

组织染色质免疫共沉淀 (ChIP) 试剂盒

20T WLA122

仅用于科学研究,不能用于诊断

Wanleibio



产品信息

产品名称 组织染色质免疫共沉淀 (ChIP) 试剂盒

产品概述 染色质免疫沉淀技术 (chromatin immunoprecipitation assay, ChIP) 作为最佳的研究体内DNA与蛋白质相互作用的方法, 它的基本原理是在活细胞状态下固定蛋白质-DNA复合物, 并将其随机切断为一定长度范围内的染色质小片段, 然后通过免疫学方法沉淀此复合体, 特异性地富集目的蛋白结合的DNA片段, 通过对目的片断的纯化与检测, 从而获得蛋白质与DNA相互作用的信息。

包装信息

试剂盒组分	WLA122 (20T)	保存条件
1M 甘氨酸	26ml	4°C
蛋白酶抑制剂	300μl	-20°C
Buffer A	20ml	4°C
Buffer B	10ml	4°C
Chip Dilution Buffer	24ml	4°C
ProteinA+G beads	2.4ml	4°C
RNA Polymerase II抗体	40μl	-20°C
正常血清 IgG	40μl	-20°C
Low Salt Wash Buffer	20ml	4°C
High Salt Wash Buffer	20ml	4°C
LiCl Wash Buffer	20ml	4°C
TE Buffer	40ml	4°C
RNaseA	20μl	-20°C
Proteinase K	20μl	-20°C
阳性对照引物	20μl	-20°C

注意事项

1. 甲醛固定时, 时间不宜过长, 10min即可。
2. 超声时温度不能过高, 最好冰浴进行; 防止样品起沫。
3. 样品中加入填料后离心转数不能过大, 防止填料破碎。
4. 蛋白酶抑制剂使用前室温融化。
5. 提供的阳性对照引物, 可用于扩增human GAPDH的部分相应序列, 引物序列为: 5'-TACTAGCGGTTTTACGGGCGG-

操作流程

1. 称取新鲜的组织或冰冻的组织, 用振动切片机将组织切成1-3mm小块。
2. 转移组织至50ml离心管中, 用预冷的PBS清洗3次, 去除PBS, 加培养液 (1640) 至9ml。
3. 加入243 μl 37%甲醛, 使得甲醛终浓度为1%, 室温摇床15min。
4. 终止交联: 加1M 甘氨酸1.26ml, 使其终浓度为0.125M, 室温摇床5min。
5. 吸尽培养基, 用预冷的PBS洗两次后, 加适量蛋白酶抑制剂 (2ml PBS中加入5μl 蛋白酶抑制剂), 用玻璃匀浆器将组织磨碎, 形成单细胞悬液, 2000rpm, 4°C离心5min。
6. 弃上清, 加入1ml Buffer A, 冰上放置10min, 3000-5000rpm离心5min。
7. 弃上清, 加入400μl Buffer B (每100μl Buffer B中含有10⁶细胞) 重悬后加入5μl 蛋白酶抑制剂。
8. 超声破碎。一般来说, 300W超声15s, 间隔45s, 13次。12000rpm, 4°C离心20min。取20μl上清进行步骤19-23之

组织染色质免疫共沉淀 (ChIP) 试剂盒

20T WLA122

Wanleibio

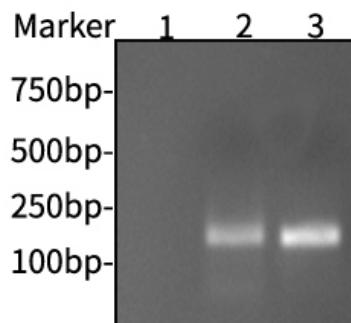


仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

9. 样品分成三组, 每组100 μ l, **A**: 实验组; **B**: 阳性对照组; **C**: 阴性对照组, 剩余样品可放置-80°C保存。
10. 在三组样品中分别加入900 μ l **Chip Dilution Buffer**。
11. 准备**ProteinA beads**, 用1ml **PBS** 清洗三次 (3000rpm离心1min) 后保存备用, 此步可提前准备。
12. 三组样品中各加入60 μ l **ProteinA beads**, 4°C颠倒混匀1-2h。
13. 混匀后4°C静置10min, 3000rpm离心1min。
14. 取上清, 每组样品取20 μ l进行**Input**实验, -20°C保存。
15. 实验组中加入1-10 μ g抗体; 阳性对照组加入1 μ g **RNA Polymerase II**抗体; 阴性对照组加入1 μ g正常血清IgG, 4°C颠倒混匀过夜。
16. 三组样品中再加入60 μ l **ProteinA beads**, 4°C颠倒混匀1-2h。
17. 洗涤**ProteinA beads**。依次用下列溶液清洗沉淀复合物。清洗步骤为: 加入1ml 预冷溶液, 在4°C混匀10min, 3000rpm离心1min, 除去上清。
 - a. **Low Salt Wash Buffer**, 1次。
 - b. **High Salt Wash Buffer**, 1次。
 - c. **LiCl Wash Buffer**, 1次。
 - d. **TE Buffer**, 2次。
18. 每管加入100 μ l **Elution Buffer** (100 μ l 10% **SDS**+100 μ l 1M **NaHCO₃**+800 μ l **ddH₂O**) , 室温颠转10min后3000rpm离心1min, 收集上清。重复洗脱1次, 终体积200 μ l。
19. 取出**Input**实验样品, 室温融化后加入180 μ l **Elution Buffer**。
20. 解交联。每管中加入8 μ l 5M **NaCl**, 混匀, 65°C解交联过夜。
21. 解交联结束后, 每管加入1 μ l **RNaseA**, 37°C孵育1h。
22. 每管加入4 μ l 0.5M **EDTA**, 8 μ l 1M **Tris-HCl** (PH=6.5) , 1 μ l **Proteinase K**, 45°C孵育2h。
23. **DNA**片段回收 (**WLA092a PCR纯化试剂盒**) 。

产品图片



1. 阴性对照组
2. 阳性对照组
3. Input组