

ChIP-Seq 核裂解缓冲液使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
ES-8145	ChIP-Seq Nuclear Lysis Buffer	100ml/500ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

-20 °C保存，有效期 12 个月

【概述】

本品适用于小片段(5-500bp)单链 DNA 的杂交反应，获得更优质的杂交双链 DNA 片段，如 shRNA、gRNA 载体等构建。

【操作方法】

1. 收获细胞核后，将细胞核重悬于 3-5 倍体积的冰冷的 ChIP-Seq 核裂解缓冲液中（5 倍体积取决于细胞核提取过程中细胞裂解液用量，如细胞裂解液用量为 100μl 则加入 500μl ChIP-Seq 核裂解液）
2. 将试管在冰上孵育 20 分钟。
3. 从每个样品中取 5 μL 等分试样，并用 15 μL TE 稀释以用于分析凝胶确认。（注：将剩余保存在冰上或冻-20 °C，直到需要为止。该样品用于确认染色质在分离前是完整的。）
4. 将试管放入设定为 2°C 的超声浴中，调节水位，使管子刚好接触杯垫的表面。。
如用 Misonix 431A 对每个试管进行 300 μl 的超声处理非常稳定，因此我们建议将较大的样品分成多个试管进行超声处理。将至少两个和多达 8 个试管放入超声仪的试管支架中。
5. 用 10 秒的脉冲和 10 秒的静止时间以 20 的振幅对样品进行超声处理，总超声时间为 30 分钟。
6. 从超声仪中取出样品，并保存在冰上。
7. 取 5 μl 样品，并用 15 μl TE 稀释以用于分析凝胶。
8. 在 37°C 下，用 10 μg RNase A 样品 15 分钟。
9. 在 65°C 下用 20 μg 蛋白酶 K 样品 30 分钟。
10. 在 95°C 下反向交联 5 分钟，使样品缓慢冷却至室温。
需要执行这些步骤以确保 DNA 在琼脂糖凝胶上的正确迁移。否则，将发生比预期高得多的分子量的涂污或迁移。
11. 将加样染料添加到每个样品中，并在 TAE 运行缓冲液中的 1% 琼脂糖凝胶上分离样品。
12. 凝胶成像仪下观察琼脂糖凝胶上的 DNA 样品。
剪切染色质的大小应在 200 至 500 bp 之间。
13. 若步骤 12 完成后鉴定可行，将步骤 6 中其余样品在 4°C 下以 16,000 g 的速度离心 10 分钟，以去除不溶物。

14. 将可溶的剪切染色质转移到新鲜的 1.5ml 离心管中。

染色质可以在液氮中冷冻，并在-80°C 下保存直至需要。

15. 按上述方法用 RNase A，蛋白酶 K 和交联逆转处理等分试样（步骤 8-10）。

16. 使用 QIAquick PCR 纯化试剂盒纯化染色质，并使用 NanoDrop 等测量 DNA 浓度。

【注意事项】

1. 如果每次的使用量很小，可以适当分装后再使用，以免污染。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。