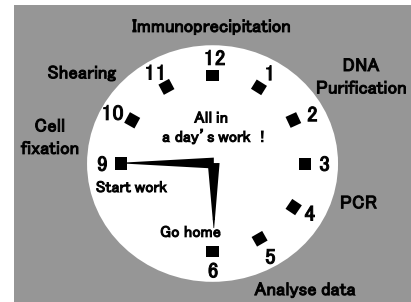


キット内容 60回用

内容	容量	保存温度
ChIP buffer 5×	300 ml	室温
Protease Inhibitor mix (P.I. 200×)	100 μl	-20°C
Antibody binding beads	2,800 μl	4°C
Negative Ctrl IgG from rabbit	100 μl	4°C
Blocker for ChIP Ab binding beads	200 μl	-20°C
DNA purifying slurry	10 ml	4°C
Proteinase K	100 μl	-20°C
PCR-grade H ₂ O	28 ml (14 ml×2本)	4°C



キット以外に準備するもの

断片化クロマチン(その日に調製したもの、又は-80°Cで凍結保存しておいたもの)、ChIP グレード抗体

その他の試薬・消耗品

- ・ラボ用手袋(すべての操作で着用)
- ・RNase/DNase freeの1.5 mlチューブ
- ・その他のチューブ:PCRチューブ又はプレート、15 mlチューブ
- ・オートクレーブ滅菌済みのピペットチップ
(先をカットしたピペットチップ(Antibody binding beads に使用))
- ・フィルターチップ
- ・チューブクラップ
- ・脱イオン水
- ・100%エタノール
- ・75%エタノール(vol/vol)

- (・定量PCR(又はエンドポイントPCR)試薬)
- (・アガロース及びTAEバッファー)

装置

- ・アスピレーター
- ・1.5 mlチューブ用冷却遠心機(4°C)
- ・15 mlチューブ用冷却遠心機(4°C)
- ・超音波ウオーターバス(卓上型超音波洗浄器)
(ブランソニック B3510-MT(Branson))
- ・ローテーター(4°C)
- ・サーモキサー又は振とうヒートブロック(55°C)
- ・沸とう浴(98°C~100°C)
- (・定量PCR(又はエンドポイントPCR)装置)
- (・アガロースゲル電気泳動装置一式)

バッファーの準備

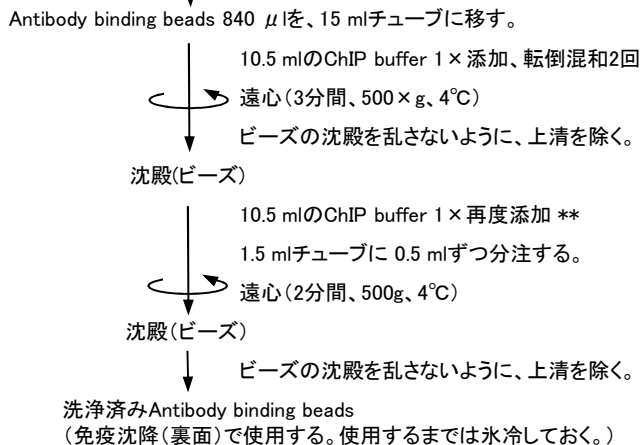
- ・ChIP buffer 5×を脱イオン水で希釈して、ChIP buffer 1×を調製する。
(ChIP buffer 1×は4°Cで保存する。)
- ・Protease Inhibitor mix (P.I. 200×)を溶かす。
- ・抗体を氷上で溶かす。
- ・断片化クロマチンを氷上で溶かす。(凍結保存していたものを使用する場合。)
- ・ラベルした 1.5 mlチューブを氷冷する。
- ・15 mlチューブに、ChIP buffer 1×を12 mlずつ分注し、低温室又は冷蔵庫で冷やしておく。
- ・P.I. - ChIP buffer 1×を調製する。(使用する直前に調製する)。
(20 IP分の場合: 5 ml の ChIP buffer 1×に、25 μl の P.I. を添加する。)

**メインプロトコールは
裏面**

Antibody binding beadsの洗浄* (20 IP分の場合)

(免疫セレクション(裏面)の間に行う)

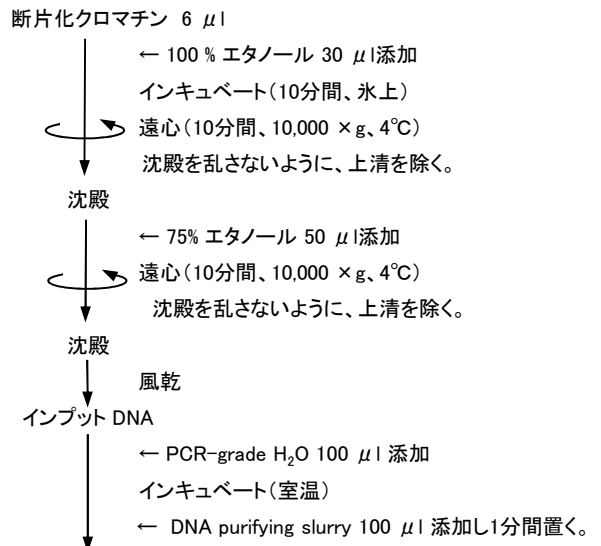
Antibody binding beads を均一にサスペンドする。



*: ビーズをピペットでとるときは、必ず懸濁してとること。
**: 酵母を取り扱う場合は、ビーズをBlockerでブロックする。(詳細については Instruction Manual 参照)

インプットサンプルの調製

(免疫沈降(裏面)の間に行う)



以降の操作は、ChIPサンプルと同じ(並行して進める)。

ChIPプロトコール

