

ChIP/ RIP $\Delta\Delta Ct$ 相对定量数据计算方法

ChIP/RIP $\Delta\Delta Ct$ 相对定量数据计算方法基本是相似的，本方案以ChIP为例，RIP实验也可以参照本方案进行计算

实验 1

Sample	1% Input	IgG	Histone H3
Ct值	25	35	27

以实验1为例，在同一组样本中得到以上数据后，分析流程如下：

1. 标准化DNA的量

ΔCt [normalized ChIP] = Ct [ChIP] - (Ct [Input] - Log₂ (Input Dilution Factor))

Input Dilution Factor = (fraction of the input chromatin saved) -1 (-1次方)

请注意以上2之后为指数，fraction of the input chromatin saved指input在样品总体中的比例，如你在1ml 总DNA中取10ul，那么这个比例就为1%，Input Dilution Factor=100

在实验1中，标准化后结果如下：

ΔCt [IgG] = 35 - (25 - Log₂(100)) = 16.67

ΔCt [Histone H3] = 27 - (25 - Log₂(100)) = 8.67

2. 计算百分比Input

% Input = 2^(- ΔCt [normalized ChIP]) x 100%

在实验1中，% Input如下：

IgG = 2^(-16.67) x 100% = 0.001%

Histone H3 = 2^(-8.67) x 100% = 0.25%

3. 与阴性对照比较计算Fold Enrichment

$\Delta\Delta Ct$ [ChIP/阴性] = ΔCt [normalized ChIP] - ΔCt [normalized 阴性]

计算Assay Site Fold Enrichment

Fold Enrichment = 2^(- $\Delta\Delta Ct$ [ChIP/阴性])

在实验1中，Fold Enrichment结果如下：

$\Delta\Delta Ct$ = 8.67 - 16.67 = -8

Fold Enrichment = 2⁸ = 256

实验2

	1% Input	IgG	Histone H3
对照组Ct	25	35	27
处理组Ct	26	37	24

如果是比较两组样品（对照组和处理组），由于阴性对照组的Ct值通常都比较高，与阴性对照比较时引入的误差可能会比较大，更推荐与Input比较的算法：



$\Delta \Delta Ct$ [处理组-对照组] = ΔCt [处理组:normalized ChIP] - ΔCt [对照组:normalized ChIP]

样品比值 = $2^{-\Delta \Delta Ct}$ [处理组-对照组]

在实验2中，根据之前的流程，标准化后的结果如下：

ΔCt [对照组] = $27 - (25 - \log_2(100)) = 8.67$

ΔCt [处理组] = $24 - (26 - \log_2(100)) = 4.67$

$\Delta \Delta Ct$ [处理组-对照组] = $4.67 - 8.67 = -4$

Fold Enrichment = $2^4 = 16$