

xx 因子在 xx 细胞中 CUT&Tag 测序结题报告

项目编号: XXX

客户单位: XXX

联系人: XXX

联系方式

胡志伟

手机号码: 18667909633

河南臻质生物科技有限公司

河南省郑州市金水区鸿苑路 65 号金科智汇谷 1 号楼 2 层

目录

一、背景介绍.....	3
二、实验原理.....	4
三、实验材料.....	5
1. 主要试剂.....	5
2. 样本材料.....	5
2.1 细胞.....	5
2.2 实验方案设计.....	5
四、实验步骤.....	5
1、细胞收集与透化.....	5
2、抗体孵育.....	6
3、Protein A-Tn5 融合蛋白结合.....	6
4、标签化反应.....	6
5、DNA 提取与纯化.....	6
6、文库构建与测序.....	6
五、cut-tag 检测结果	7
六、实验结论.....	7



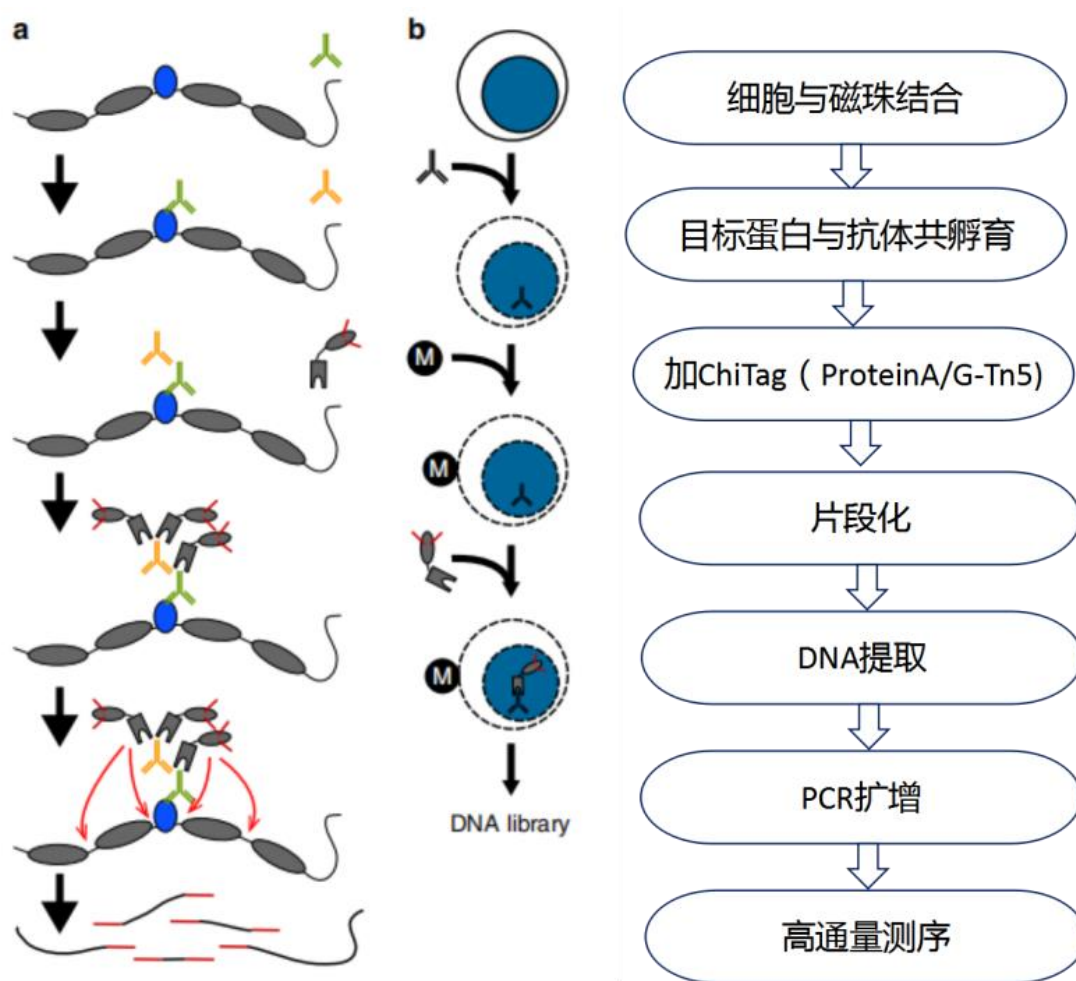
一、背景介绍

蛋白质与染色质的相互作用是基因表达调控的核心机制之一，转录因子、染色质修饰酶等蛋白通过结合特定基因组区域，调控染色质状态和转录活性。理解这些蛋白质在基因组上的定位与功能，对于揭示细胞分化、发育、疾病发生等生物学过程至关重要。

染色质免疫共沉淀测序 (ChIP-seq) 是研究蛋白-DNA 相互作用的经典方法，但其需要交联、超声片段化等步骤，实验周期长、信噪比低，且对样本量要求较高。CUT&Tag (Cleavage Under Targets and Tagmentation) 是一种新型的染色质蛋白定位技术，利用蛋白 A-Tn5 融合蛋白在抗体引导下直接在染色质目标位点进行切割与标签化，具有信噪比高、样本需求量少、操作简便、背景低等优势，尤其适用于低频细胞或难处理样本。

CUT&Tag 技术已在转录因子结合位点分析、组蛋白修饰图谱绘制、染色质可及性研究等领域广泛应用，为表观遗传调控研究提供了高效精准的工具。





CUT&Tag 实验流程示意图

二、实验原理

CUT&Tag 技术利用融合蛋白 Protein A-Tn5 在抗体引导下靶向染色质上的目标蛋白。实验首先使用透化剂使细胞膜通透，随后依次加入一抗、二抗，最后加入 Protein A-Tn5 融合蛋白。Tn5 转座酶在目标蛋白结合的染色质区域附近进行切割并同时连接测序接头，从而实现目标区域的片段化与标签化。随后提取基因组 DNA，经 PCR 扩增后构建测序文库，通过高通量测序及生物信息学分析，可精确绘制目标蛋白在全基因组范围内的结合图谱。



三、实验材料

1. 主要试剂

试剂名称	供应商
CUT&Tag Assay Kit	诺唯赞
目标蛋白一抗	XXX
二抗 (anti-Rabbit IgG)	XXX
蛋白酶 K	Beyotime
DNA 纯化试剂盒	TIANGEN

2. 样本材料

2.1 细胞

样品名称	分组编号
XX 细胞	CUT&Tag
IgG 对照	IgG-CTL

2.2 实验方案设计

实验方案设计分组如下:

对照组	实验组
IgG	目标蛋白一抗组

四、实验步骤

1、细胞收集与透化

- (1) 收集约 10^5 个细胞, 用洗涤缓冲液清洗。
- (2) 加入透化缓冲液, 室温孵育 10 分钟。



2、抗体孵育

- (1) 加入一抗（目标蛋白抗体或 IgG 对照），4℃孵育过夜。
- (2) 洗涤后加入二抗，室温孵育 1 小时。

3、Protein A-Tn5 融合蛋白结合

- (1) 加入 Protein A-Tn5 融合蛋白，室温孵育 1 小时。
- (2) 洗涤去除未结合融合蛋白。

4、标签化反应

- (1) 加入 Tagmentation 缓冲液，37℃反应 1 小时。
- (2) 加入蛋白酶 K 终止反应并消化蛋白。

5、DNA 提取与纯化

提取基因组 DNA，使用 DNA 纯化试剂盒回收标签化片段。

6、文库构建与测序

- (1) 使用 PCR 添加测序接头与索引，纯化后质检。
- (2) 进行 Illumina 高通量测序。



五、cut-tag 检测结果

六、实验结论

- (1) 测序数据质量评估显示，目标蛋白组比对率、片段分布及峰值信噪比均符合分析要求。
- (2) 与 IgG 对照组相比，目标蛋白在多个基因组区域（如启动子、增强子等）呈现显著富集信号。
- (3) 结合 motif 分析发现，目标蛋白结合区域显著富集已知转录因子结合序列，提示其可能参与相应通路的调控。
- (4) 基因功能注释分析表明，目标蛋白结合基因显著富集于【填写相关通路，如炎症反应、细胞衰老等相关】生物学过程。

综上，CUT&Tag 实验成功绘制了 xxx 蛋白在 xx 细胞中的全基因组结合图谱，为其功能机制研究提供了可靠的染色质互作数据。。

