用製品を新発売しました。発売を記念して**25% OFF**キャンペーンを実施中!この機会にぜひお試しください。

キャンペーン期間 ▶ 2020年1月2日 (木) – 2020年12月24日 (木)

CUT&RUNとは?

CUT&RUNとは**C**leavage **U**nder **T**arget & **R**elease **U**sing **N**ucleaseを略したものであり、標的に特異的な一次抗体とProtein A-Protein G-Micrococcal Nuclease (pAG-MNase)を用いて特定のタンパク質-DNA複合体を分離する*in vivo*解析技術です^{1, 2, 3}。

CUT&RUN製品

Cell Signaling Technology (CST) は、pAG-MNaseだけでなく必要なすべてのバッファーと試薬、詳細なプロトコールが含まれるキットと、pAG-MNaseとSpike-In DNAのセットの2製品をご用意しています。これら製品と標的に対する抗体と組み合わせでご使用ください。

CUT&RUNの利点

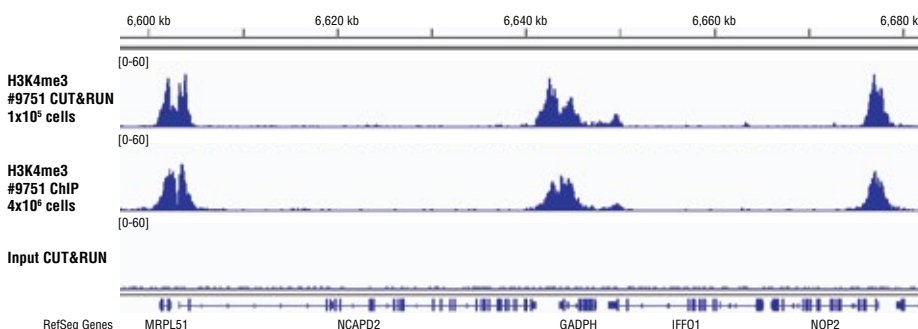
微量サンプルの解析が可能	必要な細胞数はわずか 1×10^5 個
短時間でデータを取得可能	わずか1-2日で細胞から目的のDNAが得られる
シーケンシングコストの低減	必要な高品質リード数はわずか300-500万リード
多様な標的に対応	ヒストン、ヒストン修飾、転写因子、コファクターのqPCRデータやシーケンシングデータが得られる
多様な抗体に対応	ラビット抗体およびマウス抗体で利用可能
高い再現性	Spike-In DNAを利用してサンプル間のシグナルを標準化
クロスリンク不要	未変性のクロマチンを用いた解析のため、生体内を反映しやすい

参考文献

1. Skene P.J. et al. (2018) *Nat. Protoc.* 13(5), 1006-1019. 2. Meers M.P. et al.. (2019) *BioRxiv* 1, 569129. 3. Skene P.J. and Henikoff S. (2017) *Elife* 6, e21865.

詳しくはこちらをご覧ください: www.cst-science.com/cut-run-jp

CSTのCUT&RUN Assay Kitをご利用いただくと、わずか細胞 1×10^5 個からChIP-seqと同等の結果が得られます

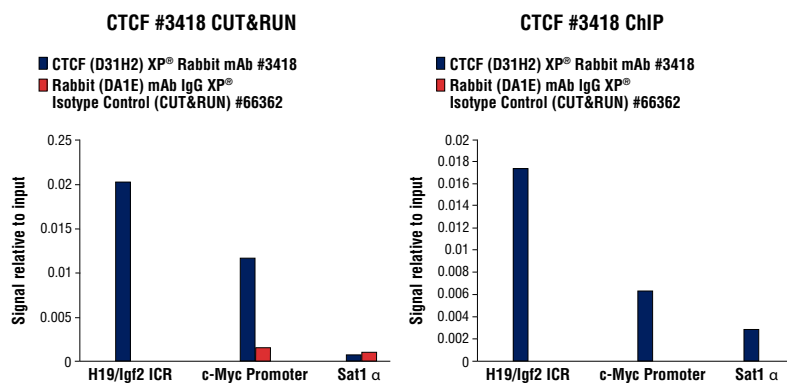


CUT&RUN Assay Kit #86652またはSimpleChIP® Plus Enzymatic Chromatin IP Kit (Magnetic Beads) #9005を用いてCUT&RUNおよびChIPアッセイを行いました。それぞれTri-Methyl-Histone H3 (Lys4) (C42D8) Rabbit mAb #9751を用いてHCT 116細胞 (CUT&RUNに 1×10^5 細胞、ChIPに 4×10^5 細胞を用いました)を解析しました。DNAライブラリーは、SimpleChIP® ChIP-seq DNA Library Prep Kit for Illumina® #56795を用いて調製しました。H3K4me3修飾されることが知られているGAPDH遺伝子の濃縮を比較して図示しました。インプットトラックにはCUT&RUNのインプットサンプルから得られたデータを示しました。

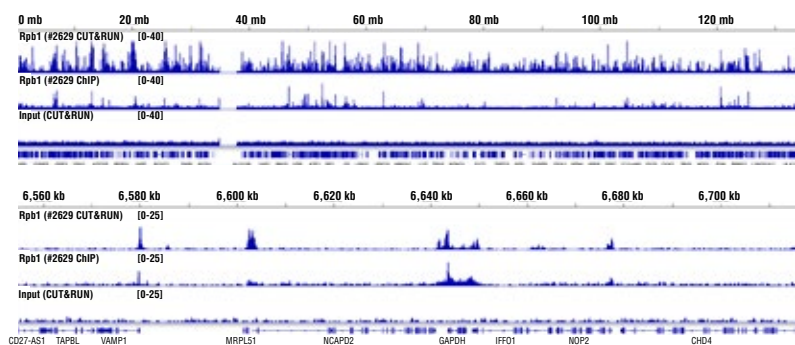
CUT&RUN検証済み抗体

CSTは、CUT&RUN Assay Kitと合わせてご利用可能な26種類の抗体を提供しています。すべてのCST抗体に、個々の抗原や抗体の性質に応じて考案された厳密な試験が実施されています。また、さらなる抗体の検証実験も進めています。

製品番号	製品名	アプリケーション	種交差性
Histone Modifications			
9751	Tri-Methyl-Histone H3 (Lys4) (C42D8) Rabbit mAb	WB IHC-P IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R Mk Dm Sc
9649	Acetyl-Histone H3 (Lys9) (C5B11) Rabbit mAb	WB IP IHC-P IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R Mk Z
8173	Acetyl-Histone H3 (Lys27) (D5E4) XP [®] Rabbit mAb	WB IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R Mk
9733	Tri-Methyl-Histone H3 (Lys27) (C36B11) Rabbit mAb	WB IHC-P IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R Mk
Epigenetic Regulator/Remodeler			
12354	ARID1A/BAF250A (D2A8U) Rabbit mAb	WB IHC-P ChIP	H M R Mk
49360	Brg1 (D1Q7F) Rabbit mAb	WB IP ChIP ChIP-seq	H M R Mk
5856	Bmi1 (D42B3) Rabbit mAb	WB IP IF-IC ChIP ChIP-seq	H M R Mk
3418	CTCF (D31H2) XP [®] Rabbit mAb	WB IP IHC-P IF-IC ChIP ChIP-seq	H M R Mk
32578	DNMT3A (D2H4B) Rabbit mAb	WB IP IF-IC F ChIP ChIP-seq	H
5246	Ezh2 (D2C9) XP [®] Rabbit mAb	WB IP IHC-P IF-F IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R Mk
5694	RING1B (D22F2) XP [®] Rabbit mAb	WB IP IF-IC ChIP ChIP-seq	H M R Mk
2629	Rpb1 CTD (4H8) Mouse mAb	WB IP ChIP	H M R Mk
13499	Phospho-Rpb1 CTD (Ser2) (E1Z3G) Rabbit mAb	WB IP ChIP ChIP-seq	H M R Mk
91735	SMARCB1/BAF47 (D8M1X) Rabbit mAb	WB IP IHC-P ChIP ChIP-seq	H M R Mk
11956	SMARCC1/BAF155 (D7F8S) Rabbit mAb	WB IP ChIP ChIP-seq	H M R Mk
21792	SS18 (D6I4Z) Rabbit mAb	WB IP IHC-P ChIP ChIP-seq	H M R Mk
3737	SUZ12 (D39F6) XP [®] Rabbit mAb	WB IP IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R Mk
Trancription factor			
13440	BRD4 (E2A7X) Rabbit mAb	WB IP ChIP	H
9197	CREB (48H2) Rabbit mAb	WB IP IHC-P IF-F IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R Mk Dm
9198	Phospho-CREB (Ser133) (87G3) Rabbit mAb	WB IHC-P IF-F IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R
5851	GATA-6 (D61E4) XP [®] Rabbit mAb	WB IF-IC F ChIP ChIP-seq	H
97800	MITF (D3B4T) Rabbit mAb	WB ChIP ChIP-seq	H M Mk
8242	NF-κB p65 (D14E12) XP [®] Rabbit mAb	WB IP IHC-P IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R Hm Mk Dg
23064	Sox2 (D9B8N) Rabbit mAb	WB IP IF-F IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M
2569	TCF4/TCF7L2 (C48H11) Rabbit mAb	WB IP ChIP ChIP-seq	H
14074	YAP (D8H1X) XP [®] Rabbit mAb	WB IP IHC-Bond IHC-P IF-IC F ChIP ChIP-seq	H M R Hm Mk



CUT&RUNおよびChIPアッセイは、CUT&RUN Assay Kit #86652 (左パネル) またはSimpleChIP[®] Plus Enzymatic Chromatin IP Kit (Magnetic Beads) #9005 (右パネル) を用いて、HCT116細胞 (CUT&RUNで1x10⁵細胞、ChIPで4x10⁵細胞) およびCTCF (D31H2) XP[®] Rabbit mAb a#3418またはRabbit (DA1E) mAb IgG XP[®] Isotype Control (CUT&RUN) #66362で行いました。SimpleChIP[®] Universal qPCR Master Mix #88989を用いて濃縮されたDNAをリアルタイムPCRで定量しました。PCRに用いたプライマーセットはそれぞれヒトc-Mycプロモータープライマー、SimpleChIP[®] Human H19/Igf2 ICR Primers #5172、SimpleChIP[®] Human α Satellite Repeat Primers #4486です。各サンプルで回収されたDNA量をインプットクロマチンの総量 (1に相当) に対する相対量で示しました。



CUT&RUN Assay Kit #86652またはSimpleChIP[®] Plus Enzymatic Chromatin IP Kit (Magnetic Beads) #9005を用いてCUT&RUNおよびChIPアッセイを行いました。それぞれRpb1 CTD (4H8) Mouse mAb #2629を用いてHeLa細胞 (CUT&RUNで1x10⁵細胞、ChIPで4x10⁵細胞を使用) を解析しました。DNAライブラリーは、SimpleChIP[®] ChIP-seq DNA Library Prep Kit for Illumina[®] #56795を用いて調製しました。12番染色体の広域に渡る濃縮の比較をパネルA、Rpb1の既知の標的であるGAPDH遺伝子の濃縮の比較をパネルBに示しました。InputトラックにはCUT&RUNのインプットサンプルから得られたデータを示しました。

CSTの科学者があなたの質問にお答えします！

CUT&RUNのよくあるご質問 (FAQ)

Q

eLifeの論文 (Meers, M.P. et al. (2019) *eLife* 8, e46314.) では、CUT&RUNを使用して100個の細胞を解析できることが示されています。CSTのキットを使用して同程度の細胞数で分析することは可能ですか？

A

CSTの現時点での社内検証では、細胞数 1×10^5 個で再現性のある結果を得られることが実証されています。

*CSTは現在、追加の検証を行っており、解析可能な推奨細胞数が少なくなる可能性があります。

Q

細胞数を増やすと、より精度の高いデータは得られますか？

A

細胞数を増やしても得られるデータの精度に変わりはありません。

Q

インプット用サンプルのソニケーションは必要ですか？

A

NGS解析時には、インプット用サンプルをソニケーションし、スピнкаラムを使用して断片化したDNA (<10 kb) を精製することを推奨しています。qPCR解析時には、ソニケーションせずにインプット用サンプルを使用することができます。ただし、その場合には、フェノールクロロホルム抽出とエタノール沈殿を用いてDNAを精製する必要があります。

Q

なぜH3K4me3がポジティブコントロールとして使われているのですか？ H3K4me3を解析する時には何をポジティブコントロールとして使うべきですか？

A

Histone H3は豊富に存在するためDNA切断効率を下げてしまいますが、H3K4me3はどの細胞にも局所的に存在するためDNA切断効率に影響を与えず、ポジティブコントロールとして最適です。H3K4me3検出時のコントロールには、Tri-Methyl-Histone H3 (Lys27) (C36B11) Rabbit mAb #9733をご使用ください。

Q

フェノールクロロホルムとカラム精製の場合、どちらが良いですか？また、回収されるDNAの長さや収量も教えてください。

A

すべてのDNA断片を回収する場合にはフェノールクロロホルム法がご利用いただけます。≦ 35 bp (全体の2%) を除くすべてのDNA断片を回収する場合には、#14209を用いたカラム精製がご利用いただけます。回収されるDNAの長さは平均80-150 bp、DNA収量は平均0.6-6 ngです。

その他にもCUT&RUN実験についての経験と情報がございます。ご質問がございましたら弊社テクニカルサポートへお問合せください。Eメール：techjp@cellsignal.com

CUT&RUNの原理

方法の概要

抗体とpAG-MNaseの結合：

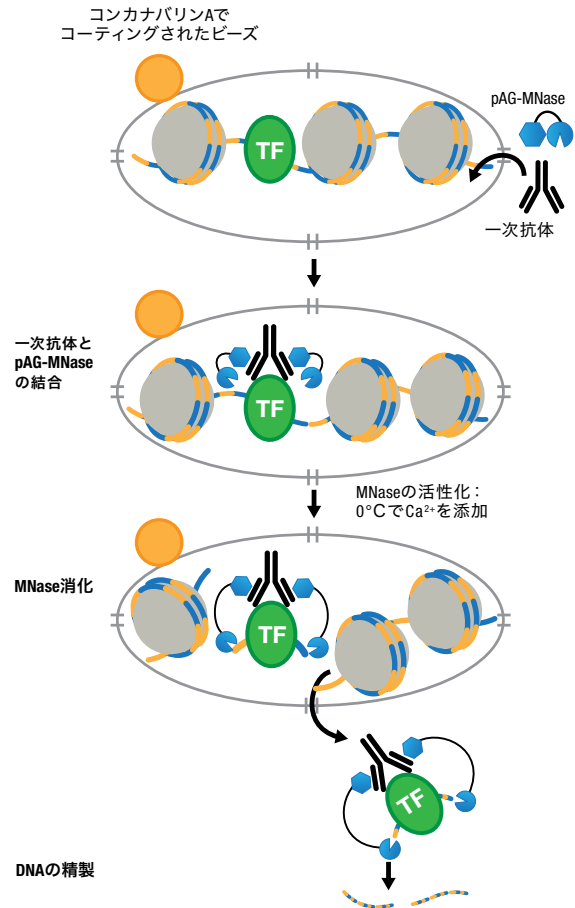
1. 細胞をコンカナバリンAでコーティングした磁気ビーズに固定します。これによって後のバッファーや試薬の交換が容易になります。
2. 次に細胞膜をジギトニンで透過化処理して一次抗体やpAG-MNase融合タンパク質の細胞核内への進入を促進します。
3. 融合タンパク質のpAGドメインと抗体のタンパク質間相互作用を介して一次抗体が結合したクロマチン領域にpAG-MNaseを配置します。

MNaseによる消化：

4. Ca^{2+} を加えることでpAG-MNaseが活性化され、緩やかにDNAが切断されます。これによって切り出された目的のクロマチン断片がゲノムクロマチンから解離して細胞外の上清に拡散します。

DNAの精製：

5. こうしてサンプルの上清に拡散したDNAをスピンカラム、あるいはフェノール/クロロホルム抽出とエタノール沈殿で回収します。回収された濃縮DNAはqPCRやNG-seqで同定や定量解析することができます。



製品番号	製品名	サイズ	希望納入価格 (円)	キャンペーン特別価格 (円)
#86652	CUT&RUN Assay Kit	1 Kit (24回分)	115,000	86,250

91931の梱包内容

Concanavalin A Bead Activation Buffer [5 mL], Antibody Binding Buffer (-Digitonin, -Spermidine, -PIC) [2.5 mL], 10X Wash Buffer (-Spermidine, -PIC) [15 mL], DNA Extraction Buffer (-Proteinase K, -RNase A) [7 mL], Calcium Chloride [100 µL]

82307の梱包内容

Concanavalin A Magnetic Beads [240 µL]

72917の梱包内容

pAG-MNase Enzyme [40 µL], Digitonin Solution [2 x 1.2 mL], 100X Spermidine [1.3 mL], Sample Normalization Spike-In DNA (1 ng/µL) [120 µL], Sample Normalization Primer Set [150 µL], 4X Stop Buffer (-Digitonin, -RNase A, -Spike-In DNA) [1 mL], Protease Inhibitor Cocktail (200X) [750 µL], Proteinase K (20 mg/mL) [100 µL], RNase A (10 mg/mL) [50 µL], Tri-Methyl-Histone H3 (Lys4) (C42D8) Rabbit mAb [20 µL], Rabbit (DA1E) mAb IgG XP® Isotype Control (CUT&RUN) [100 µL], SimpleChIP® Human RPL30 Exon 3 Primers [150 µL], SimpleChIP® Mouse RPL30 Intron 2 Primers [150 µL]

製品番号	製品名	サイズ	希望納入価格 (円)	キャンペーン特別価格 (円)
#40366	CUT&RUN pAG-MNase and Spike-In DNA	1 Kit (50回分)	68,000	51,000

梱包内容

pAG-MNase Enzyme [2 x 40 µL], Sample Normalization Spike-In DNA (2 pg/µL) [250 µL]

本パンフレット中の価格は2020年6月現在のものです。消費税は含まれておりません。製品の仕様、価格等は、予告なく変更される場合がありますのでご了承ください。

© 2020 Cell Signaling Technology, Inc. Cell Signaling Technology, CST, and XP are trademarks of Cell Signaling Technology, Inc. All other trademarks are the property of their respective owners.

試験研究用

19-CUT-177901-FLY1-J1

■ 輸入販売元



〒101-0047

東京都千代田区内神田1-6-10 笠原ビルディング10階

www.cellsignal.jp

■ 取扱店