

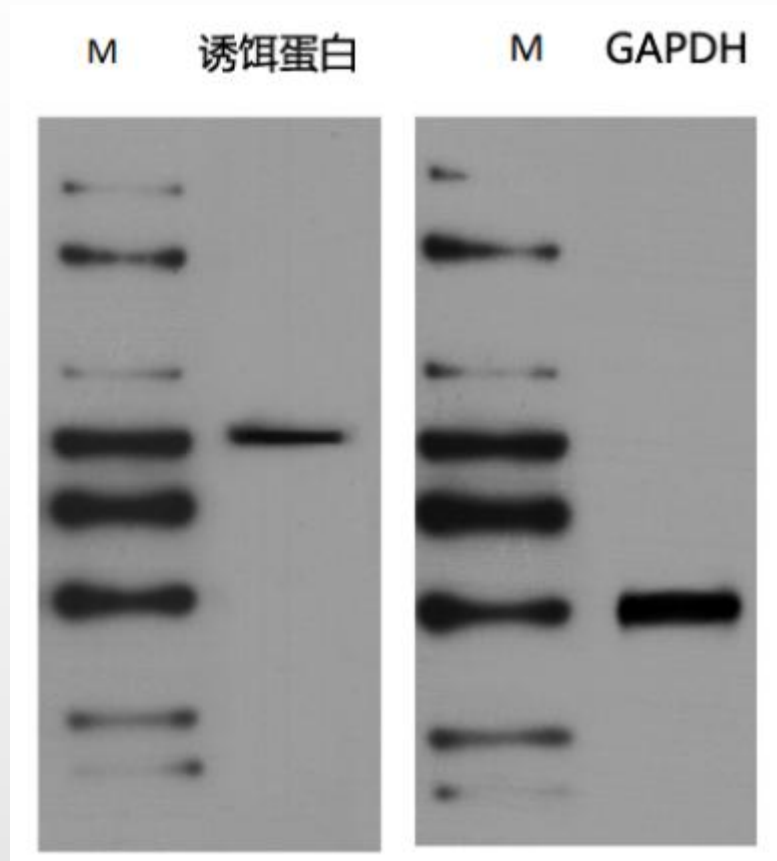
# ChIP结果解读

| 专注 | 品质 | 诚信 |

提供核酸和蛋白的整体研究方案

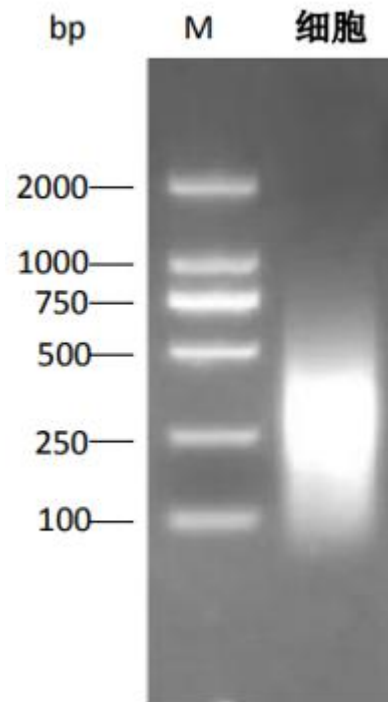
>>>

# ChIP前WB



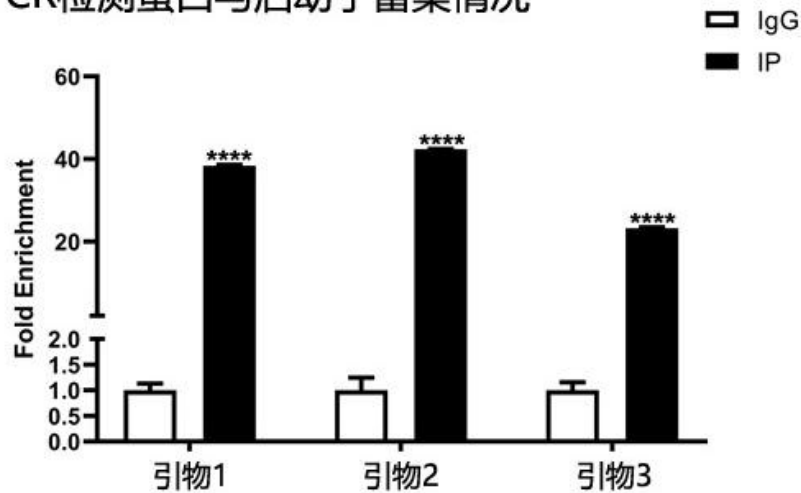
- 1、在正式实验前，务必要对样品做WB质控；
- 2、IP前WB检测的指标应包括诱饵蛋白以及内参蛋白；
- 3、内参蛋白条带必须清晰无拖带，如果内参条带不正常，说明样本内蛋白已经发生降解，需要重新备样；
- 4、诱饵蛋白条带最好是强信号的单带，如果信号比较弱，IP后可能实验失败，建议在样本中过表达目的蛋白后再做尝试；
- 5、诱饵蛋白WB如果杂带较多，可能是该批次抗体在该样本中的特异性不够好，如果实在没有合适的抗体，也至少应当在目的条带的信号相较于杂带足够强的前提下，再进行后续实验，否则无法保证最终结果的可靠性。

# 样本片段化质控



- 1、使用Qubit荧光计检测DNA浓度；
- 2、1.5%琼脂糖凝胶电泳检测DNA片段大小；
- 3、ChIP-qPCR片段集中在200-700bp，ChIP-seq片段集中在300bp左右最佳。

qPCR检测蛋白与启动子富集情况



1、建议每个启动子至少设计3对引物；

2、若IP组相对于IgG组有显著富集，说明蛋白能够与该启动子结合；

3、qPCR计算方式如下：

$$\Delta Ct [\text{normalized ChIP}] = (Ct [\text{ChIP}] - (Ct [\text{Input}] - \text{Log}_2(\text{Input Dilution Factor})))$$
$$\text{Input Dilution Factor (IDF)} = (\text{fraction of the Input chromatin saved})^{-1}$$

注：本公司项目以及试剂盒中，Input Dilution Factor = 50，即 $\log_2(50) = 5.644$

$$\Delta\Delta Ct [\text{ChIP/NIS}] = \Delta Ct [\text{normalized ChIP}] - \Delta Ct [\text{IgG}]$$
$$\text{Fold Enrichment} = 2^{(-\Delta\Delta Ct [\text{ChIP/NIS}])}$$

4、例：Ct[ChIP] = 25.751, Ct[IgG] = 27.697, Ct[Input] = 22.903

$$\Delta Ct [\text{normalized ChIP}] = 25.751 - (22.903 - 5.644) = 8.492$$

$$\Delta Ct [\text{IgG}] = 27.69 - (22.903 - 5.644) = 10.431$$

$$\Delta\Delta Ct [\text{ChIP/NIS}] = 8.492 - 10.431 = -1.939$$

$$\text{Fold Enrichment} = 2^{1.939} = 3.834$$

5、ChIP-seq结果解读详见seq报告。

# 感谢聆听

提供核酸和蛋白的整体研究方案

