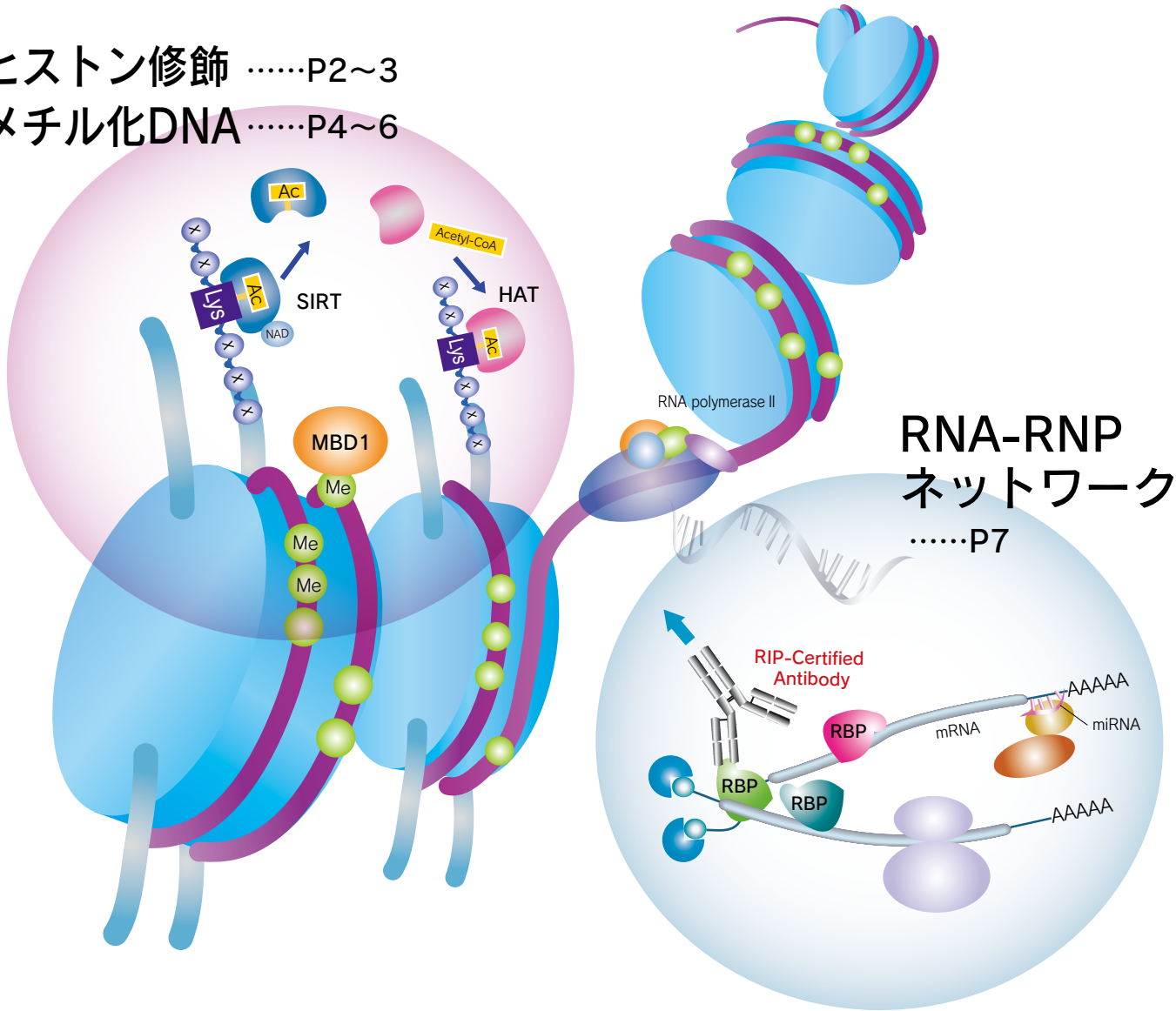
MBL RUO TOPICS

MBL
研究用試薬

vol. 4
Feb. 2012

ヒストン修飾 ……P2～3
メチル化DNA ……P4～6



RNA-RNP ネットワーク ……P7

特集 エピジェネティクス解析ツール

～メチル化DNA濃縮Kit、エピジェネティクス解析受託サービス、RiboCluster Profiler™、アセチル化・脱アセチル化酵素関連試薬～

<Information> ◎ チップシェアリング ◎ アウトレットセール ◎ キャンペーン情報

* RUO は Research Use Only の略語となります。

MBL 株式会社 医学生物学研究所
https://ruo.mbl.co.jp/

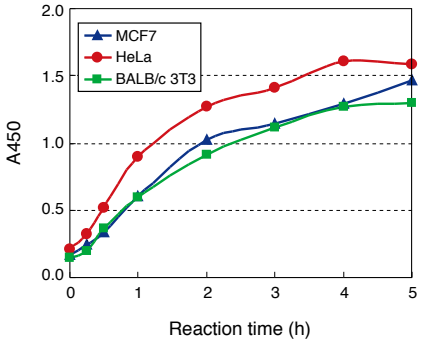
アセチル化・脱アセチル化酵素関連試薬

Histone Acetylation Assay Kit

アセチル化ヒストンを認識する抗体を用いて、細胞内のヒストンのアセチル化レベルを Cell ELISA 法により測定するキットです。ヒストンのアセチル化は、ヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤により亢進されますが、このキットを用いることにより HDAC 阻害剤の培養細胞に対する作用を直接検討できます。

株式会社サイクレックスは、アセチル化部位特異的抗体を用いたアセチル化関連酵素活性およびアセチル化レベルの測定原理について、米国で特許を取得しています。
米国特許番号 6,884,597

HDAC阻害剤TSA処理による
ヒストンアセチル化レベルの変化



■ 製品情報

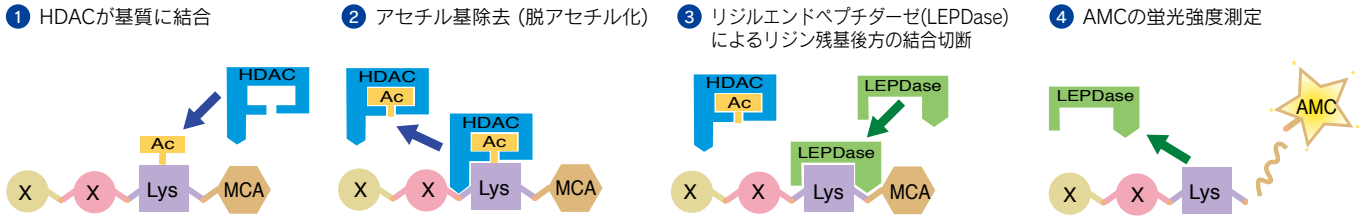
コードNo.	製品名	包装	希望納入価格
CY-1140	Cellular Histone Acetylation Assay Kit	96 assays×2	￥70,000
CY-M1029	Anti-Acetylated Histone/p53-Lys382	100 μg	￥50,000

HDAC Deacetylase Fluorometric Assay Kit

クラスⅠヒストン脱アセチル化酵素群 HDACs（HDAC1、2、3、および 8）は、酵母 RPD3 と相同性を持ち、普遍的に発現しています。これらの HDACs は、癌抑制遺伝子産物 Rb などと結合し転写抑制を担っています。細胞内では、ヒストンは低アセチル化状態にあり、HDACs の作用は広範かつ強力であると考えられます。HDAC 阻害物質は抗癌剤として期待されており、その探索や臨床開発が活発に行われています。HDAC8 は、HDAC1 や HDAC3 とは 43 %しか相同性がなく、既存の HDAC 阻害剤の HDAC8 に対する選択性は HDAC1 や HDAC3 とは異なっていることが報告されています。HDAC8 もヒト腫瘍細胞株の増殖に重要であり、このサブタイプに選択的な阻害剤は新しい抗癌剤として有望であると考えられています。

株式会社サイクレックスは、世界に先駆けペプチダーゼのペプチド分解活性がリジン残基のアセチル化によって変化することを利用してアセチル化 / 脱アセチル化酵素活性を測定できることを見出し、日本、ヨーロッパ、カナダおよび米国で特許を取得しています。
日本国特許 4,267,043　米国特許番号 7,033,778　7,256,013　ヨーロッパ特許番号 1,243,658　カナダ特許番号 2,392,711

測定原理



MCA : 4-methyl-coumaryl-7-amide
AMC : 7-amino-4-methylcoumarin

■ 製品情報

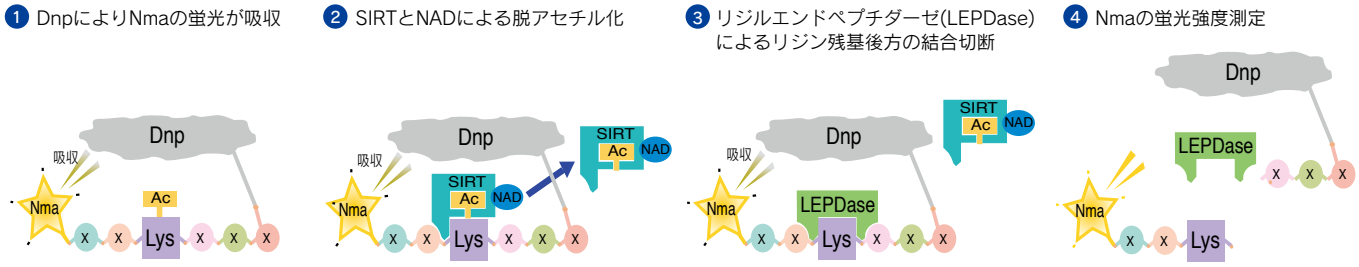
コードNo.	製品名	包装	希望納入価格
CY-1150	HDACs Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥58,000
CY-1158	HDAC8 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥70,000
CY-P1011	Anti-HDAC1	100 μg	￥40,000
CY-P1012	Anti-HDAC2	100 μg	￥40,000

～ SIRT1 は長寿関連遺伝子としても注目されています～

SIRT Deacetylase Fluorometric Assay Kit

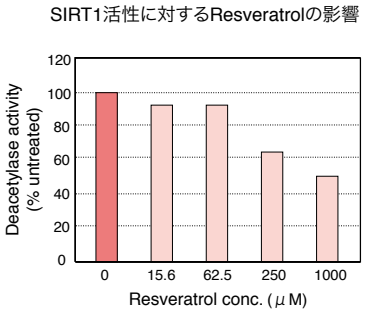
ヒストン脱アセチル化酵素は、クラスⅠ、Ⅱ、Ⅲの３つのファミリーに分類されています。クラスⅢに属する Sir2/SIRT ファミリーは、クラスⅠやⅡとは異なり、トリコスタチン A に非感受性であり、酵素の活性化には NAD^+（Nicotinamide adenine dinucleotide）を必要とします。SIRT ファミリーの活性を制御する薬剤は、種々の疾患治療薬として期待されています。SIRT1 は核に局在し、p53、NF- κ B、forkhead 転写調節因子およびヒストンを脱アセチル化します。また、酸化還元状態に対応して筋肉分化の抑制に関与することが報告されています。SIRT3 は、その N 末端の 25 アミノ酸残基を介してミトコンドリアに局在します。不活性型のタンパク質として合成された後、ミトコンドリアマトリクスでペプチダーゼ処理され、28 kDa の活性化型酵素に変換されることが報告されています。

測定原理



SIRT1とResveratrol

CycLex SIRT1 Deacetylase Fluorometric Assay Kit では、他社製品を用いて報告されてきた Resveratrol によるアーティファクトである脱アセチル化酵素活性の上昇作用は検出されません。これは、CycLex 社独自のアセチル化基質ペプチドのデザインとその採用によるものであり、本製品を用いることにより SIRT1 本来の脱アセチル化酵素活性を正確に測定できることを示唆しています。本製品は、SIRT1 の活性化物質や阻害物質のスクリーニングに適していると考えられます。（ただし、全ての化合物や薬剤によるアーティファクトが生じないことを保証するものではありません。）



参考文献

(1) Kaeberlein, M. *et al. J. Biol. Chem.*, **280**:17038–17045, 2005

(2) Borra, M. T. *et al. J. Biol. Chem.*, **280**: 17187–17195, 2005

(3) Pacholec, M. *et al. J. Biol. Chem.*, **285**: 8340–8351, 2010

(4) Ledford H. News "Ageing: Much ado about ageing." *Nature* **464**: 480–481, 2010

■ 製品情報

コードNo.	製品名	包装	希望納入価格
CY-1151	SIRT1/Sir2 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥64,000
CY-1152	SIRT2 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥64,000
CY-1153	SIRT3 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥64,000
CY-1156	SIRT6 Deacetylase Fluorometric Assay Kit	100 assays	￥64,000
CY-E1151	NAD^+-Dependent Deacetylase SIRT1	100 μg	￥50,000
CY-E1152	NAD^+-Dependent Deacetylase SIRT2	100 μg	￥50,000
CY-E1153	NAD^+-Dependent Deacetylase SIRT3	100 μg	￥50,000
CY-E1156	NAD^+-Dependent Deacetylase SIRT6	100 μg	￥50,000
CY-P1016	Anti-SIRT1	100 μg	￥50,000

メチル化 DNA 濃縮 Kit

Methyl Hunter

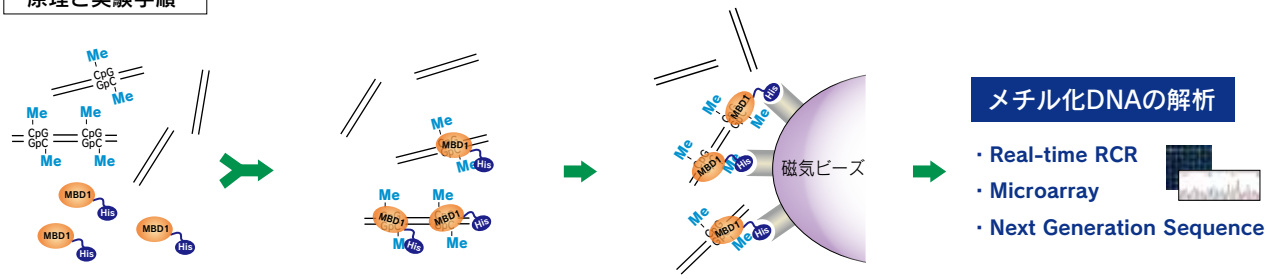
Methyl Hunter MBD1-based Methylated DNA Enrichment Kit

◎ MBD1 タンパク質を利用した、新しいタイプのメチル化 DNA 濃縮 Kit です。

◎ 高収率！抗体や他の MBD タンパク質を使用した方法よりも高い濃縮度を実現しました。

◎ locus に偏りなく効率良く二本鎖メチル化 DNA が濃縮ができます。

原理と実験手順



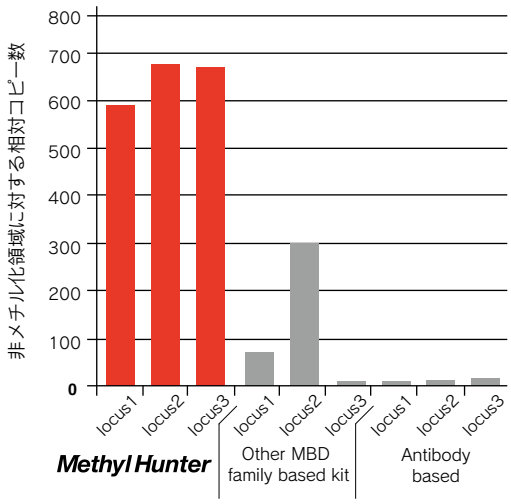
フラグメント化した genomic DNA と精製 MBD1(His-tag) を混合します。

MBD1 が CpG DNA メチル化部位に特異的に結合します。メチル化部位が多いほどたくさんの MBD1 が結合し、濃縮効率が高まります。

His-tag に特異的に結合する磁気ビーズを使用し、MBD1 に結合したメチル化 DNA のみを抽出します。

回収したメチル化 DNA は様々な解析にお使いいただけます。

使用例



メチル化DNAの濃縮度（マウスゲノム）

回収溶液内に含まれる非メチル化ゲノム領域の相対コピー数（3 ローカスの平均）を 1 とした時のメチル化ローカス（locus 1～3）のコピー数を示しています。MBD1 を使った実験では、Locus 1～3 いずれも 500～700 倍もの高い濃縮率が確認されました。

locus 1: 12 CpG/436 bp, >90% methylated
locus 2: 20 CpG/367 bp, >90% methylated,
multicopy locus (~3,000 copies)
locus 3: 12 CpG/308 bp, >90% methylated

データご提供：九州大学 生体防御医学研究所 一柳 健司 先生

■ 製品情報

コードNo.	製品名	包装	希望納入価格
5270-100/5270-200*	***Methyl Hunter*** MBD1-based Methylated DNA Enrichment Kit	25 tests	¥48,000

＊ 5270-100と5270-200は、セットでの販売となります。
また5270-100と5270-200は保存温度が異なりますのでご注意ください。5270-100：-20℃または-80℃　5270-200：4-8℃

Kit 構成品

Code: 5270-100

MBD1 protein	200 μL
Control Genomic DNA（マウスゲノム DNA）	20 μL
Positive Control Primers（メチル化 DNA 用）	20 μL
Negative Control Primers（非メチル化 DNA 用）	20 μL

Code: 5270-200

10x MBD buffer	800 μL
50% Glycerol	800 μL
10x Wash Buffer	15 mL
Elute Buffer	6 mL

キットに含まれない必要試薬

Dynabeads® His-Tag Isolation and Pulldown	Phenol/Chloroform
Magnetic Rack (MBL)	96-100% Ethanol
Yeast tRNA	70% Ethanol
5M NaCl	DNase-free water
	Reagents for PCR assay

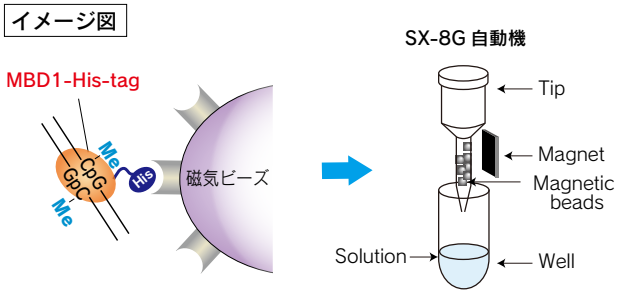
エピジェネティクス解析受託サービス

eACTGen

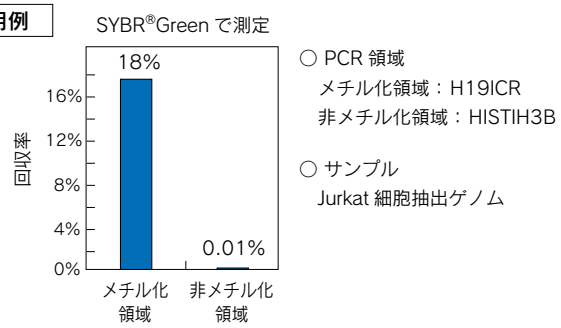
MBD1 ～ 2 本鎖メチル化 DNA プルダウンアッセイ受託サービス～

MBD1 プルダウンアッセイは、2 本鎖 CpG メチル化 DNA を分離・精製するためのサービスです。CpG メチル化 DNA に対し特異的かつ結合能力の高い精製 MBD1 タンパク質 (MBL code No.5270-100, 5270-200) を使用し、効率的にメチル化 DNA を集積する事ができます。自動機 (SX-8G) や専用試薬を導入し、高効率でばらつきの少ない解析用サンプルの提供が可能となりました。

イメージ図



使用例



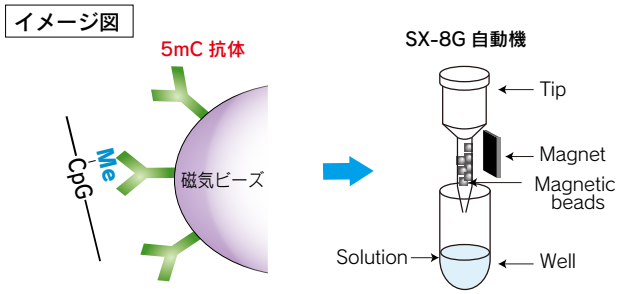
注意事項

- MBD-pull down 用の試薬費用は含まれております。
- 細胞からご依頼の場合、染色体 DNA を精製致します。
- 沈降作業のみをご依頼の場合、TE 溶液に断片化 DNA を溶解させてお送りください。
- Jurkat 細胞をコントロールとして使用して同時に作業をおこない、メチル化領域 (H19ICR)、非メチル化領域 (HISTIH3B) で差が見られることを成功基準としています。
- Pull down 後の DNA の回収量については保証していません。

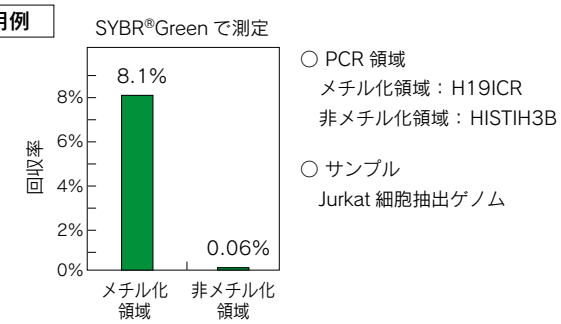
MeDIP ～ 1 本鎖メチル化 DNA 免疫沈降受託サービス～

MeDIP (Methylated DNA Immunoprecipitation) は、5- メチルシトシン (5mC) 抗体を用いて、1 本鎖メチル化 DNA を分離・精製するサービスです。特異性と結合能力が高い Diagenode 社のモノクローナル抗体を使用し、高い濃縮率を実現しています。自動機（SX-8G）や専用試薬を導入し、高効率でばらつきの少ない解析用サンプルの提供が可能となりました。

イメージ図



使用例



注意事項

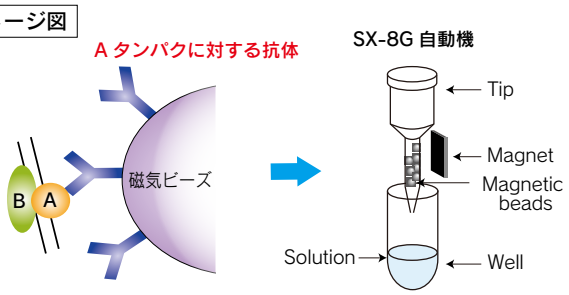
- MeDIP 用の試薬費用は含まれております。
- 細胞からご依頼の場合、染色体 DNA を精製致します。
- 沈降作業のみをご依頼の場合、ＴＥ溶液に断片化 DNA を溶解させてお送りください。
- Jurkat 細胞をコントロールとして使用して同時に作業をおこない、メチル化領域 (H19ICR)、非メチル化領域 (HISTIH3B) で差が見られることを成功基準としています。
- 免疫沈降後の DNA の回収量については保証していません。

価格につきましては、6 ページをご参照ください。▸▸▸

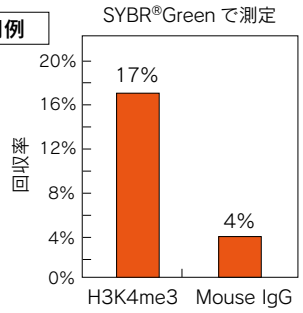
ChIP ～クロマチン免疫沈降受託サービス～

ChIP (クロマチン免疫沈降) サービスは、目的タンパク質が結合している DNA 断片を分離･精製するためのサービスです。お手持ちの抗体を使用する事もできます。自動機 (SX-8G) によるクロマチン免疫沈降と DNA 精製を採用し、ばらつきの少ない解析用サンプルの提供が可能となりました。

イメージ図



使用例



○ 使用抗体
MBL 社 anti-trimethyl Histone H3 (Lys4)(H3K4me3) (code No.MABI0304)
Normal mouse IgG

○ PCR 領域
セルシグナリング社 Positive primer (code No.#7014)

○ サンプル
Jurkat 細胞抽出ゲノム

注意事項

・ChIP 用の試薬費用は含まれておりますが、使用する抗体は含まれておりません。ご提供ください。
　本サービスで使用可能な ChIP 用おすすめ抗体を紹介しております。詳しくは、下記『ChIP 用おすすめ抗体』をご覧ください。
・沈降作業のみをご依頼の場合、専用 buffer をお送りいたしますのでご連絡下さい。
・Ba/F3 細胞をコントロールとして使用して同時に作業をおこない、H3K27me3 抗体とアイソタイプコントロール抗体を用いて、p16 プロモーター領域で差が見られることを成功基準としています。
・免疫沈降後の DNA の回収量については保証していません。

■ 受託サービス価格

MBD1、MeDIP、ChIP すべて同一価格となります。

サンプル数	固定化または染色体DNA精製	染色体断片化	自動機SX-8Gによる沈降作業	合計金額（税抜）
1	￥30,000	￥70,000	￥285,000	￥385,000
2	￥40,000	￥92,000	￥351,000	￥483,000
3	￥50,000	￥114,000	￥417,000	￥581,000
4	￥60,000	￥136,000	￥483,000	￥679,000

■ ChIP用おすすめ抗体

信頼と実績の ChIP 用の抗ヒストンモノクローナル抗体

モノクローナル抗体研究所の抗体を MBL から発売。本受託にも使用可能です。

コードNo.(100μL)	コードNo.(20μL)	製品名
MABI0301	MABI0301S	抗ヒストン H3
MABI0302	MABI0302S	抗モノメチルヒストン H3 (Lys4)
MABI0303	MABI0303S	抗ジメチルヒストン H3 (Lys4)
MABI0304	MABI0304S	抗トリメチルヒストン H3 (Lys4)
MABI0305	MABI0305S	抗アセチルヒストン H3 (Lys9)
MABI0306	MABI0306S	抗モノメチルヒストン H3 (Lys9)
MABI0307	MABI0307S	抗ジメチルヒストン H3 (Lys9)
MABI0308	MABI0308S	抗トリメチルヒストン H3 (Lys9)
MABI0310	MABI0310S	抗アセチルヒストン H3 (Lys9/27)

コードNo.(100μL)	コードNo.(20μL)	製品名
MABI0309	MABI0309S	抗アセチルヒストン H3 (Lys27)
MABI0321	MABI0321S	抗モノメチルヒストン H3 (Lys27)
MABI0323	MABI0323S	抗トリメチルヒストン H3 (Lys27)
MABI0331	MABI0331S	抗モノメチルヒストン H3 (Lys36)
MABI0332	MABI0332S	抗ジメチルヒストン H3 (Lys36)
MABI0333	MABI0333S	抗トリメチルヒストン H3 (Lys36)
MABI0312	MABI0312S	抗リン酸化ヒストン H3 (Ser10)
MABI0251	MABI0251S	抗リン酸化ヒストン H2B (Ser14)

包装：100 μL (1mg/mL)、20 μL (1mg/mL)　　価格：58,000 円（100 μL)、18,000 円（20 μL)
用途：Immunoprecipitation, Immunostaining, Immunoblot

RNA-RNP ネットワーク

RiboCluster Profiler™ ～遺伝子発現の転写後調節の新規解析ツール～

RNA 結合タンパク質（RBP）は、mRNA のスプライシング、核外輸送、細胞質内局在、安定性及び翻訳効率の調節などの転写後遺伝子発現制御において重要な働きをしています。また、特定の疾患や機能に関連した mRNA や miRNA などは、RBP を介してクラスター（RiboCluster）を形成していると考えられています。RiboCluster Profiler™ は、特定の疾患や生物学的に関連した遺伝子群を網羅的に解析するツールです。どの分野で研究している方でもスムーズに RNA 研究分野に入っていただけるように設計されています。

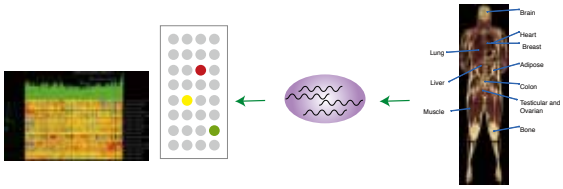
RiboCluster Profiler™

RIP-Chip 技術は Ribonomics, Inc. の特許技術 (USP# 6,635,422、USP# 7,504,210) です。MBL は Ribonomics, Inc. からワールドワイドな通常実施権を得てキットを開発しています。

Reference: Dale L. Beach and Jack D. Keene, Methods Mol. Biol., 419: 69–91 (2008)

RiboChip

興味ある疾患や組織に
特異的な RBP を見つけたい場合

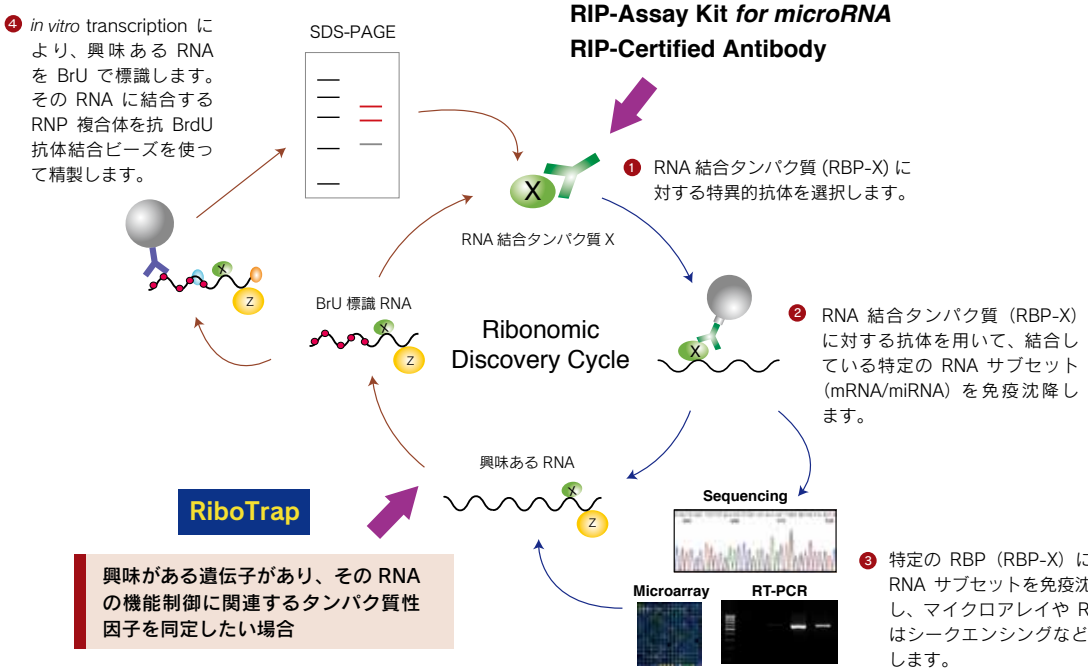


RiboChip を使って興味ある組織、細胞や疾患で発現している RBP を調べ、組織、細胞あるいは疾患特異的な RBP を見つけた後、Cycle に入ります。

RIP-Chip

興味ある RBP があり、その RBP によって時空間的な制御を受けている RNA サブセット (mRNA/miRNA) を同定したい場合

RIP-Assay Kit
RIP-Assay Kit *for microRNA*
RIP-Certified Antibody



RiboTrap

興味がある遺伝子があり、その RNA の機能制御に関連するタンパク質性因子を同定したい場合

RiboTrap Kit

■ 製品情報

コードNo.	製品名	包装	希望納入価格
RN1001	RIP-Assay Kit	10 assays	￥40,000
RN1005	RIP-Assay Kit *for microRNA*	10 assays	￥60,000
RN1011/RN1012*	RiboTrap Kit	10 assays	￥78,000

＊RN1011とRN1012はセット販売となっております。またRN1011とRN1012は保存温度が異なりますのでご注意ください。RN1011： -20℃　RN1012： 2–8℃

RIP-Certified Antibody、RBP antibodyも各種取り揃えております。
詳細はこちらから ☞ https://ruo.mbl.co.jp/product/epigenetics/rip-assay.html

詳しくは
MBL　RIP　検索

Information

チップシェアリング ～マイクロアレイ相乗りサービス～

お客様からのご要望にお応えし、1枚のチップを複数のお客様でシェアするチップシェアリングを始めました。
詳しくは、右記webページをご覧ください。→ https://ruo.mbl.co.jp/news/sharing.html

＜対象受託項目＞
◎アジレントテクノロジー社（遺伝子発現解析、miRNA発現解析） 測定先：株式会社 Oncomics
◎イルミナ社（DNAメチル化解析） 測定先：G&Gサイエンス株式会社

＜表示例＞

受託項目	NO.	解析枠	空枠
Human Methylation450	1	12 サンプル	0 サンプル
	2	12 サンプル	8 サンプル
	3	12 サンプル	12 サンプル

各チップ（NO.1～NO.3）ごとに、現在どのぐらいの空枠があるのか表示しています。

Web にて、随時情報を更新していますので、最新の情報は Web にてお確かめください。

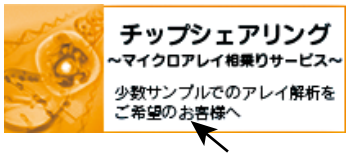
アウトレットセール好評開催中！

製品有効期限が短くなった製品などお得なプライスでご提供いたします。
対象製品は、右記webページをご覧ください。→ https://ruo.mbl.co.jp/news/outlet.html

*在庫無くなり次第終了となりますので、注文頂いた際に製品を用意出来ない場合もあります。
その場合は何卒ご了承ください。

MBL 研究用試薬 TOP から

MBL研究用試薬TOPから下のバナーをクリック！



キャンペーンのお知らせ

● **MaxBlot 年度末キャンペーン** 2012年3月31日 お申し込み分まで
WBやELISAのシグナル不足にお悩みの方へ朗報！！
お手持ちの抗体を本製品で希釈するだけで、高いシグナル増強効果が得られます。

● **T-Select MHC Tetramer関連製品 安価キャンペーン** 2012年3月31日 お申し込み分まで
T-Select MHC Tetramer関連製品が20～30%OFF!!

● **CycLex Thanksフェア 第二弾** 2012年4月30日 お申し込み分まで
S100 protein関連全製品20%OFF!

Copyright © 2012 Medical & Biological Laboratories, All Rights Reserved.

2012.02
143484-12021120N

販売元
MBL 株式会社 医学生物学研究所
https://ruo.mbl.co.jp/

◎営業推進部 基礎試薬グループ
〒460-0008 名古屋市中区栄4丁目5番3号 KDX名古屋栄ビル10階
TEL：(052) 238-1904 FAX：(052) 238-1441
E-mail：support@mbl.co.jp