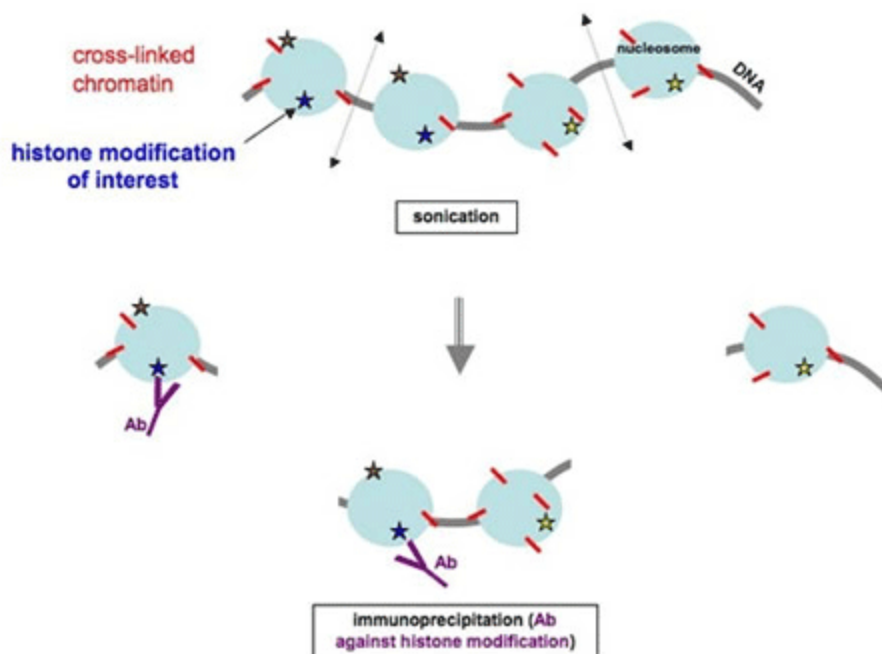


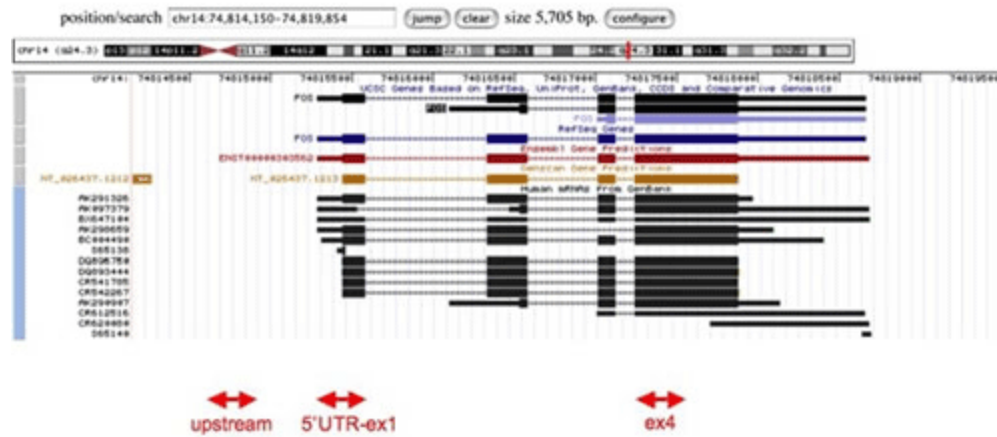
染色质免疫沉淀（ChIP）是目前研究体内 DNA 与蛋白质相互作用的重要工具。虽然 ChIP 技术的原理不复杂，但是对技术的要求高，实验步骤的设计摸索耗时耗力，实验耗费时间长。要成功实施 ChIP 项目，请先明确下面 4 个问题~



### 1、是否需要交联

交联的目的是将感兴趣的抗原固定在其染色质结合位点。若没有交联的步骤，就意味着只有与染色质结合非常紧密的蛋白质能被免疫沉淀，譬如组蛋白。若您的研究对象是组蛋白，那可能不需要交联，而其他蛋白，如转录因子和 DNA 结合复合物中包含的蛋白，可能还需要交联。

如果使用交联，则 ChIP 反应被称为 X-ChIP，则天然的 ChIP 反应被称为 N-ChIP。然而，确实有一些抗原不适合用 X-ChIP 这种方式，因为在交联过程中它们的表型会发生变化，或出现包涵体。

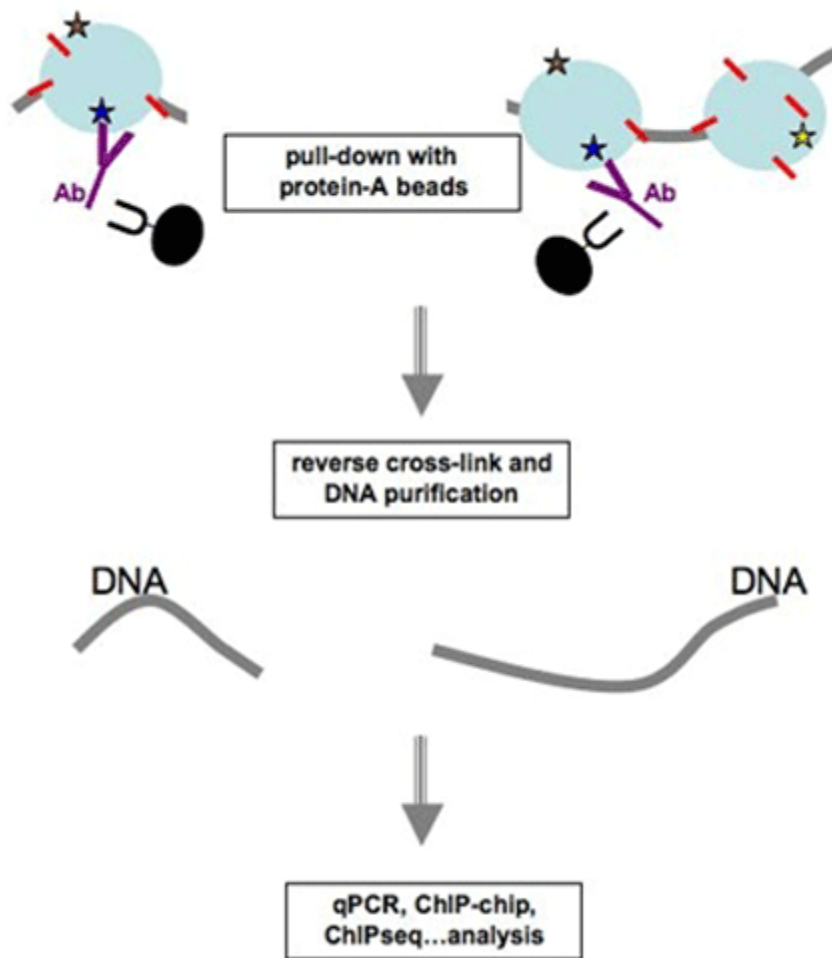


## 2、片段化要小心

染色质必须片段化，才能让相互反应接触到抗体。无论您采用哪种方法，都必须确保一定的片段化时间进程。对于 X-ChIP，超声波处理是必需的，因为甲醛交联限制了酶切的效果。超声波处理的条件要自己来优化，不过说明书上通常会给出一个参考条件。超声波产生了随机的 DNA 片段（平均 500-700 bp）。在开展 N-ChIP 时，微球菌核酸酶的消化可产生~175 bp 的单体。酶切消化的优势在于消化的重复性好，易控制反应。

## 3、抗体用对没有

如果可以的话，使用经过充分验证、ChIP 级别的抗体。当然，这种抗体并不多。如果没有，也可以选择普通的免疫沉淀抗体，或能够识别天然表位的抗体。一般来说，多克隆抗体是个更好的选择，因为单克隆抗体只识别单个表位，而这个表位有可能在交联过程中被掩盖。而另一方面，单克隆抗体却往往有着更好的批间一致性。抗体的量和使用的条件都应根据使用经验来确定。一般情况下可以从每 50ug DNA 使用 2-5ug 抗体作为起始条件开始摸索。



#### 4、对照也很重要



作为 ChIP 技术的阳性对照，H3K4me3 和 H3K9me3 分别适用于激活和失活的基因。作为阴性对照，可选择一个识别非染色质表位的抗体，如 GFP 抗体。但要记住，这些抗体本身不是阳性和阴性对照，因为这取决于您正在研究的位点。如果在您研究的位点无 H3K4me3，即使是最好的 ChIP 级别的 H3K4me3 抗体也不能让任何东西免疫沉淀，那么这就不是一个理想的阳性对照。如果您的实验室刚刚开始用 ChIP，最好考虑购买试剂盒。（转自生物通）




基迪奥生物  
GENE DENOVO



### 分享朋友

请点击右上角按钮选择  或 

### 订阅账号

请点击右上角按钮在弹出的菜单中选择 

或者在通讯录里点击  搜索“基迪奥生物”

关注基因 关注生命 关注基迪奥生物

 基迪奥生物