

[논문리스트] ThruPLEX® DNA-Seq Kit

ThruPLEX®를 이용하면 ChIP-Seq 분석이 더욱 스마트해집니다!

여러분의 실험을 성공으로 이끌기 위하여 노력하는 다카라코리아에서 Chromatin Immunoprecipitation sequencing (ChIP-seq)을 위한 새로운 제품을 소개합니다. ChIP-seq 분야에서 가장 정평이 나 있는, ThruPLEX® DNA-Seq Kit을 만나보세요!

ThruPLEX® DNA-Seq Kit (Code RB4523)

- ThruPLEX® Technology 기반
- High performance: 소량 DNA 적용 (50pg to 50ng DNA)
- 넓은 적용성: Genomic DNA, ChIP-DNA, FFPE DNA, cDNA, cell-free DNA 적용 가능
- Fast and simple: 단일 튜브에서 단 3번의 스텝 (조작시간 15분)

[논문리스트]

1. Baejen, C. *et al.* Genome-wide analysis of RNA Polymerase II termination at protein-coding. *Genes. Mol. Cell* 66, 1–12 (2017). doi: 10.1016/j.molcel.2017.02.009

- 효모의 RNA Pol II Termination 과정을 규명하기 위하여, ChIP-seq, ChIP-qPCR 등 실험하였으며, [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)을 이용하여 ChIP-seq NGS library를 제조하였다.
- 논문저자는 ChIP-seq 분석을 통하여, 효모출아과정에서의 3'-transition은 Pol II elongation factor Spt5를 필요로 한다는 것을 규명하였다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

2. Maatouk, D.M. *et al.* Genome-wide identification of regulatory elements in Sertoli cells. *Development* 144, 720–30 (2017). doi: 10.1242/dev.142554

- 본 논문은 **마우스 세르톨리주 세포(Sertoli cells)**에서 성별결정과정 (Sex determination)의 조절인자를 규명하기 위하여 ChIP-seq, DNaseI-seq, RNA-seq 실험을 하였으며, FACS로 분리한 마우스 세르톨리주 세포로부터 [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)을 이용하여 ChIP-seq library를 제작하였다.
- H3K27ac의 chromatin landscape에 DNaseI-seq peak를 오버랩(overlap), 분석함으로써 H3K27ac Enhancer가 마우스 세르톨리주세포의 성별결정과정의 초기단계(early stage)에서만 활성을 지님을 확인하였다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

3. Liu, Y. *et al.* Transcriptional landscape of the human cell cycle. *PNAS* 114, 3473–78 (2017).

doi: 10.1073/pnas.1617636114

- 본 논문은 ChIP-seq, DNase-seq, RNA-seq, GRO-seq 분석을 조합하여, 세포주기 (cell cycle) 동안의 transcriptional landscape를 규명하였다. ChIP-seq, DNase-seq library는 [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)로 제작되었다.
- 본 논문의 저자는 **MCF-7 breast cancer cell line**을 사용하여 세포주기에서 전사상태와 steady-state의 RNA 발현레벨에서의 시간지연 (lag)을 규명하였다. 또한, 저자는 세포주기 동안의 Transcriptional과 epigenetic dynamic의 중요성에 대하여 강조하였다.

[논문 자세히 보기 >>](#)



4. Warrick, J.I. et al. FOXA1, GATA3 and PPAR γ cooperate to drive luminal subtype in bladder cancer: A molecular analysis of established human cell lines. *Sci. Reps.* 6, 38531 (2016). doi:10.1038/srep38531

- Human cell line이 분자수준의 방광암(bladder cancer) 연구에 적합한지 ChIP-seq, RNA-seq을 통해 확인하였다. ChIP-Seq은 [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)로 제작하였다.
- 본 논문의 저자는 PPAR γ , GATA3, FOXA1 유전자의 과발현이 방광암의 전환분화 (transdifferentiation)에 기여한다는 것을 규명하였다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

5. Roy, N. et al. PDX1 dynamically regulates pancreatic ductal adenocarcinoma initiation and maintenance. *Genes Dev.* 30, 2669–83 (2016). doi: 10.1101/gad.291021.116

- **췌장관세포암 (pancreatic ductal adenocarcinoma; PDA)**의 진행단계에서 PDX의 다양한 기능을 분석하기 위하여 ChIP-seq, RNA-seq, BrU-seq 기법을 적용하였다. [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)는 PDX-1 immunoprecipitated DNA로부터 ChIP-seq library를 제작하기 위해 사용되었다.
- 본 논문의 저자는 췌장관세포암(PDA)의 진행단계에서 PDX1의 역할을 구분하였으며 발암작용 (carcinogenesis)의 각기 다른 단계에서 PDX1 유전자의 기능을 이해하는 것은 췌장관세포암 치료의 잠재적인 타겟이 될 수 있음을 제안하였다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

6. Luizon, M.R. et al. Genomic characterization of metformin hepatic response. *PLOS Genet.* 12, e1006449 (2016). doi: 10.1371/journal.pgen.1006449

- **인간 간세포 (Human hepatocyte)**에서 metformin hepatic response와 연관된 유전자와 조절인자를 규명하기 위하여 ChIP-seq과 RNA-Seq을 이용하였으며, [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)으로 ChIP-seq library를 제작하였다.
- 본 논문의 저자는 인간 간세포의 metformin-dependent response의 포괄적인 유전체범위 분석 데이터를 제공하며, 또한 제 2형 당뇨 (Type 2 diabetes)에 대한 잠재적인 치료 가능성을 제시하였다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

7. Spangle, J.M. et al. PI3K/AKT signaling regulates H3K4 methylation in breast cancer. *Cell Rep.* 15, 1–13 (2016). doi: 10.1016/j.celrep.2016.05.046

- ChIP-seq, RNA-seq 분석을 이용하여 **유방암의 전임상단계 모델에서 PI3K/AKT pathway activation**의 역할을 규명하였다. H3K4me3, KDM5A 유전자의 subcellular localization을 측정하기 위하여 [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)로 ChIP-seq library를 제작하였다.
- 본 논문의 저자는 유방악성종양 (breast malignancies)에서 epigenetic landscape를 조절하는 PI3K/AKT signaling pathway의 중요성을 입증하였다. 또한, AKT/KDM5A 복합체에 의해 조절되는 세포주기 유전자의 발현 (the expression of cell-cycle genes)이 진행성유방암 (advanced-stage breast cancer)와 연관되어있음을 규명하였다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

8. Hojo, H. et al. Sp7/Osterix Is restricted to bone-forming vertebrates where it acts as a Dlx co-factor in osteoblast specification. *Dev. Cell* 37, 1–16 (2016). doi: 10.1016/j.devcel.2016.04.002

- 마우스 골형성 단계의 전사인자인 Sp7/Osterix의 역할을 분석하기 위하여 ChIP-seq, RNA-seq이 이용되었다. 본 논문의 저자는 biotin-motif와 세 개의 FLAG epitope가 Sp7 단백질의 C-말단에 결합되어 있어 Sp7 단백질의 결합부위를 ChIP으로 확인할 수 있는 **형질전환 마우스 라인 (transgenic mouse line)**을 제작하였다. 그 후, [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)은 ChIP-seq을 통한 조골세포 성장인자 (osteoblast enhancers)를 규명하기 위하여 이용되었다.
- 본 논문은 Sp family 중에서도 Sp7 단백질의 출현이 척추동물의 진화 과정 중 조골세포의 발생에 중요한 역할을 하였을 것으로 보고하였다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

9. Cejas, P. et al. Chromatin immunoprecipitation from fixed clinical tissues reveals tumor-specific enhancer profiles. *Nat Med.* 22, 685–691 (2016). doi:10.1038/nm.4085

- 본 논문은 Histone mark의 정확한 검출을 위하여 FFPE 조직 샘플로부터 soluble chromatin의 신뢰성 높은 추출을 위한 새로운 방법, Fixed tissue chromatin immunoprecipitation sequencing (FiT-seq)에 대한 정보를 제공한다. [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)를 사용하여 FFPE 샘플로부터 FiT-seq library를, Fresh frozen 샘플로부터 ChIP-seq library를 제작하였으며, 두 샘플로부터 도출된 데이터는 서로 일치하는 것으로 입증되었다.
- 본 연구는 FiT-seq를 이용하여 종양특이적 인자 (tumor-specific enhancer)와 super enhancer를 분석할 수 있으며, 또한 크로마틴상태 (chromatin state)가 어떻게 유전자 조절에 영향을 미칠 수 있는지를 보여준다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

10. Si, S. et al. Loss of Pcgf5 affects global H2A monoubiquitination but not the function of hematopoietic stem and progenitor cells. *PLOS One* 11, e0154561 (2016). doi: 10.1371/journal.pone.0154561.

- 본 논문은 ChIP-seq과 RNA-seq을 이용하여 hematopoietic stem cell and progenitor cell (HSPCs)에서의 Polycomb-group RING finger protein (Pcgf5)의 역할을 분석하였다. ChIP-seq library는 [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)을 이용하여 제작되었다.
- ChIP-seq 분석 결과, pcgf5-deficient HSPCs에서는 H2AK119ub1의 수준이 감소한다는 것을 밝혔으나 유전자 발현 수준과의 관련성은 밝히지 못 하였다. 본 논문의 저자는 Pcgf5가 *in vivo* 모델에서 Histone H2AK119 monoubiquitination을 조절하지만, 조혈작용에서의 역할은 미미하다고 결론 지었다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

11. O'Brien, L.L. et al. Differential regulation of mouse and human nephron progenitors by the Six family of transcriptional regulators. *Development* 143, 595–608 (2016). doi: 10.1242/dev.127175

- 본 논문에서는 nephrogenesis 과정 동안의 마우스 및 인간의 신장 전구세포 (kidney progenitor cell)에서 전사인자 Six2의 조절 작용을 ChIP-seq, RNA-seq을 이용하여 비교하였다. [ThruPLEX DNA-Seq Kit](#)을 이용하여 마우스와 인간 ChIP DNA로부터 Sequencing library를 제작하였다.
- 본 논문은 인간과 마우스의 네프론 전구체 사이에는 서로 다른 여섯 개의 조절인자가 관여하고 있음을 규명하였으며 전구체 세포의 자가재생(self-renewal)과 인간 신장의 nephrogenesis에 대한 잠재적인 연관성 (potential mechanistic link)을 제시하였다.

[논문 자세히 보기 >>](#)

[ChIP-seq 기술 비교 논문-Review]

1. Sundram A.Y.M. et al. A comparative study of ChIP-seq sequencing library preparation methods. *BMC Genomics* 17, 816 (2016). doi: 10.1186/s12864-016-3135-y

- 본 논문은 1ng, 0.1ng의 H3K4me3 ChIP DNA를 이용하여 low-input DNA 또는 ChIP-seq sample을 위한 7개의 preparation kit (Accel-NGS® 2S, Bowman-method, HTML-PCR, SeqPlex™, DNA SMART™, TELP and [ThruPLEX® DNA-Seq Kit](#))을 비교 분석하였다.
- 논문에서 키트를 비교한 결과, Rubicon Genomics [ThruPLEX® DNA-Seq Kit](#)은 peak calling, peak strength correlation, IDR 등의 분석 데이터에서 뛰어난 데이터 효율을 보였으며, 특히 본 제품은 "single-tube protocol"이 강력한 장점이라는 것을 명시하였다.

(논문원문발췌)

"The ThruPLEX reagents from Rubicon Genomics scored a close second on the critical metrics of peak calling, peak strength correlation, and IDR. Notably, the efficient and single-tube protocol for these reagents also makes them an attractive choice."

[논문 자세히 보기 >>](#)

