

名偵探科男～

# 細胞內神秘的三角關係



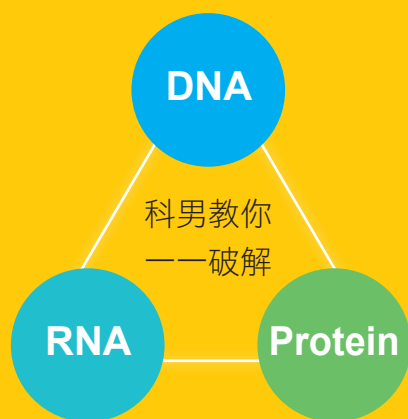
## 科男の前情報

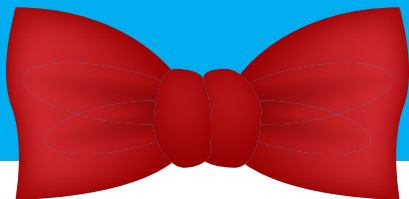
### 基因調控

隨著 DNA 解碼完成，後基因體時代 ( Post-genomic Era ) 來臨，卻發現人類的基因數目遠低於預估。許多研究顯示，相近物種間的演化差異、同物種間個體的表現變異，其決定關鍵不全在於 DNA 序列；而是不同細胞如何調控其基因表現。因此，科學家進而開始投入於表觀遺傳 ( Epigenetics ) 的研究。

### Epigenetics

專門針對基因修飾機制所進行的研究，在不影響基因序列的情況下，達到調控基因表現，進而影響生物表現型 ( phenotype ) 差異的一門科學。目前 Epigenetics 的研究主要可分成 DNA 與 RNA 兩部分。





# DNA 的祕辛

## Chromatin and nucleosome remodeling

任何與 DNA 相關的細胞活動都要受到染色質結構的影響，因此了解染色質的結構是研究 DNA 相關細胞活動的首要目的。

## Histone modification

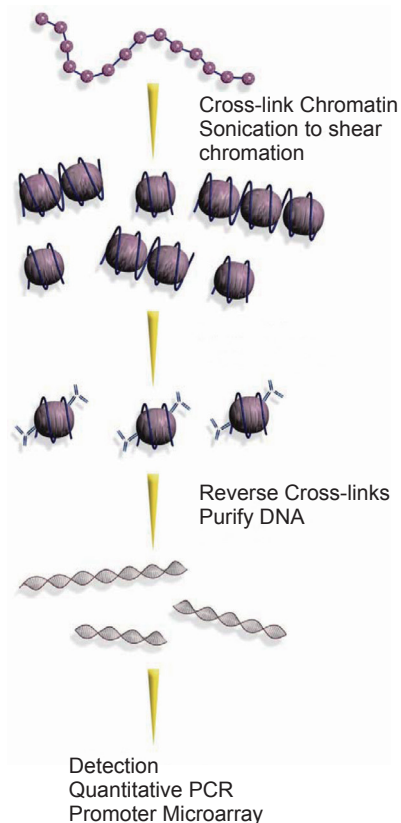
包括 acetylation、phosphorylation、methylation 以及 ubiquitination。研究發現 histone 不同位置的胺基酸被甲基化，可正向或負向調控基因表現。目前認為 histone modification 與 DNA 轉錄、修復、重組以及影響染色體結構息息相關。

## DNA methylation

研究發現 DNA 甲基化可以調控 DNA 轉錄，CpG islands 存在活化的基因中與 transcription start sites、promoter 相關。一般認為 CpG islands 甲基化與基因表現、人類癌症發展具有相關性。

## Chromatin Immunoprecipitation (ChIP)

利用 ChIP assay 可深入探討 DNA-protein interaction network，進而探討基因活化表現的情形。與傳統的 EMSA 技術相比，ChIP assay 技術能更真實完整地反映結合在 DNA 序列上的調控蛋白，更可精準探討基因調控中 DNA 與 protein 之間的相關性。



**1** 細胞固定

**2** 打破細胞與打斷染色質 (最適當的片段大小為 200-1000bp )

**EZ-Zyme™ Chromatin Prep Kit**

Cat No. 17-375

**3** 利用確效可用於 ChIP 的特定抗體進行免疫沉澱

**ChIPAb + Antidodies**

[http://www.millipore.com/antibodies/ab2/chip\\_ab](http://www.millipore.com/antibodies/ab2/chip_ab)

**Control Antibody**

**4** Elution 與 crosslink reversal

**5** 純化 DNA 與分析

# upstate

為表觀遺傳研究領導者（現在隸屬 Merck Millipore）。在上世紀 90 年代開發出了世界上第一個 ChIP 試劑組。以此為起點，Merck Millipore 陸續推出了眾多 ChIP 技術產品。



科男的選擇秘笈 幫你挑選最合適的 Kit！

方法 1.

PCR

磁珠系統

High Sensitivity

| control | Cat No.  | Product Name                   |
|---------|----------|--------------------------------|
| No      | 17-10460 | Magna ChIP™ HiSens ChIP Kit    |
| Yes     | 17-10461 | EZ-Magna ChIP™ HiSens ChIP Kit |

General

| control | Cat No.  | Product Name      |
|---------|----------|-------------------|
| No      | 17-610   | Magna ChIP A      |
|         | 17-611   | Magna ChIP G      |
|         | 17-10085 | Magna ChIP A/G    |
| Yes     | 17-408   | EZ Magna ChIP A   |
|         | 17-409   | EZ Magna ChIP G   |
|         | 17-10086 | EZ-Magna ChIP A/G |

Agarose 膠體

| control | Cat No. | Product Name             |
|---------|---------|--------------------------|
| No      | 17-295  | ChIP Assay Kit protein A |
| Yes     | 17-371  | EZ-ChIP™ Protein G       |

方法 2.

Microarray

Magna ChIP2 DNA Microarray Universal Kit

Cat. No. 17-1000

Cat. No. 17-1004

Magna ChIP2 Promoter Microarray Kit

Cat. No. 17-1001

Cat. No. 17-1002

方法 3.

NGS

Magna ChIP-Seq™

ChIP and NGS Library Preparation Kit

Cat No. 17-1010

PureGenome™

Low Input NGS Library Construction Kit

Cat. No. 17-10492



## 科男的小撇步

使用甲醛固定細胞可能會擋住蛋白上抗體辨識的 **epitope**，  
建議使用經 **ChIP** 實驗確效後的抗體，提高 **ChIP** 實驗成功率。

### ChIPAb+™ Kits to Study Histone Post-Translational Modifications 含 control AB & primers

| Description                                             | Cat. No. |
|---------------------------------------------------------|----------|
| <b>Histone H2A/B</b>                                    |          |
| ChIPAb+™ Histone H2A.Z                                  | 17-10048 |
| ChIPAb+™ Histone H2A.Bbd                                | 17-10246 |
| ChIPAb+™ Histone H2B                                    | 17-10054 |
| ChIPAb+™ Ubiquityl-Histone H2B                          | 17-650   |
| <b>Histone H3</b>                                       |          |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H3                              | 17-615   |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H3 (Lys14), rabbit monoclonal   | 17-10051 |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H3 (Lys27)                      | 17-683   |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H3 (Lys4)                       | 17-10050 |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H3 (Lys56)                      | 17-10259 |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H3 (Lys9) Purified              | 17-658   |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H3 (Lys9) Serum                 | 17-609   |
| ChIPAb+™ Acetyl Histone H3 (Lys23)                      | 17-10112 |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H3 (Lys18)                      | 17-10111 |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H3 (Lys9/18)                    | 17-10241 |
| ChIPAb+™ Monomethyl-Histone H3 (Lys27)                  | 17-643   |
| ChIPAb+™ Monomethyl-Histone H3 (Lys36)                  | 17-10498 |
| ChIPAb+™ Monomethyl-Histone H3 (Lys4)                   | 17-676   |
| ChIPAb+™ Monomethyl-Histone H3 (Lys9)                   | 17-680   |
| ChIPAb+™ Dimethyl-Histone H3 (Lys27), rabbit monoclonal | 17-10108 |
| ChIPAb+™ Dimethyl-Histone H3 (Lys36)                    | 17-10136 |
| ChIPAb+™ Dimethyl-Histone H3 (Lys4)                     | 17-677   |
| ChIPAb+™ Dimethyl-Histone H3 (Lys9)                     | 17-648   |
| ChIPAb+™ Dimethyl-Histone H3 (Lys9)                     | 17-681   |
| ChIPAb+™ Dimethyl-Histone H3 (Lys79), rabbit monoclonal | 17-10125 |
| ChIPAb+™ Trimethyl-Histone H3 (Lys27)                   | 17-622   |
| ChIPAb+™ Trimethyl-Histone H3 (Lys36)                   | 17-10493 |

| Description                                              | Cat. No. |
|----------------------------------------------------------|----------|
| <b>Histone H3 (continued)</b>                            |          |
| ChIPAb+™ Trimethyl-Histone H3 (Lys36), rabbit monoclonal | 17-10032 |
| ChIPAb+™ Trimethyl-Histone H3 (Lys4)                     | 17-678   |
| ChIPAb+™ Trimethyl-Histone H3 (Lys4), rabbit monoclonal  | 17-614   |
| ChIPAb+™ Trimethyl-Histone H3 (Lys9)                     | 17-625   |
| ChIPAb+™ Trimethyl-Histone H3 (Lys79)                    | 17-10130 |
| ChIPAb+™ Trimethyl-Histone H3 (Lys9)                     | 17-10242 |
| ChIPAb+™ Phospho-Histone H3 (Ser28) Antibody             | 17-10269 |
| ChIPAb+™ Phospho-Histone H3 (Thr11)                      | 17-10139 |
| ChIPAb+™ Phospho-Histone H3 (Thr3), rabbit monoclonal    | 17-10141 |
| ChIPAb+™ Histone H3 (CT), rabbit monoclonal              | 17-10046 |
| ChIPAb+™ Histone H3 (Unmodified Lys4)                    | 17-675   |
| ChIPAb+™ Histone H3 (CT)                                 | 17-10254 |
| ChIPAb+™ Histone H3.3                                    | 17-10245 |
| <b>Histone H4</b>                                        |          |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H4                               | 17-630   |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H4 (Lys12), rabbit monoclonal    | 17-10121 |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H4 (Lys16)                       | 17-10101 |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H4 (Lys5), rabbit monoclonal     | 17-10045 |
| ChIPAb+™ Acetyl-Histone H4 (Lys8)                        | 17-10099 |
| ChIPAb+™ Histone H4, rabbit monoclonal                   | 17-10047 |
| ChIPAb+™ Monomethyl-Histone H4 (Lys20)                   | 17-651   |
| ChIPAb+™ Trimethyl-Histone H4 (Lys20), rabbit monoclonal | 17-671   |
| ChIPAb+™ Dimethyl-Histone H4 (Arg3) Symmetric            | 17-10250 |

# Magna ChIP™ A/G

## EZ-Magna ChIP™ A/G Chromatin Immunoprecipitation Kit



快速！一天即可完成 ChIP 實驗！！

- 應用性廣：適用細胞和組織
- 方便：內含樣品製備與 DNA 回收相關試劑
- 省時：磁珠系統讓 ChIP 實驗在 1 天內完成
- 準確性高：EZ-Magna ChIP 附帶有 normal IgG 和 qPCR primer 對照，無須複雜的驗證，幫助您一次實驗就上手



| 步驟                                | 快速操作步驟(1天) | 標準操作步驟(2-3天) |
|-----------------------------------|------------|--------------|
| 固定細胞以及收集細胞                        | 30 分鐘      | 30 分鐘        |
| 打破細胞以及打斷染色質                       | 50 分鐘      | 50 分鐘        |
| 免疫沉澱                              | 2 小時       | Overnight    |
| Wash、Elution以及 Crosslink reversal | 3 小時       | 3 小時         |
| 純化DNA以及PCR分析                      | 3 小時       | 3 小時         |

| Cat.No.  | Description                 | Qty/PK    |
|----------|-----------------------------|-----------|
| 17-10085 | Magna ChIP™ A/G ChIP Kit    | 22 assays |
| 17-10086 | EZ-Magna ChIP™ A/G ChIP Kit | 22 assays |

# Magna ChIP™ AND EZ-Magna ChIP™

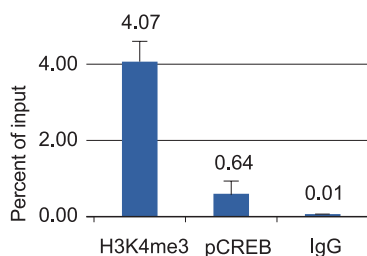
## HiSens Chromatin Immunoprecipitation Kit



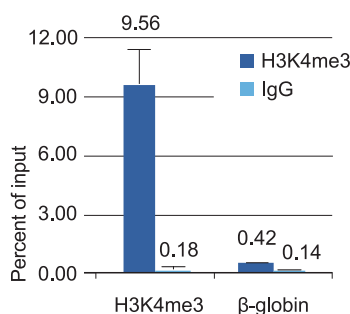
高靈敏度！只需一萬顆細胞！！

- 針對蛋白表現量低、細胞數少 ( $10^4$ - $10^6$ ) 樣品使用
- 應用性廣：適用細胞和組織
- 方便：單一緩衝液系統，可同時用於 sonication、IP 與 wash，增加實驗流暢度
- 省時：特殊 elution buffer，不須再進行 clean up 即可進行後續分析
- 準確性高：EZ-Magna ChIP 附帶 positive、negative 和 qPCR primer 對照，方便進行實驗 QC
- 應用性廣：相容於下游實驗 qPCR、NGS microarray 等

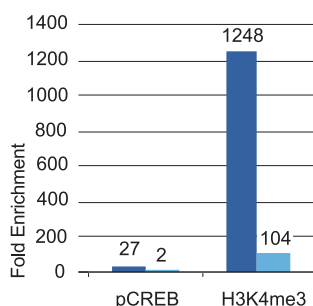
使用 0.2mm<sup>3</sup> 小鼠肝臟



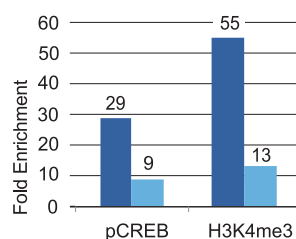
使用 10000 顆 HeLa 細胞



與它牌相較 : Higher fold enrichment using low amounts of chromatin



■ Magna ChIP™ HiSens ■ Supplier A



■ Magna ChIP™ HiSens ■ Supplier D

10,000 cell equivalents of sonicated chromatin prepared from HeLa cells were chromatin immunoprecipitated using 1 µg of purified IgG or specific antibodies. Each assay used either the reagents and protocol provided with the Magna ChIP™ HiSens Kit or those from the low input ChIP kit from Supplier A or Supplier D. Immunoprecipitation of antibody-associated DNA fragments was verified by qPCR using positive control primers (GAPDH promoter primers for H3K4me3 and c-Fos promoter primers for pCREB) and negative control primers (human β-globin promoter primers). Results reflect analysis of 2 µL out of 50 µL total DNA per qPCR reaction.

| Cat.No.  | Description                    | Qty/PK    |
|----------|--------------------------------|-----------|
| 17-10460 | Magna ChIP™ HiSens ChIP Kit    | 22 assays |
| 17-10461 | EZ-Magna ChIP™ HiSens ChIP Kit | 22 assays |

同場加映

## Inhibitor 抑制劑

全方位保護您的蛋白

品質好 | 純度高 |

- 純度高。
- 成分透明化：針對特殊實驗或應用，方便調整單一種 inhibitor 的濃度。
- 經濟實惠：使用多少取用多少，避免浪費。
- 選擇多：有 Animal Free 的 Protease Inhibitor Cocktail 提供不同的實驗需求。
- Inhibitor Cocktail 已溶在 DMSO 中，可保護抑制劑的效果。此外，產品提供高濃度的抑制劑，添加不會稀釋樣品的濃度。

#539134  
Protease Inhibitor Cocktail Set III, EDTA-Free

買 2 送 1



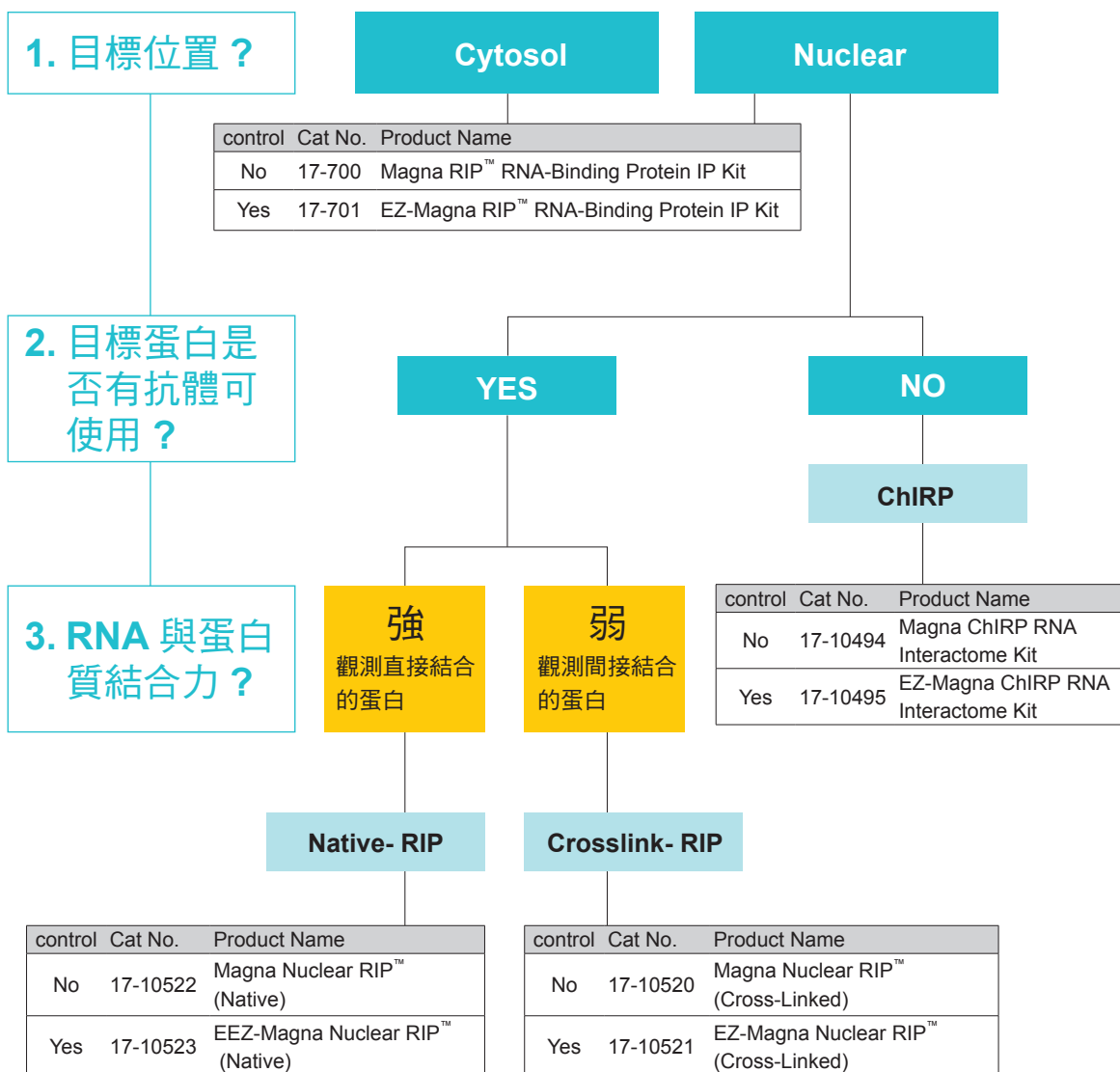
# RNA 的祕辛

## Non-coding RNA

此為一個新興的研究領域，non-coding RNA 包括了 microRNA、small RNA、large RNA 以及 pi-RNA。目前研究發現 non-coding RNA 亦影響 Gene silencing、X 染色體失活 (X-chromosome inactivation)、增加 mRNA 穩定及影響基因的轉錄與轉譯。Non-coding RNA 的發現，獲得了 2006 年諾貝爾生理醫學獎。



科男の選擇秘笈 幫你挑選最合適的 Kit !



# 細胞核內 RNA-Binding Protein IP



## Magna RIP™ Nuclear RNA-Binding Protein IP Kit

可用來研究細胞核內 **non-coding RNA** 與 **RBP** 的結合與基因調控

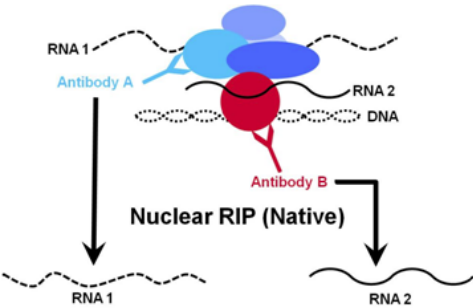
應用性廣：適用細胞和組織

靈敏度高：最少只需 5000 顆細胞

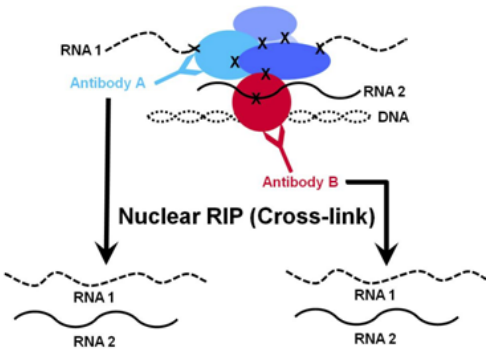
準確性高：EZ-Magna ChIP 附帶有 positive 與 negative 對照和 qPCR primer 對照，方便進行實驗 QC

應用性廣：相容於下游實驗 RT-PCR、microarray (RIP-chip) 與 NGS (RIP-Seq) 等

依研究需求選擇：native RIP kit 或 Crosslink RIP kit



**Native**：不經過固定，可觀測高度專一性或直接結合的蛋白與 RNA；背景值較低



**Crosslink**：適用於觀測結合能力較弱的蛋白與 RNA 及間接的蛋白與 RNA 的結合

| Cat.No.  | Description                          | Qty/PK    |
|----------|--------------------------------------|-----------|
| 17-10520 | Magna Nuclear RIP™ (Cross-Linked)    | 24 assays |
| 17-10521 | EZ-Magna Nuclear RIP™ (Cross-Linked) | 24 assays |
| 17-10522 | Magna Nuclear RIP™ (Native)          | 24 assays |
| 17-10523 | EZ-Magna Nuclear RIP™ (Native)       | 24 assays |

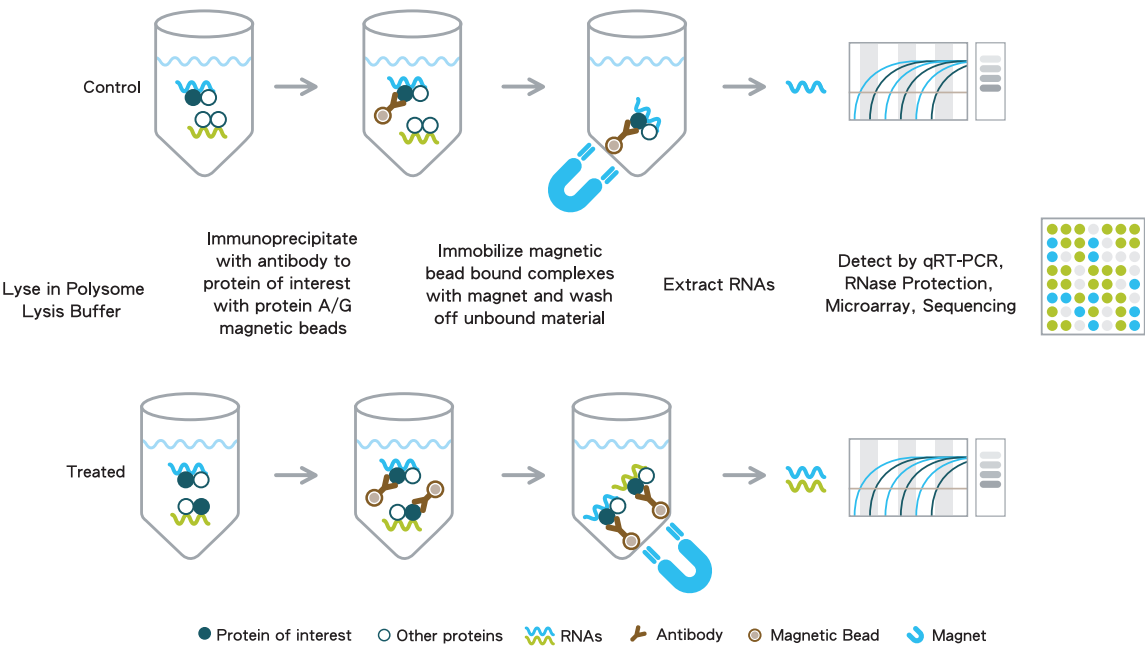
# 細胞核内 + 核外 RNA-Binding Protein IP

## Magna RIP™ EZ-Magna RIP™ Native RNA-Binding Protein IP Kit

可用來研究細胞核內外的 **RNA**，如：**mRNA** 的穩定

- 應用性廣：適用細胞和組織
- 操作簡易：五步驟即可完成分析
- 準確性高：EZ-Magna ChIP 附帶有 positive 對照和 qPCR primer 對照，方便進行實驗 QC
- 應用性廣：相容於下游實驗 RT-PCR、microarray (RIP-chip) 與 NGS (RIP-Seq) 等

### RIP Workflow



| Cat.No. | Description                              | Qty/PK    |
|---------|------------------------------------------|-----------|
| 17-700  | Magna RIP™ RNA-Binding Protein IP Kit    | 12 assays |
| 17-701  | EZ-Magna RIP™ RNA-Binding Protein IP Kit | 12 assays |



# Magna ChIRP RNA Interactome Kit

**ChIRP (chromatin isolation by RNA purification)** 可同時得到目標 Inc RNA、Genomic DNA 與 RNA-binding protein。

## 原理

設計與目標 RNA 互補具有 biotin 標記的兩組 capture oligos (奇數與偶數組)，再以 Streptavidin 磁珠進行 pull down，即可從一個樣品中同時得到目標 Inc RNA、Genomic DNA 與 RBP。

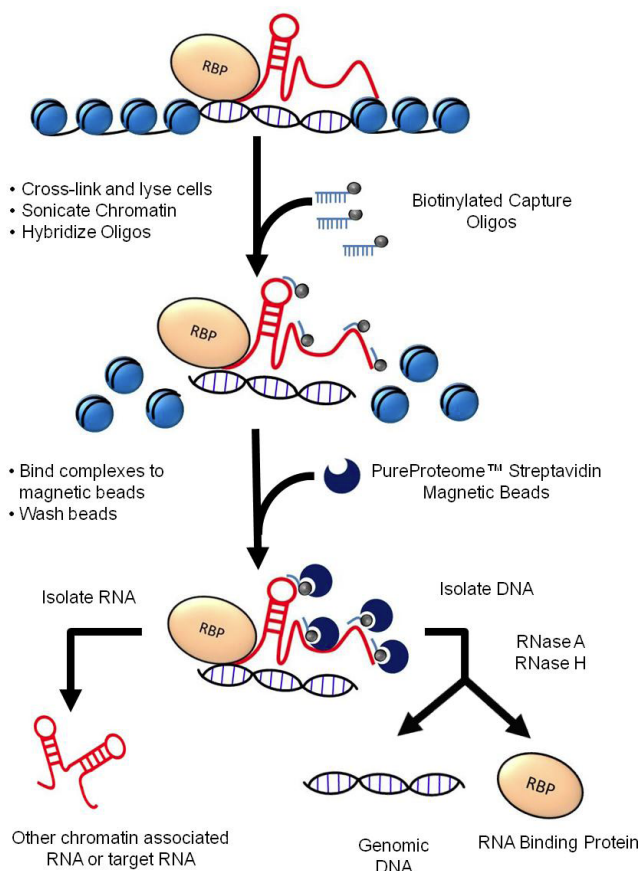
搶先研究：不須等待確效抗體上市，即可搶先進行研究。

實驗準確性高：設計兩組 capture oligos (奇數與偶數組)，可減少非專一性結合

高度專一性：利用 biotinylated oligos，不需使用抗體

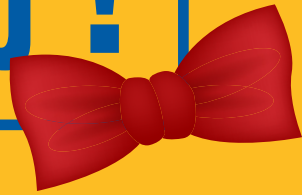
操作簡單快速：Streptavidin 磁珠系統進行 pull down

快速上手：完整的 control set，新手操作不是問題



| Cat.No.  | Description                        | Qty/PK    |
|----------|------------------------------------|-----------|
| 17-10494 | Magna ChIRP RNA Interactome Kit    | 12 assays |
| 17-10495 | EZ-Magna ChIRP RNA Interactome Kit | 12 assays |

# 科男の ChIP 成功秘笈 大公開!



秘笈 1.

如何製備高品質 **fragment DNA** 樣品？

秘笈 2.

想要穩定蛋白質與 **DNA** 的 **Crosslink**，原來不是時間越長越好？！

 科男の **ChIP** 成功秘笈  
都在 **Merck** 技術指南！

立即取得 請掃描 **QR code**



搜尋關鍵字 **chromatin IP 成功**

[www.merck-antibody.com.tw](http://www.merck-antibody.com.tw)



