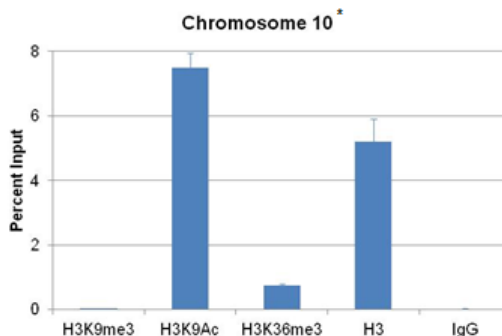
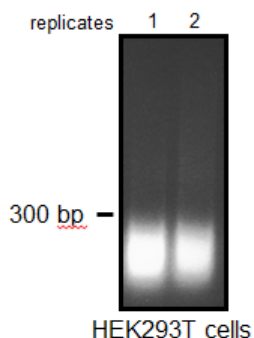


Q800R プロトコル クロマチンの断片化（ヒト細胞）

※本プロトコル例および結果はユーザーからの情報に基づいています。



*Average of two independent replicate chromatin in panel A.

Chr10 Primer sequences:

Forward- TCCTTCTCCCAACAATCAGC

Reverse- GATGTCGCTCCGAATCTTG

Antibodies Used: H3K9me3 ([abcam ab8898](#)), H3K9Ac ([upstate 07-352](#)), H3K36me3 ([abcam ab9050](#)), H3 ([abcam ab1791](#))

プロトコル

サンプル種 :	HEK293T (10cm ディッシュ 70~80%コンフルエント)
容量 :	300μL
ホルムアルデヒド濃度 :	1%
固定時間 :	13 分
Amplitude :	70%
パルス :	ON 15 秒、OFF 45 秒
Total On Time :	30 分
その他処理条件 :	カップ内水温は 4℃を維持

1. 培地に 1% ホルムアルデヒドを添加し、37℃で 13 分、クロスリンクします。
2. 0.125M グリシンを添加し、クロスリンクを停止します。
3. 冷却した PBS でウォッシュします。
4. 氷上で PBS 2.5mL を添加します。
5. スクレーパーで剥がし、15mL チューブに回収します。800rpm、4℃で 2 分間遠心します。
6. ペレットを、プロテアーゼ阻害剤を含む細胞溶解バッファーに懸濁します。（15cm ディッシュ 4 枚に対し 2.5mL、10cm ディッシュ 2 枚分で 1mL）
7. 氷上で 5 分間インキュベートします。800rpm、4℃で 2 分間遠心します。
8. 上清を捨て、ペレットを、プロテアーゼ阻害剤を含む核溶解バッファーに再懸濁します。
 - 細胞溶解バッファー：5mM PIPES, 85mM KCl, 0.5% NP40
 - 核溶解バッファー：50mM Tris pH8, 10mM EDTA pH8, 0.2 もしくは 1% SDS（アプリケーションによる）
9. 超音波処理
 - 10cm ディッシュ 2 枚 (293T)
 - Q800R 設定：70%, 30mim
10. 14,000rpm、4℃で 10 分間遠心し、クロマチンを除去します。

お客様の声

- RPE 細胞について 300bp 未満のクロマチンを得るため、Brand Tech 製 0.5mL 薄壁チューブ（品番：781312）に 300 μ L を入れて超音波処理を行いました。
- 1% SDS の場合：Total On Time 35 分 超音波処理
- 0.2% SDS、もしくは他の弱い界面活性剤の場合：Total On Time 45 分 超音波処理
- 合計時間はプローブでの直接照射よりも長くなりますが、一度に 12 個のサンプルを処理できます。また、結果は一貫しています。

原文は[こちら](#)からご覧いただけます。

提供：QSONICA LLC 文責：ワケンビーテック株式会社