

meRIP Kit

meRIP 试剂盒

目录号

DLI202

产品简介

RNA 甲基化在调控基因表达、剪接、RNA 编辑、RNA 稳定性、控制 mRNA 寿命和降解、介导环状 RNA 翻译等方面可能扮演重要角色。利用甲基化 RNA 免疫共沉淀 (Methylated RNA Immunoprecipitation, meRIP) 技术, 可以全面研究 RNA 转录后甲基化修饰图谱。

RNA 甲基化指发生在 RNA 分子上不同位置的甲基化修饰现象, 常见的 RNA 转录后修饰方式有 6-甲基腺嘌呤 (N6-methyladenosine, m6A) 和 5-甲基胞嘧啶 (C5-methylcytidine, m5C)、m1A、m7G、m3C 及 m6Am 等。

产品组成

组分	规格 (20 T)	储存
RNA Fragment buffer	1 μ L	4 $^{\circ}$ C
AB binding buffer	12 mL	4 $^{\circ}$ C
RI	2 μ L	-20 $^{\circ}$ C
Binding enhancer RIP	2 mL	4 $^{\circ}$ C
Protein A/G beads	400 μ L	4 $^{\circ}$ C
Anti-m6A	20 μ L	-20 $^{\circ}$ C
IgG	20 μ L	-20 $^{\circ}$ C

RIP washing buffer	30 mL	4 $^{\circ}$ C
Polysome elution buffer	2 mL	4 $^{\circ}$ C
Nucleic acid BF C	16 mL	4 $^{\circ}$ C
Magnetic beads	400 μ L	4 $^{\circ}$ C
RNase-free water	1 mL	-20 $^{\circ}$ C

产品应用

- ◆ 分析 RNA 甲基化模式序列, RNA 修饰的全局分布与功能研究;
- ◆ RNA 修饰酶的靶点研究;
- ◆ 疾病相关机制探索 (如癌症和神经退行性疾病);
- ◆ 发育与细胞分化调控;
- ◆ 病毒与宿主相互作用, 以及药物开发中的靶点验证;
- ◆ 转录组水平高精度分析多种 RNA 的甲基化位点, 包括 mRNA, lncRNA 和 circRNA 等。

产品特点

- ◆ 选择不同的甲基化抗体, 可以研究 RNA 发生的不同类型甲基化;
- ◆ 含 RNA 提取模块: 甲基化抗体捕获的 RNA 为 40 nt~300 nt 范围的小片段 RNA, 回收难度大, 本产品含有成熟简单的小 RNA 提取材料及试剂, 显著提升回收效率;
- ◆ 检测周期短: 全实验周期低于 3 h。

使用方法

1. RNA 片段化 (时间 90 min)

- 取 20~50 μ g 总 RNA 样品, 加入 1/4 RNA 样品体积的 RNA Fragment buffer 吹打混匀后, 95 $^{\circ}$ C 片段化 90 min;
- 转移 10 μ L RNA 片段化样品 (标示为 Input), -20 $^{\circ}$ C 暂存或直接跳转至

RNA 提取步骤，剩余 RNA 样品加入 400 μ L AB binding buffer、100 μ L RI 及 100 μ L Binding enhancer RIP 并轻弹混匀；

2. 抗体准备 (时间 30 min)

- 取 20 μ L Protein A/G beads，加入 200 μ L AB binding buffer 及 1 μ L anti-m6A；
- 室温摇动结合 30 min 后，磁力架上去除 200 μ L 上清；

3. 免疫沉淀 (时间 60 min)

- 磁珠中加入 200 μ L 经片段化处理的 RNA 样品；
- 在垂直混匀器上，室温摇动孵育 60 min 后，磁力架收集磁珠并去除上清；
- 磁珠中加入 500 μ L RIP washing buffer，垂直混匀器室温摇动洗涤 3 min 后，磁力架收集磁珠并去除上清，重复本步 2 次（共洗涤 3 次）；

4. RNA 回收 (时间 30 min)

- 磁珠中加入 100 μ L Polysome elution buffer 轻弹混匀 5 次后，65 min 热洗脱 10 min；
- IP、IgG 和 Input 组分别加入 200 μ L Nucleic acid BFC、10 μ L Magnetic beads 并室温摇动结合 10 min 后，磁力架上收集磁珠去除上清；
- 磁珠中加入 200 μ L Nucleic acid BFC，轻弹混匀后直接磁力架上去除上清收集磁珠；
- 室温晾干（约 10 min）后；
- 磁珠中加入 20 μ L RNase-free water，磁力架收集上清为 RNA。

注意事项

- 完整的 RNA 电泳后，3 条带亮度比为 2:1:1 针对质量差的 RNA 可以缩短片段化的时间；
- RNA 片段化后大小在 300-600 bp 左右；
- 实验全程请使用无 RNase 离心管、枪头等耗材；
- RNA 片段化时同步开展第 2 步；
- 根据实验需求设置 IgG 组；

- 吸取 Protein A/G beads 前需要充分轻弹混匀；
- 每次实验需要 1~3 μ g IP 级抗体；
- 使用无 RNase 耗材；
- 每次洗涤需要充分去除洗涤液；
- Polysome elution buffer 使用之前需要加热溶解；
- NGS 建库及逆转录推荐以 small RNA 方式（以加尾方式逆转录）；
- qPCR 实验可以 GAPDH 或 U6 为阴性对照基因；
- RNA 洗脱需要确保磁珠晾干，否则需要延长晾干时间。

保存条件

保存条件见产品组成，保质期 12 个月。4~8 $^{\circ}$ C 运输。

技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：

product@tsingke.com.cn。

说明书版本号

1.1.1.1202.2511

