

# 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

## 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  | 有效期 |
|-----------------------|--------------|-------|-----|
| 1M 甘氨酸                | 26ml         | 4°C   | 一年  |
| 蛋白酶抑制剂                | 300μl        | -20°C | 一年  |
| Buffer A              | 20ml         | 4°C   | 一年  |
| Buffer B              | 10ml         | 4°C   | 一年  |
| Chip Dilution Buffer  | 24ml         | 4°C   | 一年  |
| ProteinA+G beads      | 2.4ml        | 4°C   | 一年  |
| RNA Polymerase II抗体   | 40μl         | -20°C | 一年  |
| 正常血清 IgG              | 40μl         | -20°C | 一年  |
| Low Salt Wash Buffer  | 20ml         | 4°C   | 一年  |
| High Salt Wash Buffer | 20ml         | 4°C   | 一年  |
| LiCl Wash Buffer      | 20ml         | 4°C   | 一年  |
| TE Buffer             | 40ml         | 4°C   | 一年  |
| RNaseA                | 20μl         | -20°C | 一年  |
| Proteinase K          | 20μl         | -20°C | 一年  |
| 阳性对照引物                | 20μl         | -20°C | 一年  |

### 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'-TACTAGCGGTTTACGGGCG-3'；5'-TCGAACAGGAGGAGCAGAGAGCGA-3'。
6. 开封后请尽快使用。

### 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10<sup>6</sup>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之后再用电泳检测，抹带集中在500-1000bp左右即可。

# 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 $\mu$ 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 $^{\circ}$ C保存。
10. 在三组样品中分别加入900 $\mu$ 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 $\mu$ l ProteinA beads, 4 $^{\circ}$ C颠倒混匀1-2h。
13. 混匀后4 $^{\circ}$ C静置10min, 3000rpm离心1min。
14. 取上清, 每组样品取20 $\mu$ l进行Input实验, -20 $^{\circ}$ C保存。
15. 实验组中加入1-10 $\mu$ g抗体; 阳性对照组加入1 $\mu$ g RNA Polymerase II抗体; 阴性对照组加入1 $\mu$ g正常血清IgG, 4 $^{\circ}$ C颠倒混匀过夜。
16. 三组样品中再加入60 $\mu$ l ProteinA beads, 4 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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 $\mu$ l Elution Buffer (100 $\mu$ l 10%SDS+100 $\mu$ l 1M NaHCO<sub>3</sub>+800 $\mu$ l ddH<sub>2</sub>O), 室温颠转10min后3000rpm离心1min, 收集上清。重复洗脱1次, 终体积200 $\mu$ l。
19. 取出Input实验样品, 室温融化后加入180 $\mu$ l Elution Buffer。
20. 解交联。每管中加入8 $\mu$ l 5M NaCl, 混匀, 65 $^{\circ}$ C解交联过夜。
21. 解交联结束后, 每管加入1 $\mu$ l RNaseA, 37 $^{\circ}$ C孵育1h。
22. 每管加入4 $\mu$ l 0.5M EDTA, 8 $\mu$ l 1M Tris-HCl (PH=6.5), 1 $\mu$ l Proteinase K, 45 $^{\circ}$ C孵育2h。
23. DNA片段回收 (WLA092a PCR纯化试剂盒)。
24. 对照品的PCR。
25. 取出每种PCR反应物10 $\mu$ l, 进行琼脂糖凝胶电泳, 最后根据电泳结果进行分析。

## 产品图片

