



*仅用于实验室，不用于诊断。请随时跟我们索取并使用最新版本的说明书。

Magna m⁶A RNA甲基化免疫沉淀试剂盒-(m⁶A MeRIP 试剂盒)-特定位点分析

此品非常适合从各种细胞、组织、哺乳动物、真菌、细菌、植物、血浆和血清等样本中提取的总RNA，进行特定基因RNA甲基化水平的定量分析，整个实验时间仅需6小时。主要检测仪器：实时荧光定量PCR仪或测序仪。

目录号： A-17-10499（10次）



扫我收藏分享，还有机会拿红包哦！

操作手册

英文操作手册为准！中文为辅！

在您收到订购的产品时，请确认操作手册是配套的！

同时，有翻译不妥的地方还请各位老师批评指正！

反馈信箱：tech@aderr.com

2016年12月，第1版，对应英文第2014.Revision A:Magna MeRIP版



艾德科技(北京)有限公司
A&D Technology Corporation



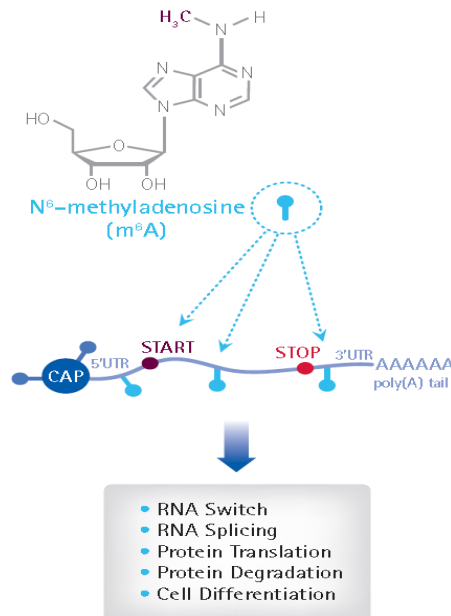
目录表

简介.....	3
m ⁶ A MeRIP 流程概览.....	4
试剂盒组成.....	5
配套实验器材.....	6
重点说明.....	7
详细的操作手册.....	8-18
免疫沉淀反应.....	19
洗脱.....	20
Magna m ⁶ A MeRIP 数据分析.....	21-22
附录 A:RNA 片段最佳化.....	23
RNA 片段化和参考文献.....	24
MeRIP 最佳化和疑难简单.....	25
相关产品.....	26
推荐产品.....	27
如何下单.....	28
微信号和订阅号.....	29

简介：

N6-甲基腺嘌呤[N6-methyladenosine(m6A)]代表一类丰富的RNA修饰，可通过研究许多不同物种来测定，包括植物、酵母、哺乳动物等。类似于DNA的修饰5-methylcytosine(5-mc)，m6A是一种可逆的化学改变的RNA。m⁶A RNA修改是一个新兴研究热点，控制哺乳动物胚胎干细胞命运的转变。m6A是一种最普遍的修饰的mRNA和非编码RNA；在真核生物中，估计有12000 m6A位点，超过7000个基因。马克的异质二聚体沉积methyltransferase-like 3和14(Mettl3和Mettl14),通过RNA去甲基酶FTO和ALKBH5可以去除甲基化。肥胖风险FTO基因编码首次发现与m6A去甲基化过程中。FTO的变异与肥胖和2型糖尿病的风险增加有关。最近，破坏m6A规则的状态导致长时间的在胚胎干细胞表达Nanog和无法退出自我更新阶段走向分化。

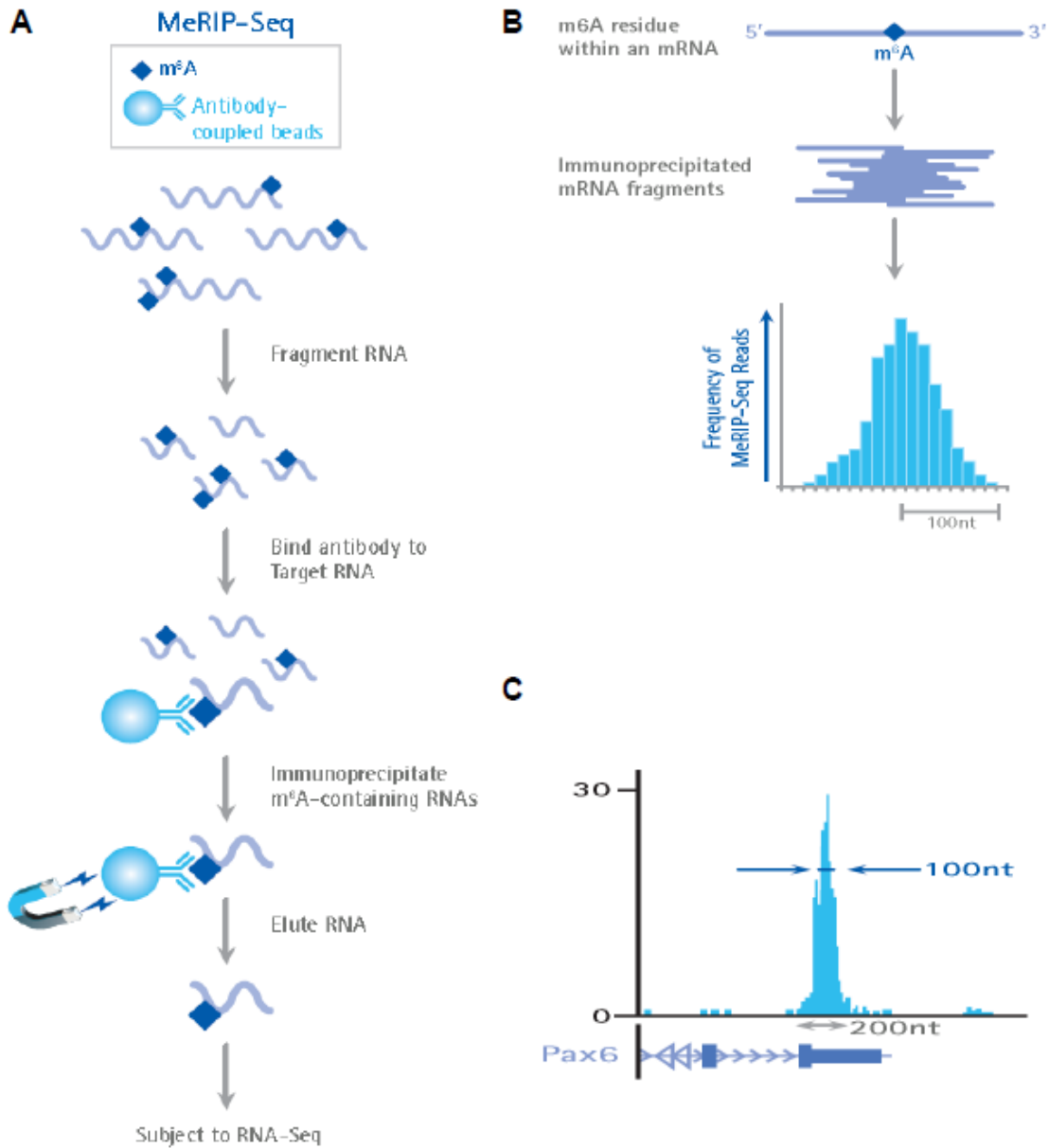
为此，我们联合 Merck 旗下品牌 upstate 和 Epigentek 为您推荐 Magna m⁶A RNA 甲基化免疫沉淀试剂盒（A-17-10499）和 m⁶A RNA 甲基化定量检测试剂盒（比色法）（A-P-9005）。甲基化(m6A)RNA 免疫沉淀反应(MeRIP)是一个很好的方法来监控 m6A 的状态和绘制 m6A RNA 的广泛位置变化。Magna 的 MeRIP M6A 工具包使用 MeRIP 方法使识别和 transcriptome-wide 剖析 m⁶A RNA 的修改。MeRIP 化验,RNA 化学分散成 100 核苷酸或小片段随后向 m6A 磁珠与单克隆抗体免疫沉淀反应。免疫沉淀反应后，可以受到孤立的 RNA 片段中存在或 RNA 测序(MeRIP-seq)。整个操作是非常简便的，产生结果伴随 SN 高比率。



MeRIP 方法概览：

m⁶A MeRIP 分析试剂盒使用 RNA 甲基化免疫沉淀的方法来识别广阔转录组中的 m6A。在 RNA 甲基化免疫沉淀分析中，采用化学的方法使 RNA 片段化到 100 左右的核苷酸或更小的片段采用单克隆抗体使得有吸附力的磁珠用免疫沉淀反应将其指向 m⁶A。在免疫沉淀反应之后，分离的 RNA 片段采用 qRT-PCR 或 RNA-测序（RNA-seq）来进行检测。

m⁶A MeRIP 试剂盒工作流程概览:



m⁶A MeRIP 分析试剂盒步骤



提供的材料（试剂盒配置）

m6A MeRIP 试剂盒提供了足够的试剂能够很好的完成 10 次 MeRIP 反应需要消耗 5ug 的 mRNA 或 5 次 MeRIP 反应需要使用 300ug 的总 RNA。

17-10499-1 (m6A MeRIP盒子组件, 储存在2-8° C)		
组件	部分#	数量
RNA Fragmentation Buffer 10X	CS220011	0.5ml
0.5M EDTA	CS203175	0.5ml
IP Buffer 5X	CS220009	15ml
Magnetic Beads A/G Blend	CS203152	315 ul
Anti-N6-methyladenosine(m ⁶ A), clone 17-3-4-1	MABE1006	100 ug

17-10499-2 (m6A MeRIP盒子组件, 储存在-20° C)		
组件	部分#	数量
RNase Inhibitor	CS216138	90ul
N6-Methyladenosine,5'-monophosphate sodium salt(m ⁶ A)	CS220007	10mg
Normal Mouse IgG	CS200621	125ug
MeRIP Primers Human EEF1A1 Positive F: CGG TCT CAG AAC TGT TTG TTT C R: AAA CCA AAG TGG TCC ACA AA	CS220017	75 ul
MeRIP Primers Human EEF1A1 Negative F: GGA TGG AAA GTC ACC CGT AAG R: TTG TCA GTT GGA CGA GTT GG	CS220018	75 ul

配套实验器材(自备, 也可咨询 QQ:1951545998)

试剂:

- 总RNA或信使RNA
- 100%的乙醇（分子生物学级别）
- 3M 乙酸钠（EMD Cat no.567422-100ml）
- Nuclease Free Water
- A&DPure系列RNA纯化试剂盒, 具体参考: <http://www.aderr.com/cn/main.php?m=13546&t=10304>
- 如果采用总RNA, 需要准备甘糖（Glycogen）



- 15ml和50ml的锥形离心管
- 无核酸酶的离心管，1.5ml和2.0ml
- PCR板，0.2ml

qRT-PCR分析配套试剂:

- One-Step RT-PCR Reagent (eg.A&D, A&DRT Mix系列, 具体咨询QQ: 1951545998或微信号: hugasis)

RNA甲基化免疫沉淀-测序文库构建试剂:

- 测序文库制备试剂盒
低RNA输入二代测序文库构建试剂盒

器材:

- 磁力架: Magna GriP Rack (8孔, Cat no.20-400)或PureProteome Magnetic Stand, Cat no.LSKMAGS08和LSKMAGS15
- 真空抽吸器
- 涡旋混合仪
- 微型离心机
- 超低温冰箱 (- 80°C)
- 混匀仪 (可4°C操作)
- 可变温的水浴锅或孵育器
- 微型混合仪
- 移液管 (2ml, 5ml, 10ml, 25ml)
- 可调移液器 (5-1000ul)
- 实时荧光定量PCR仪
- 超微量可见紫外分光光度计或分光光度计或生物分析仪

在开始实验前，重点说明：

在开始实验之前，请仔细通读整个操作手册，并安排您的工作。RNA甲基化免疫沉淀方法要求多步并尽量安排在2天完成或许多天完成。这里有几个停止点，容许在许多天执行这个方法。预估每步所需的大概时间和可能的停止点，请参考下面的表格：

片段化，免疫沉淀反应，和洗脱

操作步骤	所需时间	停止点和操作注释
片段化	~3小时	可将片段化的RNA（总RNA）放在酒精中冻存或在离心柱纯化（mRNA）后并储存在-80°C
免疫沉淀反应	~2.5小时	继续洗脱步骤
洗脱	~1小时	可以储存洗脱的RNA -80°C

RNA回收和分析

操作步骤	所需时间	停止点和操作注释
RNA提取	~2.5小时	可以储存纯化的RNA -80°C
RNA分析	~4小时，RT-qPCR	通过RNA-测序也可分析结果

Rnase control

在整个操作过程中，所有的操作要按照标准执行，使Rnase污染降到最小。在这个过程中，全程需要配套手套。所有的仪器，玻璃器皿和塑料管接触过细胞或细胞裂解物应该被证明是无核酸酶或使用DEPC水预先处理或另外的Rnase灭活试剂根据建立的RNA操作标准来同步施行。Rnase inhibitor (Cat no.CS216138, 加QQ:1951545998咨询)作为试剂盒组成部分包括在内。无论从哪个制造商购买的任何溶液都需要被证明是无DNase酶和Rnase酶污染。

详细的操作手册：

如果您对于RNA甲基化免疫沉淀方法比较陌生，在开始实验前请仔细阅读并完全理解整个操作步骤。这个版本的操作手册包括了重要的细节和有用的提示，来帮助您得到成功的结果。对于高级的使用者，可以参考第15页的简版操作手册。

A.RNA甲基化免疫沉淀实验，安排RNA实验

√ RNA甲基化免疫沉淀实验从总RNA，mRNA或rRNA所剩无几的RNA。我们推荐开始使用5ug的mRNA或很少的rRNA每次沉淀反应从数量巨大的rRNA（18s）中的m6A。mRNA的纯化可以使用商业化试剂盒比如：A&DmPure系列纯化试剂盒（A&D，具体咨询QQ:1951545998或添加微信号：hugasis）。如果起始材料是：总RNA，每次沉淀反应我们推荐的量是：300ug。

注释：尽管我们推荐开始有足够的RNA，我们获得10-20ng的样本（足够的准备RNA-seq文库）在我们内部的评估中，HEK293细胞中，获得0.5ug的mRNA或30ug的总RNA。

√ 使用未损的RNA是最重要的。我们推荐采用离心柱的方法来纯化并通过生物分析仪来检查RNA的完整性。降解的RNA影响整个实验的分析质量。

√ DNase处理是要必须进行的。在RNA实验中，在生物体的DNA中包含有m⁶A这点是非常重要的。M6A抗体在单链DNA中会识别m⁶A。

表一：近似数量的细胞和预期的总RNA得率每个细胞培养瓶（HeLa Cells）

容器类型	表面区域（cm ² ）	细胞数量	总RNA得率（ug）
T-75	75	~0.5X10 ⁷	70
T-225	225	~1.3X10 ⁷	180
10 cm 板子	78.5	~0.5X10 ⁷	70
15 cm 板子	176.6	~1.0X10 ⁷	140

B.RNA片段化

重要性：最佳条件需要剪切RNA到~100nt长度。参考附录A典型的操作手册。一旦剪切条件最佳化，继续接下来的步骤。针对mRNA和总RNA按照如下描述的典型示例来操作：作

B1：使用mRNA（polyadenylated RNA）的过程，浏览这部分；如果开始采用的是总RNA请参考过程B2部分。

1. 调整RNA浓度到~1ug/ul并使用nuclease-free水体积到18ul，在薄壁的200ul PCR管中。添加2 ul 的片段化 Buffer 10X（Cat no.CS220011）。通过移液器来均匀混合如有必要并离心到管底部。

注： 坚持遵守特定数量和体积的推荐量，因为比例可能会影响片段化的效率和片段大小分布。

2. 在94°C循环仪中预热模块。在带加热盖的循环仪中孵育4分钟。从模块中移走管子并立刻添加2ul 的0.5 M EDTA(Cat no.CS203175)。涡旋并离心至管底并放置在冰上。

注： ✓在现阶段的步骤要快速的操作并立刻继续接下来的步骤。

✓通过超声波来替代金属离子片段化即物理的方法来片段化是不推荐的，因为>200nt的片段得率可能不是随机的。

- 3.转移片段化的RNA到一个新的1.5ml 的微量离心管中。
- 4.纯化片段化的RNA可以通过A&DPure系列或类似离心柱RNA纯化方法来进行。
 - a.在第三步中，添加 78ul 的 Nuclease-free 水到片段化RNA调整到体积是：100ul。添加350ul 的 Buffer RLT并均匀的混合。
 - b.添加 700ul 的96-100%的酒精到稀释的RNA中，并通过移液器均匀的混合。无需离心。立刻继续进行操作步骤c。
 - c.转移 700ul 的样本到一个A&D Spin column放在2ml 的收集管中。轻轻的将盖子合上，并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心15s 。弃滤出液。转移其余的 450ul 的样本到离心中。弃滤出液。
 - d.放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中（在RNA纯化试剂盒中提供）。添加 500ul 的 Buffer RPE 到A&D Spin column。轻轻的将盖子合上，并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心15s 。弃滤出液。重新使用在步骤e中的收集管。
 - e. 添加 500ul 的80%的酒精到离心柱中。轻轻的将盖子合上，并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心2分钟并洗脱柱基质上的膜。弃滤出液，并收集管。
 - f. 放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中（在RNA纯化试剂盒中提供）。打开离心柱的盖子，并全速离心5分钟。弃滤出液，并收集管。
 - g. 放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中（在RNA纯化试剂盒中提供）。添加 14ul 的 Rnase-free水直接到离心柱中间的柱基质膜上。轻轻的将盖子合上，并全速离心1分钟洗脱RNA。

注： 洗脱的RNA在-80°C最长可达1年。

B2: 使用总RNA进行的步骤（跳过此步并继续进行C部分，如果起始使用的是：mRNA）

1. 调整RNA浓度到~1ug/ul并使用nuclease-free水体积到18ul(~18ug)，总RNA到一个薄壁的200ul PCR管中。添加2 ul 的片段化 Buffer 10X（Cat no.CS220011）。通过移液器来均匀混合如有必要并离心到管底部。

注： ✓坚持遵守特定数量和体积的推荐量，因为比例可能会影响片段化的效率和片段大小分布。

✓对于300ug 的总RNA来说准备17个管子是很有必要的。

2.在94°C循环仪中预热模块。在带加热盖的循环仪中一次5管孵育5分钟。从模块中移走管子并立刻添加2ul 的0.5 M EDTA(Cat no.CS203175)到每个管子中。涡旋并离心至管底并放置在冰上。对于每批样本重复此步，直至所有的RNA片段化。

注： ✓在现阶段的步骤要快速的操作并立刻继续接下来的步骤。

✓我们推荐每次每批5个管子来进行工作。（300ug 的RNA要求~17管子）。

3. 收集所有管子的内容，添加十分之一体积的 3M sodium acetate(pH 5.2)，肝糖（glycogen）(100ug ml⁻¹ final)和 2.5 体积的100% 的酒精。混合内容并在-80°C过夜孵育。

注： ✓不要使用核酸来作为沉淀物的运输者，因为这会干扰下游的IP和测序实验。

✓RNA在沉淀混合物中可以稳定的保存在-80° C最长可达1年。

4.在4°C以15,000g离心管子25分钟。弃上清，小心不要打散小球，这个是容易可见的因为存在肝糖。使用 1ml 的 75%（vol/vol）酒精并再次在4°C以15,000g离心管子15分钟来洗脱小球。

5.小心的吸入上清液并静置小球风干。使用 300ul 的 Rnase-free 水来重新重悬小球。

注： 此刻可将RNA保存在-80° C直至最长可达1年使用。

C.在片段化并大小分布之后验证

在片段化并大小分布之后并通过使用Agilent的RNA 6000 Pico kit和安捷伦（Agilent）2100生物分析仪来判定浓度分布。或另外，片段化RNA的浓度可以采用NanoDrop荧光分光光度计来测量并在1.5%（wt/vol）琼脂糖凝胶跑0.5ug 的RNA电泳来检测大小分布。整体片段化的轮廓步骤应该是生成RNA片段化大小在~100nt为中心分布图。

确认了RNA大小分布之后才进行柱子的纯化或乙醇-沉淀，因为存在的盐分可能会影响到凝胶中片段的迁移。我们推荐使用一个专门的RNA凝胶电泳仪来操作。

D.为免疫沉淀反应准备磁珠

在开始本部分操作前，注意事项：

作为起始点的2.5到5ug 的m6A 抗体对于 5ug 的片段化的mRNA或 10ug 的抗体对于 300ug 的总RNA 片段化建议作为指导方针量，但是质量可能需要最佳量。

当使用磁珠来执行洗脱步骤时，我们推荐使用真空吸入。为了避免吸入Rnases，使用抽吸器移液器额外已经灭菌的微量吸头很有必要。

1.对于mRNA 每个样本准备4ml(或对于总RNA每个样本加5ml) 1X IP buffer 在一个新的圆锥形的管子通过添加 800ul 对于mRNA（或对于总RNA 1ml）IP buffer，5X (Cat no.CS220009)使用3.2ml 针对mRNA（或对于总RNA是4ml）的无核酸的水。放置管子在冰上。

2.为渴望已久的MeRIP反应，在1.5ml的管子上贴恰当的标签。

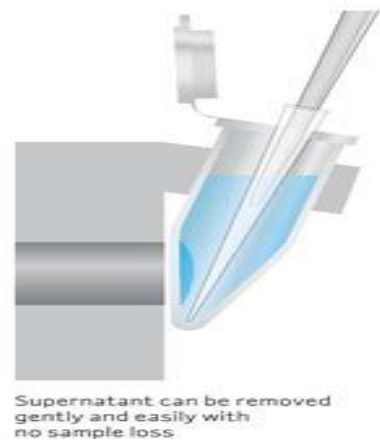
✓在一个抗-m6A抗体贴标和一个阴性对照 *Normal Mouse IgG* (Cat no. CS200 621)。

3.通过轻轻颠覆旋转或移液器来完全地分散并重新重悬 Magna ChIP Protein A/G Magnetic Beads(Cat no.CS203152)。使磁珠不结块并清楚可见。

4.按照上面第二步每次反应计划，对于mRNA(或对于总RNA 50ul)转移25ul 的mRNA的 Magna ChIP protein A/G Magnetic Beads 到一个离心管中。

5.在第一步中制备添加10倍原始磁珠体积的 1X IP Buffer，针对MeRIP样本数量（250ul MeRIP 稀释液每25ul 的原始体积的磁珠）并通过移液器轻柔的上下几次完全来混合磁珠。放置管子在磁力架上（比如：Cat no.20-400）持续1分钟。

6.移走上清液务必要不要吸入任何的磁珠。从磁力架上移走管子。



7.重复第四步和第五步额外的洗脱。

8.在每25ul 的原始体积的磁珠中重新重悬磁珠在100ul 的 1X IP Buffer。如果多次反应被演示，针对mRNA（或针对总RNA是200ul）转移100ul 的磁珠悬浮液到每个离心管中。针对mRNA（或针对总RNA是10ug）添加 5ug 的抗-m6A 抗体(Cat no.MABE1006)到每个离心管中。

✓强烈推荐使用 *normal Mouse IgG* (Cat no. CS200621) 演示一个阴性对照RIP反应。

9.室温旋转孵育30分钟。

10.短暂地离心管子并放置在磁力架一分钟并移走上清液。

11.从磁铁上移走微量离心管。添加0.5ml 的 1X IP Buffer 到每个管子中并轻柔使用移液器完全的重新重悬磁珠来混合磁珠。放置微量离心管在磁力架上十分钟然后移走上清液。

12.重复步骤10 额外的2次清洗。务必保证移走最终的清洗液仅留下磁珠。

13.从磁力架上移走微量离心管并放置他们在冰上。盖上盖子避免外露使磁珠干燥。在第三步中E部分这些样本将会被使用。

E:免疫沉淀反应（MeRIP）

1.移走0.5ug 的片段化的mRNA或 30ug 的总RNA (输入量的10%)，并且将其放置到一个新的微型离心管中，贴上标签“RNA input”。保持输入的样本储存在-80°C。这个样本将被用于绘制标准曲线或采用RT-PCR方法时比较使用的，或在RNA-seq中作为输入的对照来使用。

2.按照如下列表制备MeRIP反应混合液。针对5ug的mRNA准备500ul 的反应混合液或针对300ug 的总RNA准备1000ul 的反应混合液。

表2.MeRIP反应混合液

组件	mRNA	Total RNA
在无核酸酶水中的片段化RNA	395 ul	790 ul
Rnase抑制剂	5 ul	10 ul
IP buffer, 5X	100 ul	200 ul
Total	500ul	1000ul

3.从D部分第12步添加 500ul 的 MeRIP反应混合液到每个免疫磁珠管子中。轻柔通过移液器来完全混合磁珠，并重新重悬磁珠。放置在冰上操作。

4.在4°C下使用旋转的孵育箱孵育所有的管子2小时。

5. 短暂的离心MeRIP反应液并从盖子和微量离心管管壁两侧离心液体。放置在磁力分离器上1分钟。
6. 弃上清液，小心不要打乱磁珠。
7. 从磁铁上移走管子。添加 500ul 在D部分第1步准备好的 冷的 1X IP Buffer，并使用移液器轻轻的混合完全让磁珠重新重悬。
8. 放置管子在磁力分离器上1分钟然后弃上清液。
9. 重复以上清洗步骤（第7到第8步）2次并总计是：3次清洗。
10. 放置管子在冰上并且立刻为接下来的洗脱步骤使用。

F. 洗脱

1. 通过溶解 10mg 的 N6-Methyladenosine, 5'-monophosphate sodium salt(m⁶A) (Cat no.CS220007) 在 1.3ml 无核酸酶水中，来制备 20 mM m⁶A。储存被 150ul 整除的溶液在 -20°C。
2. 通过混合 45ul 的 IP Buffer 5X (Cat no.CS220009)，75ul 的在第1步中制备的 20mM m⁶A，3.5ul 的 Rnase 抑制剂 (Cat no.CS216138) 和 101.5ul 的无核酸酶水来制备。每个样本准备 225 ul 洗脱溶液。
3. 从E部分第10步添加 100ul 的洗脱溶液到磁珠中。并使用移液器轻轻的混合完全让磁珠重新重悬。
4. 在4°C下，使用连续旋转的仪器来孵育所有的管子1小时。
✓牢记在MeRIP样本中执行的第3到第4步，阴性对照 normal mouse IgG 样本也一样。
5. 短暂的离心MeRIP反应液并从盖子和微量离心管管壁两侧离心液体。放置在磁力分离器上1分钟。
6. 转移包含洗脱片段化的RNA上清液到一个新的 1.5ml 的微型离心管中。小心谨慎不要吸入磁珠，因为那样会增加背景噪声。
7. 同样的样本洗脱所有结合的溶液，都要重复第3-6步。总共的洗脱体积应该是：200ul。
8. 通过A&DPure系列试剂盒或类似的RNA纯化试剂盒（离心柱型）纯化洗脱后的RNA。
 - a. 转移 200ul 的 样本到一个新的 15ml 的锥形离心管中。添加 700ul 的 Buffer RLT并均匀的混合。
 - b. 添加 1,400ul 的96-100%的酒精到样本中，并通过移液器均匀的混合。无需离心。立刻继续进行操作步骤c。

- c. 转移 700ul 的样本到一个A&D Spin column放在 2ml 的收集管中。轻轻的将盖子合上，并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心15s。弃滤出液。转移其余的 700ul 的样本到离心中。弃滤出液。重复这个过程直至所有的样本全部装载到离心柱里。
- d. 放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中（在RNA纯化试剂盒中提供）。添加 500ul 的 Buffer RPE 到A&D Spin column。轻轻的将盖子合上，并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心 15s。弃滤出液。重新使用在步骤e中的收集管。
- e. 添加 500ul 的80%的酒精到离心柱中。轻轻的将盖子合上，并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心2分钟并洗脱柱基质上的膜。弃滤出液，并收集管。
- f. 放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中（在RNA纯化试剂盒中提供）。打开离心柱的盖子，并全速离心5分钟。弃滤出液，并收集管。
- g. 放置离心柱到一个新的 1.5ml 的收集管中（在RNA纯化试剂盒中提供）。添加 14ul 的 Rnase-free水直接到离心柱中间的柱基质膜上。轻轻的将盖子合上，并全速离心1分钟洗脱 RNA。

注： ✓此步不要添加肝糖（或另外的carrier）到沉淀物混合物中，因为这样可以使得带有m6A的沉淀物自由下落，可能妨碍下游的反应和测量值。

✓RNA可储存在-80°C。

G. MeRIPed RNA分析

使用Magna MeRIP试剂盒提取的RNAs可以采用RT-PCR来定量分析。一旦通过MeRIP成功检测到甲基化的RNA（如果甲基化和非甲基化的区域已经被我们知道），通过深度测序可以追踪更为广泛的有关转录组的疑问。

使用对照引物采用实时荧光定量的方法来测量MeRIP实验示例请参考下面的内容。使用qPCR相对标准曲线的方法分析检测甲基化RNA与来自对照的normal Mouse IgG 与抗-m6A，或选择使用比较的Ct($\Delta\Delta Ct$)方法需要进行2次PCR扩增，一个是阳性对照甲基化区域（人 EEF1A 阳性），和一个阴性对照非甲基化区域（人 EEF1A1 阴性）。无论使用相对的标准曲线方法还是比较Ct($\Delta\Delta Ct$)方法，RNA输入是必须需要的。示例成功的RNA检验展示在下面的图3到图5中。

1-步 针对RNA的实时荧光定量RT-PCR

1. 添加 2ul 的RNA样本到PCR板子适合实时荧光定量PCR设备中（我们推荐在演示每次MeRIP qPCR反应时做三个复孔）。



注： ✓从所有MeRIP中取12u1或输入的样本是可提供的。

✓2. 0u1 或更少的 MeRIP RNA建议采用20u1 的RT-PCR反应。

✓同样推荐每次MeRIP样本qPCR反应做三个复孔演示。

✓如果使用相对标准曲线方法，从输入样本中取10%的RNA连续稀释5-或10-倍 演示4个点，并采用这些样本来建立标准曲线。使用标准曲线，作为输入的MeRIP样本的浓度可以计算得出百分比。此外，涉及到的等量细胞或纯化的RNA质量可以计算得出数据。

2.按照如下表3制备主要的反应混合液。为每个额外的管子分配足够的试剂说明减少的体积。

对于试剂不同于A&DqMix系列（A&D）要遵循制造商的推荐使用说明。

3.添加 18ul 的qPCR混合液到 2ul 的样本中。

4.使用盖子或光学的胶带封好板子并开始qPCR反应。

表格3： 1-步法 qRT-PCR 设置和使用 iTaq Universal One-Step Kit来执行工作参数。

1-步 qRT-PCR试剂装配一次反应

qPCR参数

SYBR® Green Master Mix	10.0 µL
Reverse Transcriptase	0.25 µL
ddH ₂ O	6.75 µL
Primer mix	1.0 µL
Total	18 µL

cDNA Synthesis	50°C 10 min	} 40 cycles
Polymerase Inactivation	95°C 1 min	
Denature	95°C 10 sec	
Anneal and Extend:	60°C 30 sec	

I. 数据分析：

这里有很多算法来分析MeRIP结果；最为普遍的方法是：相对标准曲线方法和 $\Delta\Delta Ct$ 方法。

a.标准化RNA浓度点百分比输入量使用相对标准曲线

1.针对每个感兴趣的RNA，从输入样本中取10%的RNA连续稀释5-或10-倍 演示5个点，并采用这些输入的样本实时荧光定量来绘制标准曲线。使用带抗-m6A样本的抗体，和带有阴性对照mouse IgG的样本。

2.从qPCR设备制造商那里使用实时荧光定量检测系统来计算阈值循环（Ct）。

3.使用这些输入样本的阈值来建立标准曲线。

4.使用带抗-m6A的样本来确定浓度（C）并且使用标准曲线带有对照 mouse IgG的样本百分比的样本来计算。

5.通过计算C_{m6A}和C_{negative control mouse IgG}和比率来确定富集量。

注： ✓对于每个独立的实验，我们推荐在同一块中演示MeRIP qPCR分析实验时做三个复孔，如有必要。

√对于对照实验，阳性对照区域终止点是：人 *EEF1A1*（引物试剂盒提供），和阴性对照区域终止是：人 *EEF1A1* 的外显子 5（引物试剂盒提供）。

b. $\Delta\Delta Ct$ 方法

- 1.使用带有抗-m⁶A的抗体样本来执行实时荧光定量RT-PCR时，带有阴性对照mouse IgG的样本，和输入的样本一式三份。
- 2.执行实时荧光定量RT-PCR时使用阳性对照引物作为目标和使用阴性对照引物作为目标时，应该分开。
3. 从qPCR设备制造商那里使用实时荧光定量检测系统来计算阈值循环（Ct）。
4. 使用带抗-m⁶A的样本来确定浓度（C）并且使用标准曲线带有对照 mouse IgG的样本百分比的样本来减去Ct值获得输入IP 样本的Ct值即： $\Delta Ct = Ct_{IP} - (Ct_{input} - \text{Log}_2 [\text{Input Dilution Factor}])$ （Input Dilution Factor是10 如果使用输入样本的10%）。
- 5.计算每种IP 样本输入量的百分比： $\%Input = 2^{(-\Delta Ct_{\text{normalized IP}})}$ 。
6. 使用带抗-m⁶A的样本来确定 ΔCt 并且使用标准曲线带有阴性对照 IgG（ $\Delta\Delta Ct$ ）的样本百分比的样本来减去从阴性对照 Mouse IgG的Ct值获得抗-m⁶A抗体的 ΔCt 值即： $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{positive}} - \Delta Ct_{\text{negative}}$ 。
- 7.预估带有抗-m⁶A抗体的样本的富集量来结束阴性对照mouse IgG：富集量= $2^{\Delta\Delta Ct}$ 。

MeRIP-seq(NGS分析)

使用Magna MeRIP试剂盒提取到的RNA使用标准RNA-seq文库构建产品可以产生RNA-seq文库，比如：Encore® Complete RNA-Seq DR Multiplex Library System 或 a combination of Ovation® RNA-Seq System V2 和 Encore® Rapid DR Multiplex System。从MeRIP反应用5-10ng 纯化的RNA被用来Ovation RNA-Seq System V2反应或从MeRIP反应用50ng 纯化的RNA Encore Complete RNA-Seq 特定的文库构建。MeRIP RNA-Seq 文库分析演示可以是MeRIP 和 input RNA（总RNA）。使用模拟的IgG对照演示分析通常是比较困难的。因为从样本中取得材料数量是微乎其微的。

富有经验的使用者建议操作步骤：

如果这是您第一次操作，在开始实验前请仔细通读并完全理解整个操作步骤。一旦您完全理解了整个操作手册的所有简易操作步骤。这个版本的操作手册包括了重要的细节和有用的提示，来帮助您得到更好的结果。

I. RNA片段化

IA.使用mRNA（polyadenylated RNA）的程序，如果起始使用的是总RNA，请跳过此步按照IB部分开始操作。

1. 调整mRNA浓度到~1ug/ul和使用nuclease-free水使得体积到18ul。添加2 ul 的片段化 Buffer 10X（Cat no.CS220011）到薄壁的200ul PCR管中。

2. 在94°C带加热盖的循环仪中孵育管子4分钟。从模块中移走管子并立刻添加2ul 的 0.5 M EDTA (Cat no.CS203175)到每个管子中。涡旋并离心至管底并放置在冰上。

3. 转移片段化的RNA到一个新的 1.5ml 的微量离心管中。

4. 纯化片段化的RNA可以通过A&DPure系列或类似离心柱RNA纯化方法来进行。

a.在第三步中，添加 78ul 的 Nuclease-free 水到片段化RNA调整到体积是：100ul。添加 350ul 的 Buffer RLT并均匀的混合。

b.添加 700ul 的96-100%的酒精，并通过移液器均匀的混合。立刻继续进行操作步骤c。

c.转移 700ul 的样本到一个A&D Spin column放在2ml 的收集管中。轻轻的将盖子合上，并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心15s。弃滤出液。转移其余的 450ul 的样本到离心中。弃滤出液。

d.放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中（在RNA纯化试剂盒中提供）。添加 500ul 的 Buffer RPE 到A&D Spin column。轻轻的将盖子合上，并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心 15s。弃滤出液。重新使用在步骤e中的收集管。

e. 添加 500ul 的80%的酒精到离心柱中。轻轻的将盖子合上，并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心2分钟并洗脱柱基质上的膜。弃滤出液，并收集管。

f. 放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中。打开离心柱的盖子，并全速离心5分钟。弃滤出液，并收集管。

g. 放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中。添加 14ul 的Rnase-free水直接到离心柱中间的柱基质膜上。轻轻的将盖子合上，并全速离心1分钟洗脱RNA。

IB. 使用总RNA进行的步骤（跳过此步并继续进行II部分，如果起始使用的是：mRNA）

6. 并使用nuclease-free水调整RNA浓度到~1ug/ul。分配18ul(~18ug)的总RNA到一个薄壁的200ul PCR管中。添加2 ul 的片段化 Buffer 10X（Cat no.CS220011）。通过移液器来均匀混合如有必要并离心到管底部。

7.在94°C循环仪中预热模块。在带加热盖的循环仪中一次5管孵育5分钟。从模块中移走管子并立刻添加2ul 的0.5 M EDTA(Cat no.CS203175)到每个管子中。涡旋并离心至管底并放置在冰上。对于每批5个样本重复此步，直至所有的RNA片段化。

8.收集所有管子的内容，添加十分之一体积的 3M sodium acetate(pH 5.2)，肝糖(glycogen) (100ug ml⁻¹ final)和 2.5 体积的100% 的酒精。混合内容并在-80°C过夜孵育。

9.在4°C以15,000g离心管子25分钟。弃上清，小心不要打散小球，这个是容易可见的因为存在一定百分比的肝糖。使用 1ml 的 75% (vol/vol) 酒精并再次在4°C以15,000g离心管子15分钟来洗脱小球。

10.小心的吸入上清液并静置让小球风干。使用 300ul 的 Rnase-free 水来重新重悬小球。

II. 在片段化并大小分布之后验证

在片段化并大小分布之后并通过使用Agilent的RNA 6000 Pico kit和安捷伦（Agilent）2100生物分析仪来判定浓度分布。或另外，片段化RNA的浓度可以采用NanoDrop荧光分光光度计来测量并在1.5% (wt/vol) 琼脂糖凝胶跑RNA电泳来检测大小分布。

III. 为免疫沉淀反应准备磁珠

1.对于mRNA 每个样本准备4ml(或对于总RNA每个样本加5ml) 1X IP buffer 在一个新的圆锥形的管子通过添加800ul 对于mRNA（或对于总RNA 1ml）IP buffer，5X (Cat no.CS220009)使用3.2ml 针对mRNA（或对于总RNA是4ml）的无核酸的水。放置管子在冰上。

2.为渴望已久的MeRIP反应，在1.5ml的管子上贴恰当的标签。

3.通过轻轻颠覆旋转或移液器来完全地分散并重新重悬 Magna ChIP Protein A/G Magnetic Beads(Cat no.CS203152)。使磁珠不结块并清晰可见。

4.按照上面第二步每次反应计划，对于mRNA(或对于总RNA 50ul)转移25ul 的mRNA的 Magna ChIP protein A/G Magnetic Beads 到一个离心管中。

5.在第一步中制备添加10倍原始磁珠体积的 1X IP Buffer，针对MeRIP样本数量（250ul MeRIP 稀释液每25ul 的原始体积的磁珠）并通过移液器轻柔的上下几次完全来混合磁珠。放置管子在磁力架上持续1分钟。

6.移走上清液务必不要吸入任何的磁珠。从磁力架上移走管子。

7.重复第四步和第五步额外的洗脱。

8.在每25ul 的原始体积的磁珠中重新重悬磁珠在100ul 的 1X IP Buffer。如果多次反应被演示，针对mRNA（或针对总RNA是200ul）转移100ul 的磁珠悬浮液到每个离心管中。针对mRNA（或针对总RNA是10ug）添加 5ug 的抗-m⁶A 抗体(Cat no.MABE1006)到每个离心管中。

9.室温旋转孵育30分钟。

10.短暂地离心管子并放置在磁力架1分钟并移走上清液。

11.从磁铁上移走微量离心管。添加0.5ml 的 1X IP Buffer 到每个管子中并轻柔使用移液器完全的重新重悬磁珠来混合磁珠。放置微量离心管在磁力架上1分钟然后移走上清液。

12.重复步骤10 额外的2次清洗。务必保证移走最终的清洗液仅留下磁珠。

13.从磁力架上移走微量离心管并放置他们在冰上。盖上盖子避免外露使磁珠干燥。在第三步中E部分这些样本将会被使用。

IV. 免疫沉淀反应（MeRIP）

1.移走0.5ug 的片段化的mRNA或 30ug 的总RNA (输入量的10%)，并且将其放置到一个新的微型离心管中，贴上标签“RNA input”。保持输入的样本储存在-80°C。

2.按照如下列表制备MeRIP反应混合液。针对5ug的mRNA准备500ul 的反应混合液或针对300ug 的总RNA准备1000ul 的反应混合液。

组件	mRNA	Total RNA
在无核酸酶水中的片段化RNA	395 ul	790 ul
Rnase抑制剂	5 ul	10 ul
IP buffer, 5X	100 ul	200 ul
Total	500ul	1000ul

3.从D部分第12步添加 500ul 的 MeRIP反应混合液到每个免疫磁珠管子中。轻柔通过移液器来完全混合磁珠，并重新重悬磁珠。放置在冰上操作。

4.在4°C下使用旋转的孵育箱孵育所有的管子2小时。

5.短暂的离心MeRIP反应液并从盖子和微量离心管管壁两侧离心液体。放置在磁力分离器上1分钟。

6.弃上清液，小心不要打乱磁珠。

7.从磁铁上移走管子。添加 500ul 在D部分第III步准备好的 冷的 1X IP Buffer，并使用移液器轻轻的混合完全让磁珠重新重悬。

8. 放置管子在磁力分离器上1分钟然后弃上清液。
9. 重复以上清洗步骤（第7到第8步）2次并总计是：3次清洗。
10. 放置管子在冰上并且立刻为接下来的洗脱步骤使用。

V. 洗脱

1. 通过溶解 10mg 的 N6-Methyladenosine, 5'-monophosphate sodium salt(m⁶A) (Cat no.CS220007) 在 1.3ml 无核酸酶水中, 来制备 20 mM m⁶A。储存被 150ul 整除的溶液在 -20°C。
2. 通过混合 45ul 的 IP Buffer 5X (Cat no.CS220009), 75ul 的在第1步中制备的 20mM m⁶A, 3.5ul 的 Rnase 抑制剂 (Cat no.CS216138) 和 101.5ul 的无核酸酶水来制备。每个样本准备 225 ul 洗脱溶液。
3. 从E部分第10步添加 100ul 的洗脱溶液到磁珠中。并使用移液器轻轻的混合完全让磁珠重新重悬。
4. 在4°C下, 使用连续旋转的仪器来孵育所有的管子1小时。
5. 短暂的离心MeRIP反应液并从盖子和微量离心管管壁两侧离心液体。放置在磁力分离器上1分钟。
6. 转移包含洗脱片段化的RNA上清液到一个新的 1.5ml 的微型离心管中。小心谨慎不要吸入磁珠, 因为那样会增加背景噪声。
7. 同样的样本洗脱所有结合的溶液, 都要重复第3-6步。总共的洗脱体积应该是: 200ul。
8. 通过A&DPure系列试剂盒或类似的RNA纯化试剂盒(离心柱型)纯化洗脱后的RNA。
 - a. 转移 200ul 的样本到一个新的 15ml 的锥形离心管中。添加 700ul 的 Buffer RLT并均匀的混合。
 - b. 添加 1,400ul 的96-100%的酒精到样本中, 并通过移液器均匀的混合。无需离心。立刻继续进行操作步骤c。
 - c. 转移 700ul 的样本到一个A&D Spin column放在 2ml 的收集管中。轻轻的将盖子合上, 并在≥8000xg(≥10, 000rpm)离心15s。弃滤出液。转移其余的 700ul 的样本到离心中。弃滤出液。重复这个过程直至所有的样本全部装载到离心柱里。
 - d. 放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中。添加 500ul 的Buffer RPE 到A&D Spin column。轻轻的将盖子合上, 并在≥8000xg(≥10, 000rpm)离心15s。弃滤出液。重新使用在步骤e中的收集管。

- e. 添加 500ul 的80%的酒精到离心柱中。轻轻的将盖子合上,并在 $\geq 8000xg$ ($\geq 10,000rpm$)离心2分钟并洗脱柱基质上的膜。弃滤出液,并收集管。
- f. 放置离心柱到一个新的 2ml 的收集管中。打开离心柱的盖子,并全速离心5分钟。弃滤出液,并收集管。
- g. 放置离心柱到一个新的 1.5ml 的收集管中。添加 14ul 的Rnase-free水直接到离心柱中间的柱基质膜上。轻轻的将盖子合上,并全速离心1分钟洗脱RNA。

VI. MeRIPed RNA分析

提取的RNAs可以采用RT-PCR来定量分析。一旦通过MeRIP成功检测到甲基化的RNA,通过深度测序可以追踪更为广泛的有关转录组的疑问。

Magna MeRIP m⁶A 分析数据举例:

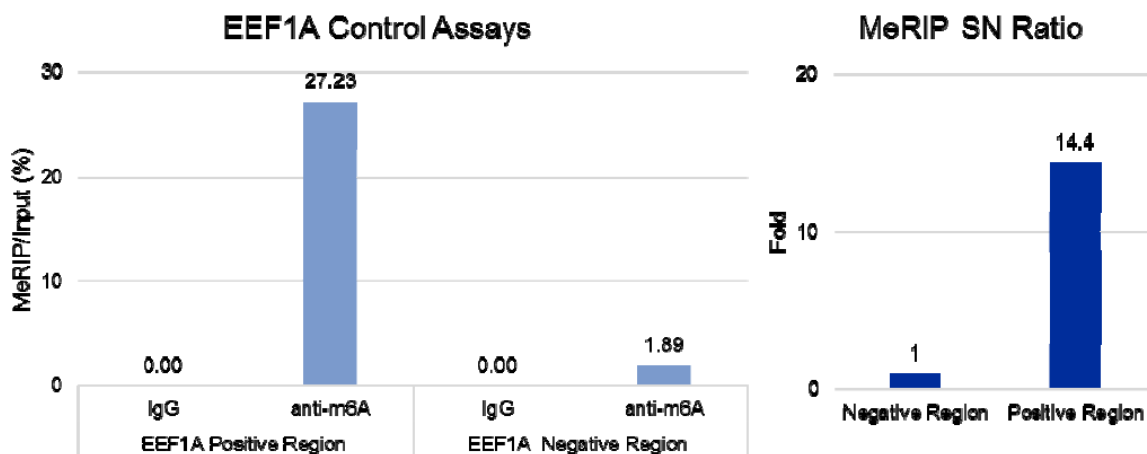


图3: 从HEK293细胞中,通过Magna m⁶A RNA甲基化免疫沉淀试剂盒(A-17-10499)使用mRNA成功的分析甲基化m⁶A RNA。使用阳性对照引物(MeRIP人类EEF1A1阳性引物, Cat # CS220017)和阴性对照引物(MeRIP人类EEF1A1 阴性引物, Cat # CS220018)通过RT-qPCR分析纯化的mRNA。

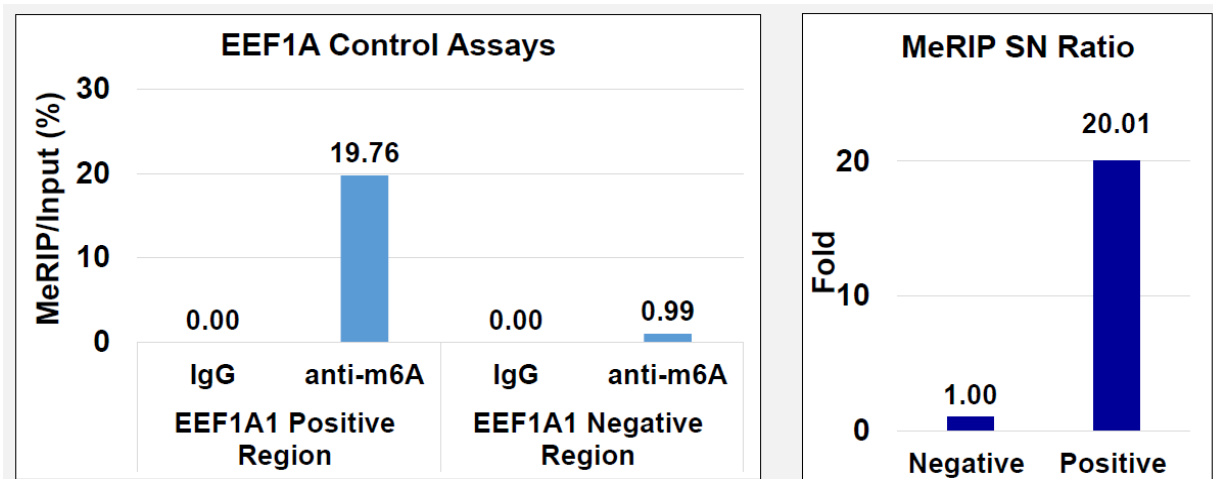


图4: 从HEK293细胞中, 通过Magna m⁶A RNA甲基化免疫沉淀试剂盒 (A-17-10499) 使用总RNA成功的分析甲基化m⁶A RNA。使用阳性对照引物(MeRIP人类EEF1A1阳性引物, Cat # CS220017)和阴性对照引物(MeRIP人类EEF1A1 阴性引物, Cat # CS220018)通过RT-qPCR分析纯化的总RNA。

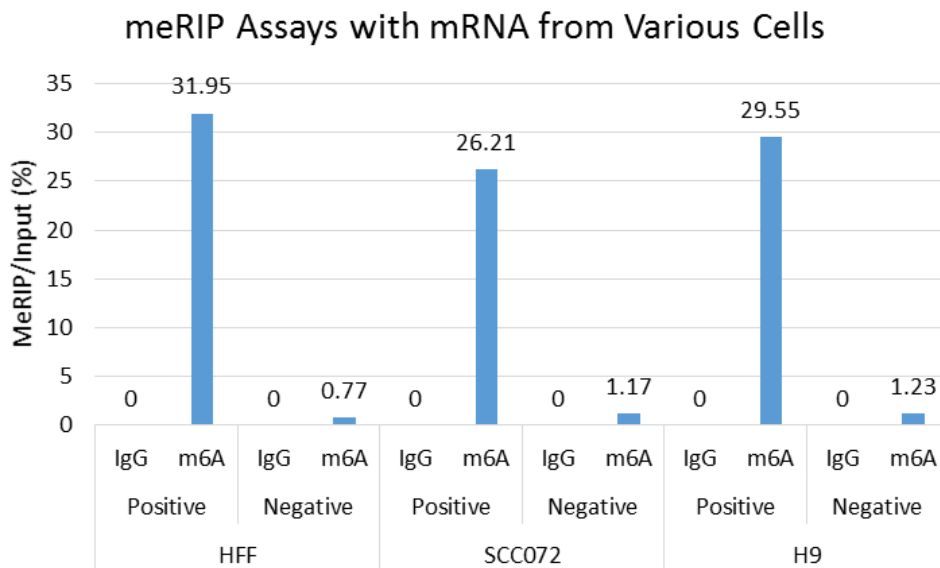


图5: 从各种细胞中, 通过Magna m⁶A RNA甲基化免疫沉淀试剂盒 (A-17-10499) 使用mRNA成功的分析甲基化m6A RNA。从无异源人包皮成纤维细胞(HFF, Cat. # SCC058), 人脑UM-SCC-104, 脖子磷状细胞癌(Cat. # SCC072)和人胚胎干细胞 (H9) 中纯化的mRNA演示MeRIP。使用阳性对照引物(MeRIP人类EEF1A1阳性引物, Cat # CS220017)和阴性对照引物(MeRIP人类EEF1A1 阴性引物, Cat # CS220018)通过RT-qPCR分析纯化的总RNA。

附录A:RNA片段最佳化

化学方法片段化RNA长度到100nt的最优条件取决于RNA的浓度，RNA的类型（mRNA或总RNA），特定的循环仪和设备设置（孵育时间和温度），和剩余EDTA和盐分的百分比。

超声波处理的最佳条件可能包括如下的几步：

A.RNA固定浓度（~1ug/ul）和温度是：94°C。

B.恒定的时间和温度参数，可以调整RNA的浓度。

C.结合两者条件来处理。然后，一次多于一个参数的改变是我们不推荐的。

通过选择循环仪（S1000循环仪，Bio-Rad）中如下描述的最佳选项A作为一个特定的操作来举例说明：

I. 调整RNA浓度到~1ug/ul和使用nuclease-free水使得体积到18ul。添加2 ul 的片段化Buffer 10X（Cat no.CS220011）到薄壁的200ul PCR管中。通过使用移液器来均匀混合并离心到管底，如有必要。

II.在一个新的微量离心管中使用90 ul 的无核酸酶水稀释 10ul 的 0.5 M 的EDTA（Cat no.CS203175）来制备 100ul 的 0.05 M 的EDTA。

III.在94°C带加热盖的循环仪中孵育管子4分钟。从模块中移走管子并立刻添加2ul 的 0.5 M EDTA (Cat no.CS203175)到每个管子中。涡旋并离心至管底并放置在冰上。

IV. 完全转移2ul 片段化的RNA到一个新的微型离心管中。添加在第II步中制备好的 2ul 的 0.05 M EDTA 到每个管子中。涡旋他们并离心至管底然后放置在冰上。

✓最佳片段化的时间通常是：针对mRNA大概是：4分钟；总RNA大概是：5-6分钟。

✓使用MeRIP试剂盒对于来自HEK293细胞的总RNA最适合的片段化条件举例，请参考图6。

V. 通过使用Agilent的RNA kit和安捷伦（Agilent）2100生物分析仪来判定片段化RNA浓度分布。或转载 0.5ug 的片段化RNA并在1-2%琼脂糖凝胶跑电泳来检测分析。

VI.观察剪切条件给出了片段化RNA位于100nt的峰值图。请参看举例：图6。

VII.如果生成的RNA片段不是预期渴望的大小范围请重复最佳的剪切条件。如果RNA片段过大可适当增加处理时间。

RNA片段化：剪切RNA的峰值应该出现在100nt的长度位置

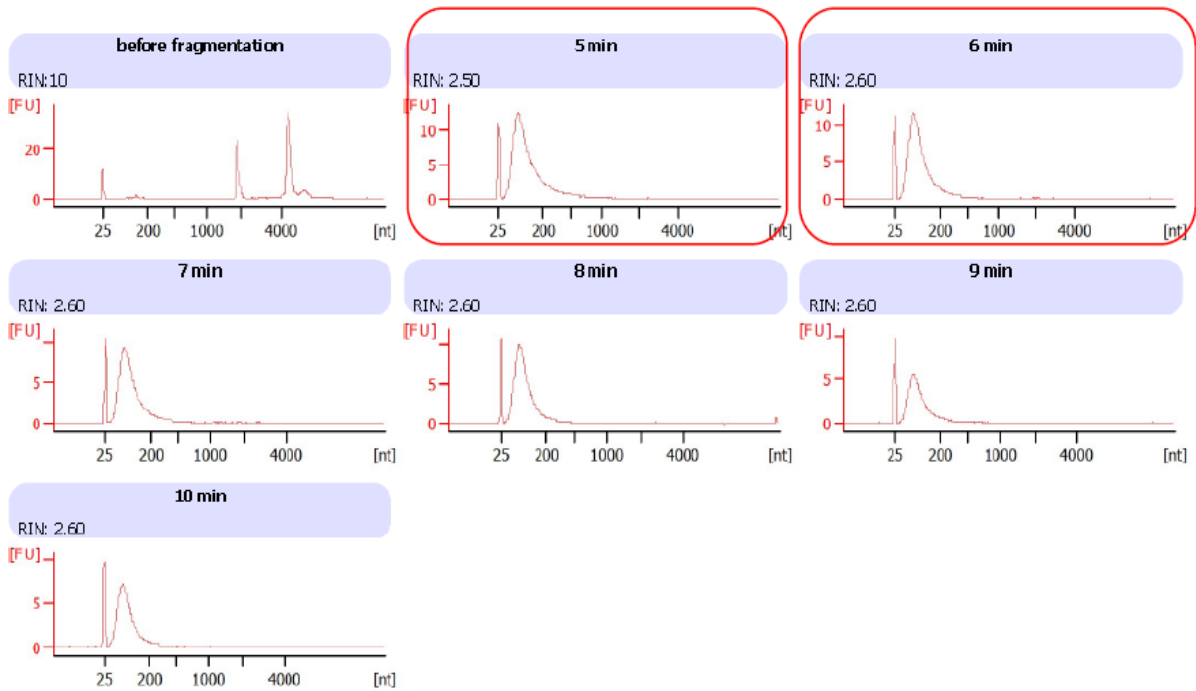


图 6: RNA 片段化

从 HEK293 细胞提取总 RNA 来片段化。使用 S1000 循环仪（Bio-Rad）来演示加工程序。片段化 RNA 大小分布通过使用 Agilent 的 RNA kit 和安捷伦（Agilent）2100 生物分析仪来判定浓度分布。对于 MeRIP 实验来说，持续 5-6 分钟的片段化总 RNA 会有最好的剪切效果。

参考文献：

1. K.D. Meyer, Y. Saletore, P. Zumbo, et al. *Cell*. 2012 Jun 22; 149, 1635-1646.
2. D. Dominissini, S. Moshitch-Moshkovitz, S. Schwartz, et al. *Nature*. 2012 May 10; 484, 201-206
3. Dominissini D, Moshitch-Moshkovitz S, Salmon-Divon M, et al. *Nat Protoc*. 2013 Jan;8(1):176-89

MeRIP最佳化和疑难解答

步骤	潜在的问题	实验建议
RNA片段化	不足/太多片段	如果片段太大或太小，使用附录A中大概描述的最佳破碎条件来获得适当大小片段。
免疫沉淀反应	抗体没有免疫沉淀甲基化的RNA	<ul style="list-style-type: none"> √ 滴定测量抗体和使用固定数量RNA系列稀释的抗体来确定最有效的免疫沉淀条件。 √ 增加感兴趣带有RNA抗体的孵育时间，4°C过夜。
	在免疫沉淀反应中磁珠的数量不足	<ul style="list-style-type: none"> √ 磁珠静置至管底时间过长。在IP中预先移走恰当的体积；检查Magna ChIP Protein A/G磁珠是否均匀的混合。 √ 当使用真空抽吸器时小心吸入液体并使用高吸引力的钕质磁力架比如：Cat no.20-400 确保Magna ChIP Protein A/G磁珠紧紧的贴在微型离心管的管壁。
RNA纯化	RNA得率低	<ul style="list-style-type: none"> √ 大多数MeRIP反应可期望的产量类似于成百上千的细胞系从5ug 的mRNA或 300ug 的总RNA取决于原始组织的细胞系。 √ 在以上免疫沉淀反应中没有检测到RNAs。
	RNA降解	<ul style="list-style-type: none"> √ 在这个操作手册中使用我们推荐的溶液Rnase抑制剂。务必保证整个工作环境中都是无Rnase-free和Rnases不会再次产生。 √ 在详细操作部分之前，遵循Rnase对照部分的操作指引。 √ 使用灭活的Rnase试剂去保证工作区和材料的无Rnase酶。
	没有检测到RNA	√ 在片段化开始之前和之后，确认RNA的质量。
PCR	从阳性对照分析无PCR结果	<ul style="list-style-type: none"> √ 增加用于PCR反应的MeRIP样本数量，最高达到总RNA反应体积的10%。 √ 确保扩增反应程序是在循环仪上设置正确的。 √ 针对正确的Tm再次检验引物。（如果是自己设计的引物） √ 使用溶解曲线执行PCR反应时评估确认扩增条件和引物生成单一的DNA结果的能力。
	阴性对照分析高背景水平	在免疫沉淀反应后不足的清洗。增加磁珠的清洗时间。过长的免疫沉淀孵育时间。缩短孵育时间。



相关产品：

产品	描述	货号
Magna ChIRP RNA交联试剂盒	可做12次 ChIRP分析实验	A-17-10494
EZ-Magna ChIRP RNA交联试剂盒	可做12次 ChIRP分析实验-含对照和探针	A-17-10495
Magna ChIRP™ Negative Control Probe Set	专为ChRIP设计的阴性对照探针	A-03-307
Magna ChIRP™ Negative Control Probe Set	针对ChRIP预先设计的临时探针	A-03-308
Magna ChIRP™ TERC IncRNA Probe Set	针对ChRIP预先设计的临时探针	A-03-309
Magna细胞核交联（RIP）抽提试剂盒	RNA结合蛋白沉淀试剂盒	A-17-10520
EZ-Magna细胞核交联（RIP）抽提试剂盒	RNA结合蛋白沉淀试剂盒-含对照和抗体	A-17-10521
Magna 细胞核（RIP）抽提试剂盒（传统版）	研究RNA与蛋白的相互作用	A-17-10522
EZ- Magna 细胞核（RIP）抽提试剂盒（传统版）	研究RNA与蛋白的相互作用	A-17-10523
Magna ChIP染色质免疫沉淀试剂盒	超高灵敏度ChIP检测	A-17-10460
EZ- Magna ChIP染色质免疫沉淀试剂盒	超高灵敏度ChIP检测	A-17-10461
Magna 细胞核（RIP）抽提试剂盒	研究RNA与蛋白的相互作用	A-17-700
EZ- Magna 细胞核（RIP）抽提试剂盒	研究RNA与蛋白的相互作用	A-17-701
Magna ChIP-Seq染色质免疫沉淀和二代测序文库制备试剂盒	ChIP-二代测序检测	A-17-1010
Magna ChIP2通用型染色质免疫沉淀DNA芯片试剂盒	ChIP-芯片法检测	A-17-1000

订购信息

货号	品名	规格
A-P-9009	总体 RNA 甲基化极易定量检测试剂盒(荧光法)	48 次、96 次
A-P-9007	EpiNext RNA 甲基化极易测序试剂盒 (Illumina)	12 次、24 次
A-P-9005	m6A RNA 甲基化定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-R5001	EZ RNA 甲基化修饰试剂盒	50 次
A-R5002	EZ RNA 甲基化修饰试剂盒	200 次
A-P-9003	RNA 甲基化修饰试剂盒	50 次、100 次



推荐产品

RNA 和 microRNA 样本的制备:

货号	品名	规格
A-R1202	A&D TRIpure 高纯总 RNA 快速提取试剂盒（离心柱）	50 次、100 次
A-RH110	细胞/组织总 RNA 提取试剂盒（离心柱）	50 次、200 次
A-R5311	石蜡包埋组织 microRNA 快速提取试剂盒（离心柱）	50 次、100 次
A-R4002	A&D 血液总 RNA 快速提取试剂盒（液体样本,离心柱）	50 次、100 次
A-RH710	血液总 RNA 小量提取试剂盒（离心柱）	50 次、200 次
A-R5908	血液（液体样本）microRNA 快速提取试剂盒 III 型（柱型）	50 次、100 次
A-R3202	多糖多酚植物总 RNA 快速提取试剂盒（离心柱）	50 次、100 次
A-R3302	A&D 通用植物总 RNA 提取试剂盒（离心柱型）	50 次、100 次
A-RH130	植物总 RNA 提取试剂盒（离心柱）	50 次、200 次
A-R5331	通用植物 microRNA 快速提取试剂盒（柱型）	50 次、100 次

特定基因DNA甲基化定性定量试剂盒和全基因组DNA甲基化定量试剂盒:

货号	品名	规格
A-P-1016	DNA 甲基化直接修饰试剂盒---无需提取 DNA	40 次、80 次
A-P-1026	DNA 甲基化极速修饰试剂盒---需要提取 DNA	50 次、100 次
A-P-1050	96 孔 DNA 甲基化极速修饰试剂盒（磁珠法）	96 次、192 次
A-P-1054	DNA 甲基化极易修饰试剂盒	50 次、100 次
A-P-1064	游离环状 DNA 提取试剂盒（磁珠法）	25 次、50 次
A-P-1028	快速 MS-qPCR 试剂盒	100 次、200 次
A-P-1029	Epiquick qPCR 快速试剂盒	100 次、200 次
A-P-1030	DNA 甲基化极易定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-1032	DNA 羟甲基化极易定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-1034	DNA 甲基化定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-1035	DNA 甲基化定量检测试剂盒(荧光法)	48 次、96 次
A-P-1036	DNA 羟甲基化定量检测试剂盒(比色法)	48 次、96 次
A-P-1037	DNA 羟甲基化定量检测试剂盒(荧光法)	48 次、96 次

可能用到的产品

货号	品名	规格
A-BC121	DNase I(RNase-free)(2 U/ul)	2000U、10000U
A-RH113	总 RNA 提取试剂盒	50 次、200 次
A-RQ110	A&D Pur-zol™ Reagent	100ml、200ml
A-E2001	ZymoTaq DNA Polymerase	50 次、200 次



如何下单

1. 电话，传真或邮件订购:

技术电话：010—57225208； 传真：010—52406250； 订购电话：010-52406250

邮件：ordering@aderr.com

2. 在线定单订购:

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1771&t=1474>

推荐阅读

1. RNA 甲基化修饰和定量？惊呆了我和小伙伴们!!!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=30829>

2. A&D Technology Corporation 解码神秘的 RNA 第 5 个碱基---m6A(N6-methyladenosine)

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=30227>

3. 艾德科技史上最全表观遗传学产品线与服务，让你的研究冰爽一“夏”!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=27858>

4.“新四大碱基”的确定，对于生物学研究者的几点启示!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=2566&t=3623&id=21290>

5.科学家发现新型 DNA-microDNA!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=20763>

6.艾德科技为您提供“一站式”的产品与服务!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=20739>

7. A&D Technology Corporation 长期供应下一代超高敏测序系列产品!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=30108>

8. 【表观遗传-m6A 深度研究】绝招在身，走遍天下！掌握表观遗传学前沿产品研究工具!

<http://www.aderr.com/cn/main.php?m=1349&t=3606&id=49286>



公众号：AD-Bio



订阅号：Bio-888



艾德科技（北京）有限公司
A&D Technology Corporation

地 址：北京昌平区中关村生命科学园东 60 米艾德园（102206）

电 话：010-52406250

传 真：010-52406250

网 址：www.aderr.com

Email:tech@aderr.com