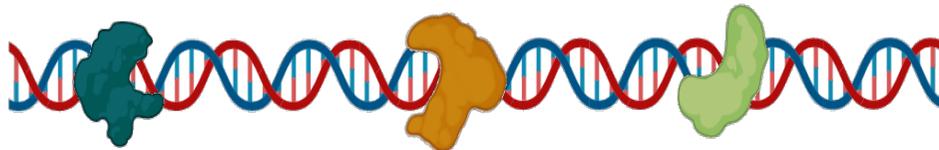


Technique d' Immunoprécipitation de la chromatine ou ChIP

Immunoprécipitation de la chromatine = ChIP

But = Isoler la/les région(s) de l'ADN où se fixe une protéine d'intérêt



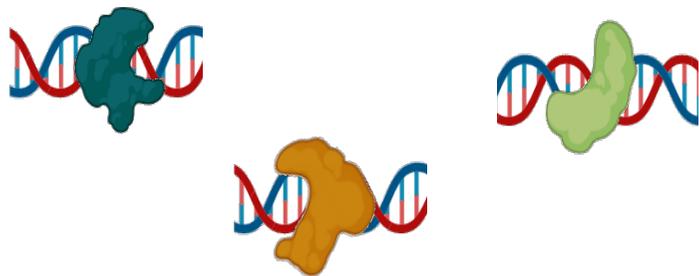
De nombreuses protéines se lient à l'ADN: facteurs de transcriptions, histones, etc.

Avant d'extraire la chromatine, on peut créer des liaisons covalentes entre l'ADN et les protéines: étape de « cross-link ».

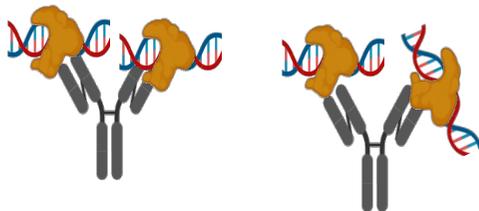
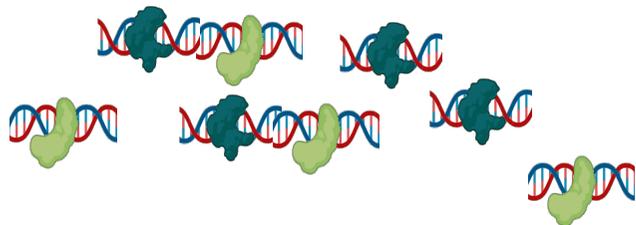
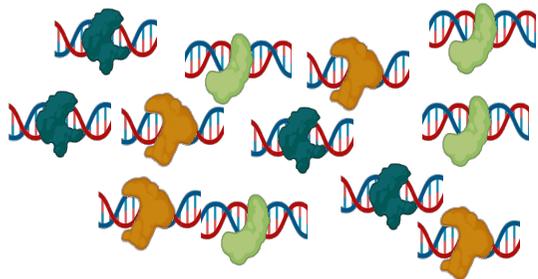
La chromatine est ensuite extraite et fragmentée soit par des ultrasons (sonication) soit par digestion à la Mnase.

On obtient donc de nombreux fragments d'ADN avec les protéines fixées.

Il y en a bien sûr des millions de copies, pas uniquement 1 exemplaire comme représenté ici.



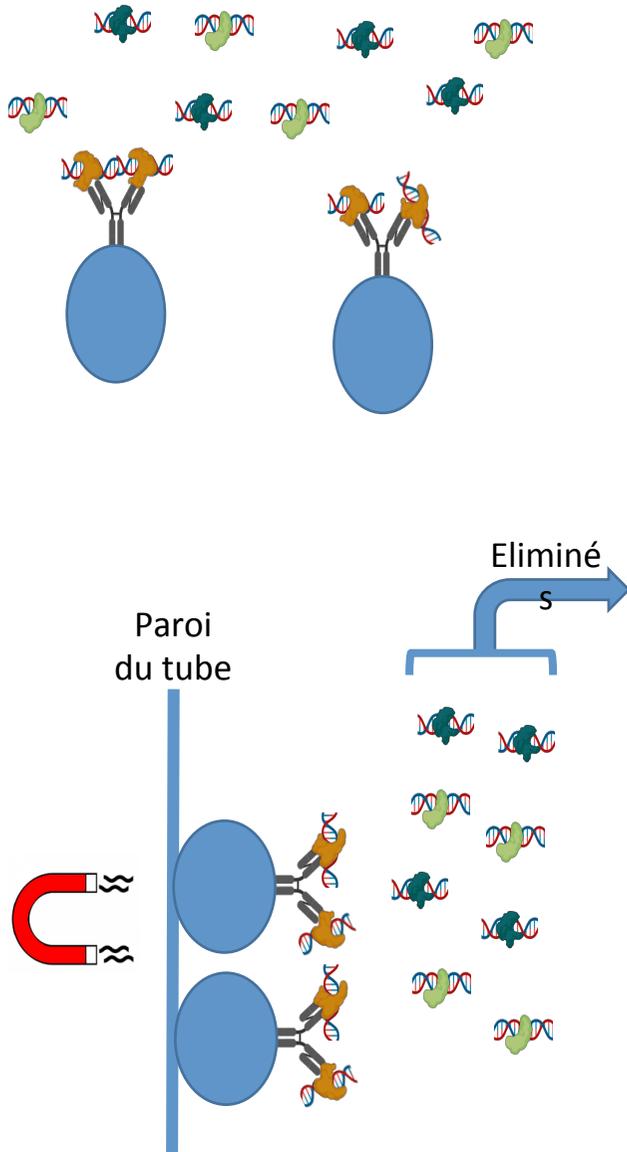
Immunoprécipitation de la chromatine = ChIP



On ajoute ensuite à notre chromatine des anticorps spécifiques de la protéine d'intérêt (ici la protéine orange).

Les anticorps vont se fixer spécifiquement à la protéine et on obtient un complexe anticorps-protéine-ADN

Immunoprécipitation de la chromatine = ChIP



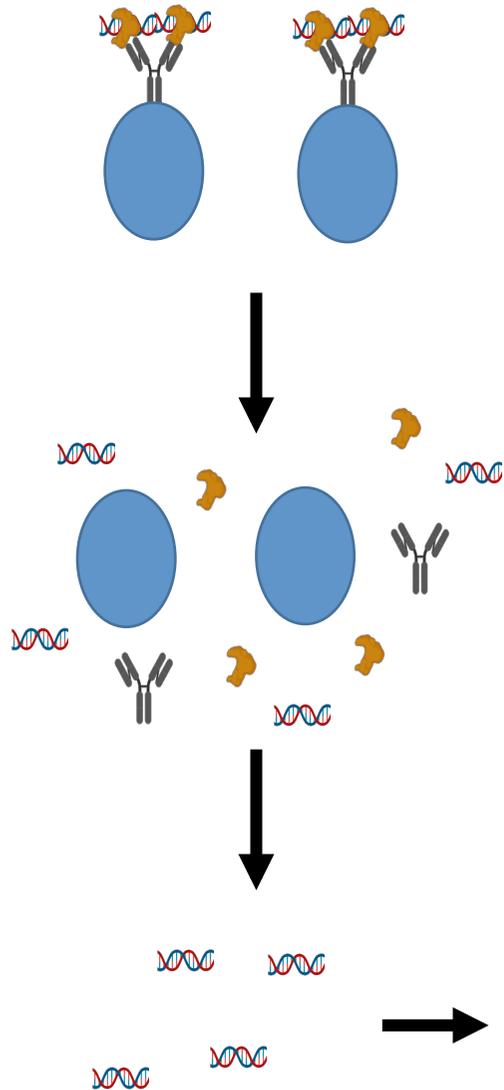
On ajoute ensuite des billes qui vont se fixer à la partie constante des anticorps (il y a plusieurs méthodes pour cela).

Ces billes sont magnétiques et sont donc attirées par un aimant.

En approchant un aimant du tube, les complexes bille-anticorps-protéine-ADN vont rester contre la paroi et tout le reste pourra être éliminé lors des différents lavages.

(attention les schémas ne sont pas à l'échelle...)

Immunoprécipitation de la chromatine = ChIP



Les complexes bille-anticorps-protéine-ADN ainsi précipités sont détruits en chauffant.

Les acides nucléiques sont ensuite purifiés et peuvent être utilisés pour différentes expériences.

On obtient donc à l'issue du ChIP des fragments d'ADN correspondant au locus de fixation de la protéine immunoprécipitée.

Plusieurs possibilités d'analyse de ces fragments :

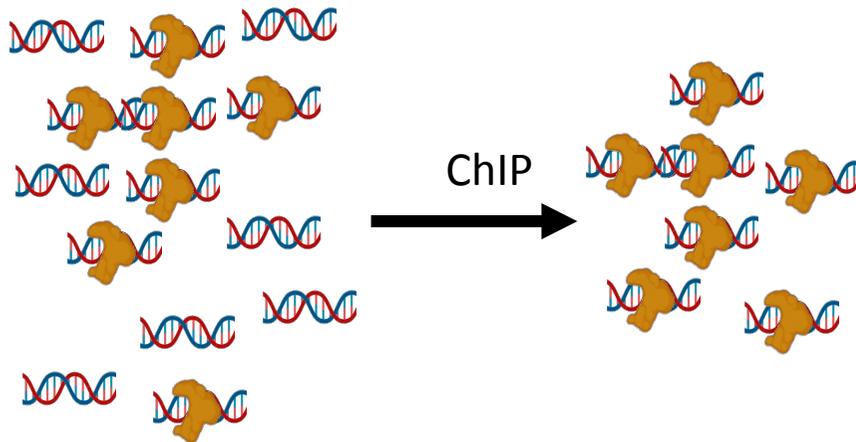
- Séquençage = ChIP-seq
- PCR quantitative = ChIP-qPCR
- Pucés à ADN = ChIP-on-Chip
- etc.

Immunoprécipitation de la chromatine = ChIP

Cas d'une ChIP-qPCR (utilisée dans le TD 7) :

qPCR = PCR quantitative permettant d'estimer la quantité d'ADN matrice

On réalise une qPCR sur la chromatine extraite avant le ChIP et une après le ChIP. Le rapport des deux nous donne le taux de fixation de la protéine étudiée.



$$\frac{y}{x} = \text{taux de fixation de la protéine}$$

Ici on aurait $7/14 = 0,5$

→ Dans l'ensemble de nos cellule de départ,
50% du locus étudié est fixé par la protéine

Nombre de
fragments total
avant ChIP = x ng

Nombre de
fragments
précipités (donc
fixés à la protéine)
= y ng

Cet exemple est très
simplifié mais le principe
reste valide