

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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>