

细胞染色质免疫共沉淀（ChIP）试剂盒

产品货号：BA2462

产品规格：20T

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。

产品组成：

试剂盒组分	规格	保存条件
1M 甘氨酸	26ml	2-8℃
蛋白酶抑制剂	300μl	-20℃
Buffer A	20ml	2-8℃
Buffer B	10ml	2-8℃
Chip Dilution Buffer	24ml	2-8℃
ProteinA+G beads	2.4ml	2-8℃
RNA Polymerase II(0.5ug/ul)抗体	40μl	-20℃
正常血清 IgG	40μl	-20℃
Low Salt Wash Buffer	20ml	2-8℃
High Salt Wash Buffer	20ml	2-8℃
LiCl Wash Buffer	20ml	2-8℃
TE Buffer	40ml	2-8℃
RNase A	20μl	-20℃
Proteinase K	20μl	-20℃
阳性对照引物	20μl	-20℃

操作流程：

1. 每皿细胞（9ml 培养液），加入 243μl 37%甲醛，使得甲醛的终浓度为 1%，室温培养 10min。
2. 终止交联：加 1M 甘氨酸 1.26ml，使其终浓度为 0.125M，室温培养 5min。
3. 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），用细胞刮收集细胞，
2000rpm，4℃ 离心 5min。
4. 弃上清，加入 1ml Buffer A，冰上放置 10min，3000-5000rpm 离心 5min。
5. 弃上清，加入 400μl Buffer B 重悬后加入 5μl 蛋白酶抑制剂。
6. 超声破碎。一般来说，300W 超声 10s，间隔 30s，12 次。12000rpm，4℃ 离心 20min。取 20μl 上清进行步骤 17-21 之后进行电泳检测，抹带集中在 500-1000bp 左右即可。
7. 样品分成三组，每组 100μl，A：实验组；B：阳性对照组；C：阴性对照组，剩余样品可放置-80℃ 保存。
8. 在三组样品中分别加入 900μl Chip Dilution Buffer。
9. 准备 ProteinA+G beads，用 1ml PBS 清洗三次（3000rpm 离心 1min）后保存备用，此步可提前准备。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

10. 三组样品中各加入 60μl ProteinA+G beads, 4°C 颠倒混匀 1-2h。
11. 混匀后 4°C 静置 10min, 3000rpm 离心 1min。
12. 取上清, 每组样品取 20μl 进行 Input 实验, -20°C 保存。
13. 实验组中加入 1-10μg 抗体; 阳性对照组加入 1μg RNA Polymerase II 抗体; 阴性对照组加入 1μg 正常血清 IgG, 4°C 颠倒混匀过夜。
14. 三组样品中再加入 60μl ProteinA+G beads, 4°C 颠倒混匀 1-2h。
15. 洗涤 ProteinA+G 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。
16. 每管加入 100μl Elution Buffer (100μl 10%SDS+100μl 1M NaHCO₃+800μl ddH₂O), 室温颠转 10min 后 3000rpm 离心 1min, 收集上清。重复洗脱 1 次, 终体积 200μl。
17. 取出 Input 实验样品, 室温融化后加入 180μl Elution Buffer。
18. 解交联。每管中加入 8μl 5M NaCl, 混匀, 65°C 解交联过夜。
19. 解交联结束后, 每管加入 1μl RNase A, 37°C 孵育 1h。
20. 每管加入 4μl 0.5M EDTA, 8μl 1M Tris-HCl (PH=6.5), 1μl Proteinase K, 45°C 孵育 2h。
21. DNA 片段回收 (PCR 纯化试剂盒)。
22. 对照品的 PCR。
23. 取出每种 PCR 反应物 10μl 采用琼脂糖凝胶电泳, 最后根据电泳结果进行分析。

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

有效期:

12个月有效。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com