

ChIP（染色质免疫共沉淀技术，Chromatin Immunoprecipitation）是一种通过免疫沉淀将与目的蛋白质结合的DNA片段沉淀下来，富集得到目的蛋白质结合的DNA片段的技术。ChIP-Seq顾名思义就是将ChIP与NGS相结合，一次性获得与目的蛋白质相结合的DNA序列、确定蛋白质的结合分布和准确的结合位点等信息。

Takara ChIP-Seq 文库构建试剂盒

ThruPLEX DNA-Seq Kit

快速

2 h即可完成文库构建（手动操作时间仅需15 min）

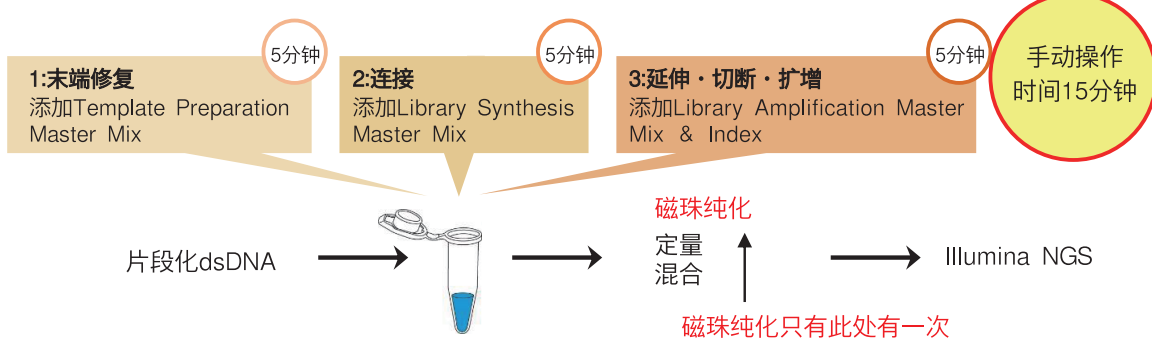
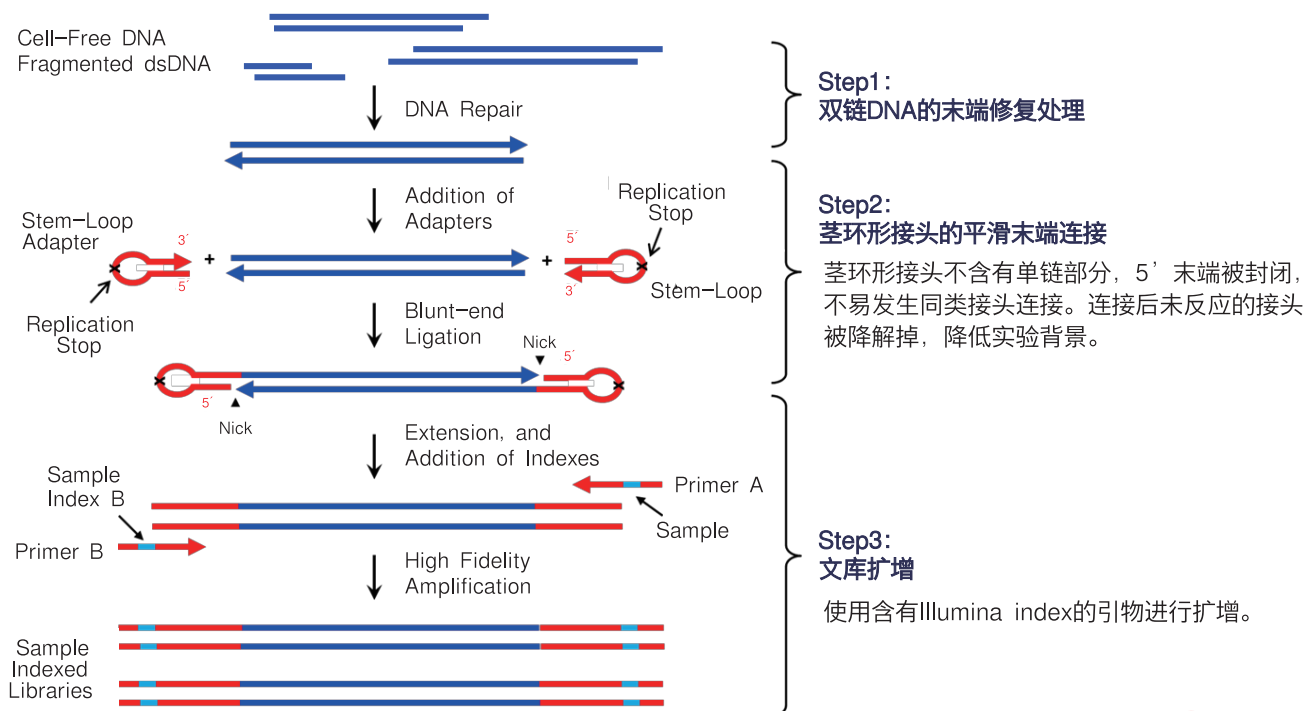
简便

1个反应管，3步操作，无需转管和纯化步骤

灵敏

50 pg-50 ng ChIP DNA

技术概要



提供一种使用少量细胞（10,000个细胞）进行ChIP-Seq分析的方法

数据提供: Pro. Shirahige Katsuhiko

The Institute for Quantitative Biosciences (IQB), The University of Tokyo

■ 实验背景

ChIP-Seq分析是一种进行表观遗传学研究的重要手段。一般而言，常规的ChIP-Seq需要大量的起始材料，如果使用少量细胞起始，想要获得高质量的ChIP-Seq数据则非常具有挑战性。因此开发一种少量细胞起始的ChIP-Seq分析技术是非常重要的。为了克服这一问题，本研究通过优化染色质片段化步骤，使用ThruPLEX DNA-Seq Kit对少量细胞ChIP进行构建文库，从而提供一种从少量细胞进行ChIP-Seq的分析方案。

■ 使用产品

产品名称	ThruPLEX DNA-Seq Kit
------	----------------------

■ 实验流程概要

交联	使用低吸附离心管分别将10,000 (1×10^4) 和250,000 (2.5×10^5) 视网膜色素上皮细胞 (RPE) 用1%福尔马林溶液进行固定
细胞裂解	含有BSA的ChIP裂解缓冲液
染色质片段化	使用超声波细胞破碎仪Picoruptor (Diagenode公司)将染色质片段化
免疫沉淀	将上述片段化染色质与预先结合有抗体 (H3K4me3) 的Protein A磁珠混合，在4°C下搅拌过夜，并用RIPA缓冲液洗涤
解交联	0.5%SDS / TE在65°C温育8小时或更长后，使用RNase A处理和蛋白酶K进行解交联
DNA纯化	使用MinElute PCR纯化试剂盒 (QIAGEN) 进行DNA纯化
NGS文库构建	使用ThruPLEX DNA-Seq Kit进行文库制备
测序	使用Illumina® HiSeq 2500, SE 65bp 进行测序
数据分析	使用DROMPA3进行数据分析 (https://github.com/rnakato/DROMPA3)

■ mapping结果

样品	Total reads	Mapped reads	Unmapped reads	Duplicate
Input	31,400,938	24,696,740 (78.7%)	3,087,220 (9.8%)	3,616,978 (11.5%)
1×10^4 细胞 (H3K4me3)	30,823,404	21,336,878 (69.2%)	6,697,451 (21.7%)	2,789,075 (9.1%)
2.5×10^5 细胞 (H3K4me3)	45,738,702	37,730,704 (82.5%)	4,018,338 (8.8%)	3,989,660 (8.7%)

应用文献

植物

Y. You, *et al.*, Temporal dynamics of gene expression and histone marks at the Arabidopsis shoot meristem during flowering. *Nat. Commun.* **8**, 15120 (2017).

研究背景

植物可以通过茎尖分生组织 (SAM) 在其整个生命过程中不断产生器官。合适的时间开花对于植物的成功繁殖至关重要, 拟南芥的SAM会在环境和内源信号的作用下调控开花时间, 在开花的时候产生花而不再产生叶子。由于SAM较难获得, 目前对表观遗传学如何调控促进成花转变的研究较少。本研究采用RNA-Seq+ChIP-Seq技术, 研究在响应光周期诱导的开花时间时, 拟南芥的SAM基因表达和组蛋白标记的时空动态。

实验材料	拟南芥 (Co1-0)
实验方法	RNA-Seq、ChIP-Seq
研究思路	<ol style="list-style-type: none"> 1. 在4种不同光周期条件下, 分别收集拟南芥SAM; 2. 采用INTACT法提取细胞核, 其中对1/3细胞核进行固定操作, 2/3不进行固定; 3. 对非固定细胞核提取获得500 pg的RNA, 使用SMARTer Ultra Low Input RNA for Illumina Sequencing-HV Kit进行cDNA制备, 然后进行RNA-Seq文库构建和测序分析; 4. 对固定细胞核, 分别使用H3, H3K4me3, H3K27me3抗体进行染色质免疫共沉淀后, 对50 pg ChIP DNA使用ThruPLEX DNA-Seq Kit制备文库, 然后进行NGS分析 (SE 50和PE 150)。

细胞

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

研究背景

细胞周期, 即细胞分裂的过程, 对一个生物体的生长和发育至关重要。细胞周期受转录和表观遗传学的调控, 十分复杂。但目前对于不同细胞周期阶段的转录调控和组蛋白修饰的动力学机制尚不清楚。本研究通过多组学联合分析, 绘制了全面的细胞周期的转录和组蛋白修饰图谱, 并揭示了整个细胞周期中转录组的动态变化特征。

实验材料	乳腺癌MCF-7细胞
实验方法	ChIP-Seq, DNase-Seq, RNA-Seq, GRO-seq的多组学技术
研究思路	<ol style="list-style-type: none"> 1. 流式分选技术分选G0/G1、G1/S和M期的乳腺癌MCF-7细胞; 2. 通过提取细胞的总RNA, 进行RNA-Seq分析; 3. 提取细胞核进行DNase-Seq, 其中使用ThruPLEX DNA-Seq Kit制备文库; 4. 对MCF-7细胞使用H3K4me2和H3K27ac抗体进行ChIP后, 使用ThruPLEX DNA-Seq Kit制备文库, 然后用Hiseq (50bp)进行NGS分析; 5. 以5×10^6 MCF-7细胞起始, 进行GRO-Seq分析。

销售商:

宝日生物技术 (北京) 有限公司
Takara Biomedical Technology (Beijing) Co., Ltd.

地址: 北京市昌平区科学园路22号 (中关村生命科学园内)
电话: 010-80720985, 80720986

制造商:

宝生物工程 (大连) 有限公司
Takara Biotechnology (Dalian) Co., Ltd.

地址: 辽宁省大连市经济技术开发区东北二街19号
电话: 0411-87621671

- 本宣传页上登载的制品, 都是以科研为目的。请不要用于其它方面, 如: 不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可, 严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认: <https://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注, 使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页仅限于中国大陆地区客户使用, 其他地区客户请咨询当地代理商。
- 本宣传页上记载的产品信息是2020年4月1日的信息, 最新信息请参考公司官网。

Ver.2 2020年4月制作