



NeoraBio

表观组取样参考

ChIP-Seq



目 录

1. 样本准备通用建议	1
2. 通用取样参考	2
样本需求量总表	2
抗体需求	2
3. 样本取样建议	3
3.1 细胞样本	3
3.2 组织样本	4
3.3 IP 产物、ChIP 文库类样本	5
4. 附录	6
5. 声明	7



1. 样本准备通用建议

1. 取样代表性与一致性	样本的取材部位、时间、处理过程等方面尽可能保持一致，否则可能会影响实验结果的可信度及组内重复情况。 准确分离病变组织和对照组织，取样部位不一致和不具有代表性同样可能影响结果的准确性。
2. 取样及保存环境	样本离体后，需快速在低温下进行分装，分离好的样品立即置于 液氮 、干冰或-80℃冰箱中直至寄送，以避免 RNA 的降解。 放置样本的管子、使用的刀片器械等需 无菌 ， RNA 样本则无 RNase 。为保证实验及测序结果，请保证样本 无其他微生物污染 （如： 支原体 ，噬菌体） （我司亦可提供支原体检测服务，但需提前说明）
3. 样品名称	最好采用双重标记以防样品名称模糊；建议使用进口离心管。 标记 1：用高质量的 油性笔 在样品管上写上清晰、简单的样品名称，最好 5 个字符以内（不要写中文），用 封口膜 封好， 标记 2：将样品名称等信息写在标签纸上，贴在管壁上，最好用胶带粘贴牢固以防低温条件下样品标签脱落。
4. 样品包装	按送样建议准备样品，采用高质量离心管盛装样品。冷冻的组织，用高质量的 2 mL 螺旋冻存管装载；离心管应用 封口膜密封管口 。 干冰运输， 干冰参考量=（运输天数+1）*5kg 。
5. 邮寄样品	邮寄样品请附带完整的样品信息说明。建议自己存好备份样品。如样品有生物危险请提前咨询技术人员。 对于需要同时做多种检测的样本，请提前确认各类下游实验的样本保存方式，并分开收集样本， 避免 分装过程中的 反复冻融 。

注：液氮速冻及干冰运输时，过大的样本体积容易造成离心管炸裂，建议将样本量控制在离心管最大容积的 **80%** 内。



2. 通用取样参考

样本需求量总表

ChIP-Seq 样本需求量总表	
样本类型	需求量
细胞（贴壁/悬浮）	$\geq 1 \times 10^7$ ，每个样本准备 1 个备份
动物组织	常规 ≥ 500 mg（脂肪组织 ≥ 5 g），每个样本准备 1-2 个备份
植物组织	≥ 5 g，每个样本准备 1-2 个备份
IP 产物及 Input	IP 产物：浓度 ≥ 0.5 ng/ μ L（Qubit），体积 ≥ 25 μ L，片段长度：200-500 bp Input：浓度 ≥ 50 ng/ μ L，体积 ≥ 20 μ L
ChIP 文库	浓度： ≥ 1 ng/ μ l (qubit 定量)，体积： ≥ 20 μ l，片段长度：200-500 bp

抗体需求

客户需先提供**抗体信息**（抗体名称及货号），我司需要先对抗体进行评估。确认好抗体后，若为分装抗体，要用封口膜把抗体管密封好，避免损失，并在送样信息单备注好抗体信息及浓度。

抗体总量不少于 **20 μ g/sample**。



3. 样本取样建议

3.1 细胞样本

细胞样本 $\geq 1 \times 10^7$	
贴壁细胞	✧ 请按照传代培养过程中使用的操作，将细胞从组织培养容器中轻轻解离下来。并将细胞重悬在该细胞类型所需的完全培养基中。对细胞进行 活性检测并计数 ，保证细胞活性在 90%以上 。
悬浮细胞	✧ 如果在取样前细胞已经沉淀，则旋转培养瓶使细胞均匀分布在培养基中，对细胞进行 活性检测并计数 ，保证细胞活性在 90%以上 。
细胞冻存	✧ 以 500 g 的离心力，将细胞悬浮液离心 5-10 min。在不干扰细胞沉淀的情况下，弃去上清液（可，使用 10 μ L 移液枪吸净上清）。 ✧ 将细胞重悬于 1 ml 冻存液中，每个冻存管约 1×10^7 细胞。 ✧ 将冻存管置于程序降温盒中，再将程序降温盒放入-80 度冰箱，以约每分钟 1 $^{\circ}$ C 的速度降低温度。
流式分选细胞	✧ 将流式分选后的细胞，以 500 g 离心力，离心 5-10 min。在不干扰细胞沉淀的情况下，弃去上清液。 ✧ 将细胞重悬于 1 ml 冻存液中。 ✧ 将冻存管置于程序降温盒中，再将程序降温盒放入-80 度冰箱，以约每分钟 1 $^{\circ}$ C 的速度降低温度。
样本运输	✧ 将细胞样品置于密封性好的塑料袋中， 用胶布缠到冰袋上 ，并在泡沫盒中装 入足量的 干冰 运输

细胞样本注意事项：

- （1）收取细胞时**不同细胞类型离心力及时间均有不同**，需根据样品具体情况调整。
- （2）收取细胞时需注意不可过度消化，以免对细胞造成损伤。具体消化参数请以实际操作细胞方式作为参考。
- （3）建议使用**程序降温盒**，一是可以减少操作步骤，二是效果要比传统的异丙醇要好，可以向试剂商咨询购买；若无程序降温盒，请先置于 4 $^{\circ}$ C 冰箱 20 min，再放入-20 $^{\circ}$ C 冰箱 30 min，最后



转移至-80℃冰箱，干冰运输。

(4) 冻存液基本配方：50% FBS+40%完全培养基+10% DMSO（DMSO 浓度不可高于 10%，否则会损坏细胞，导致死亡率增高）。

(5) 运输保证足够干冰，将细胞放入中间，避免冻融导致细胞死亡。

(6) 每个样本准备 1-2 个备份。

(7) 准备样品前，可以先使用 1×10^6 - 2×10^6 细胞对冻存状态进行测试，37℃解冻后用台盼蓝染色，观察细胞活性，能达到 90%活性的情况下再进行正式样品收集，否则需根据样品本身特点对收取细胞及冻存细胞操作进行改善。

(8) 注意细胞支原体污染：支原体污染对 ChIP-seq 实验存在影响，会使得 input 有效数据量损失，培养细胞时需观察细胞状态是否良好，并确认无支原体污染，实验前期，可以加抗支原体的药筛 2 周或者一直加抗支原体的药物维持。（支原体检测方案请见附录）

3.2 组织样本

动物组织 ≥ 500 mg	
动物组织 ≥500 mg	组织获取： ✧ 获得新鲜的组织样本后，立即剔除结缔组织与脂肪组织等杂质（目的样品非脂肪组织）； ✧ 迅速使用预冷生理盐水清洗残留的血液； ✧ 用无菌滤纸吸取组织表面残留的液体； 组织冻存 ✧ 将组织转移至 2 ml 离心管，组织量不低于 500 mg。 ✧ 置于液氮速冻 60 min 后放于-80℃保存，干冰运输。 ✧ 以上所有操作需在低温条件下快速进行。
样本运输	✧ 将样品置于密封性良好的自封袋中，置于干冰运输。
注意事项	✧ 若需选取特定部位需在样品新鲜状态下迅速分离（例如：肿瘤样品的肿瘤组织与正常组织部分），分离后进行液氮速冻保存。 ✧ 每个样本准备 1-2 个备份。
植物组织 ≥ 5 g	



植物组织 ≥5 g	组织获取： ✧ 获取新鲜组织后，立即用清水冲洗； ✧ 再用 75%乙醇清洗一遍，用无菌滤纸吸取表面液体
	组织冻存 ✧ 将清洗后的组织迅速于液氮中冷冻 10min； ✧ 转移 50mL 离心管中，组织量不低于 5g； ✧ 于-80℃保存。
样本运输	✧ 将样品置于密封性良好的自封袋中，置于干冰运输。
注意事项	✧ 样品必须在新鲜状态下迅速进行液氮速冻，并于-80℃保存。 ✧ 每个样本准备 1 个备份。

3.3 IP 产物、ChIP 文库类样本

IP 产物及 Input 浓度 >0.5 ng/μl, 体积≥25 μl, 片段 200-500 bp
1. IP 产物：浓度：>0.5 ng/μl, 体积：≥25 μl, 片段长度：200-500 bp（以文库质检结果为准）。 2. Input：浓度≥50 ng/μl, 体积≥20 μl（该标准基于 10 ⁷ 级细胞得到的 1/10 input, input 送样量不做硬性要求，其它情况请联系我司进行沟通）。 3. 建库默认不采用片段分选，以免丢失有效信息，若需分选请注明。 4. 样本于-20℃保存，干冰或冰袋运输（推荐干冰运输）。

ChIP 文库 浓度 ≥ 1 ng/μl, 体积≥ 20 μl, 片段 200-500 bp
1. 浓度：≥1 ng/μl (qubit 定量), 体积：≥20 μl, 片段长度：200-500 bp。 2. 若低于此浓度或含长片段短片段，本公司将采用内部标准进行操作，但不保证测序数据的覆盖度和质量。 3. 请提供：物种信息、Index ID、index 序列、片段大小、建库方法、文库片段大小及浓度（qubit 定量）结果；我司可对文库进行浓度及片段大小质检。 4. 注意：客户需提供目的蛋白 ChIP 级抗体 western blot 在该样品中的验证结果。若需我司验证，请给出目的蛋白信息，抗体货号及抗体说明书。验证周期为 2-3 周



4. 附录

支原体检测方案参考：

可使用 Real-time PCR 检测支原体的表达水平。引物参考如下表：

序号	名称	序列
1	Myco_F1	ACGCGTAGAACCTTACCCAC
	Myco_R1	ACGACAACCATGCACCATCT
2	Myo-2F	GTGCTGGATATCCCGGGCTAAGC
	Myo-2R	AGGCGAACCGTTCACTCCCC
3	Myo-3F	GGGAGCAAACAGGATTAGTATCCCT
	Myo-3R	TGCACCATCTGTCACTCTGTTAACCTC

选择引物 1、2 或 1、3 或 1、2、3 进行检测。

PCR 的 CT 值超过 34 个循环或者显示无法检测，说明无支原体污染，假如 CT 值小于 30 个循环都说明有支原体污染。

使用试剂盒 vazyme D101 进行检测，详见试剂盒说明书。



5. 声明

我司拒绝接收《人间传染的病原微生物名录》中危害程度为第一、第二类的高致病组织、血液、细菌等样品，只接收提取得到的核酸样品。危害程度为第三、第四类的致病性或传染性的组织、血液、细菌等样品，必须事先通过销售、客服或运营经理与技术支持人员联系，确定无高致病性和传染性后才能寄送样品。

样品寄送时应采用 WHO 提出的三包装系统，第一层容器：装样品，要求防渗漏；第二层要求耐受性好、防渗漏，容纳并保护第一层容器；第三层容器：放在一个运输用外层包装内。在第二层包装注明“致病性样品，接收时请注意”字样，并在样品信息单上注明其危害程度及接收注意事项。此类样品寄送时销售或运营经理务必邮件通知样品组，告知样品组相关寄送信息（快递单号、样品类型、样品数量）以及接收时的防护措施和注意事项。

感谢您选择我们！

期待与您携手并进，共创科研新高度。

我们将以严谨、专业的态度对待每一个样本，为您的科研探索保驾护航。