

## 产品介绍

组蛋白 (histone) 是真核生物体细胞染色质的主要蛋白质组分, 作为DNA缠绕的线轴组蛋白, 在染色体基因调控和翻译后修饰中发挥着重要作用。组蛋白的核心部件由4种核心组蛋白H2A、H2B、H3和H4的各两个单体组成一个核心8聚体, 可以通过甲基化, 乙酰化, 磷酸化和SUMO化修饰。这些修饰对于基因表达, 调控, DNA修复和染色体凝集至关重要。Proteintech研发的这款组蛋白提取试剂盒用于从哺乳动物细胞或组织中提取总组蛋白 (H1、H2A、H2B、H3和H4), 且可保持组蛋白提取物中的翻译后修饰完整性, 因此提取物可用于各种翻译后修饰检测及应用, 包括组蛋白甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化等作用研究。可应用于SDS-PAGE, 免疫印迹等实验。

关于试剂盒

- 本试剂盒中组蛋白抽提试剂A (10×) 和组蛋白洗涤液 (4×) 在使用前根据实验需求量使用去离子水稀释至1×。
- 本试剂盒提取的组蛋白为变性蛋白, 仅推荐SDS-PAGE, 免疫印迹等实验。
- 本试剂盒中有0.4%台盼蓝溶液可用于匀浆效果进行鉴定, 细胞破碎达到90%以上即可停止匀浆。
- 本试剂盒适用于新鲜的组织和冷冻保存的组织样本, 用于翻译后修饰检测及应用的需要使用新鲜的样本。
- 试剂在使用前需要提前加入蛋白酶抑制剂混合液, 用于翻译后修饰检测及应用需单独购买对应的酶抑制剂加入, 如用于磷酸化样本的制备需加入磷酸酶抑制剂混合物 (货号: [PR20015](#))。
- 如果每个样品的数量为1000万个细胞或100 mg组织, 本试剂盒可以处理50个样品。
- 试剂盒各组分需在室温完全解冻后再使用, 试剂盒过期后建议不要使用

## 产品成分

组分	规格	保存条件
组蛋白抽提试剂A (10×)	10 mL	-20℃保存一年
组蛋白抽提试剂B	5 mL	-20℃保存一年
组蛋白洗涤液 (4×)	25 mL	-20℃保存一年
组蛋白中和液	1 mL	-20℃保存一年
SDS-PAGE蛋白上样缓冲液 (4×)	2 mL	-20℃保存一年
普通型蛋白酶抑制剂混合物 (100×)	0.5 mL	-20℃保存一年
0.4%台盼蓝溶液	1 mL	-20℃保存一年

50T

-20℃保存, 一年有效。一个月内使用可4℃保存。

## 包装规格

## 保存条件

## 使用方法

**1. 提取前准备:** 将试剂盒中溶液室温解冻, 解冻后放置于冰上。提前4℃预冷离心机。组蛋白抽提试剂A (10×) 和组蛋白洗涤液 (4×) 根据实验需求量使用去离子水稀释至1×。组蛋白抽提试剂A、组蛋白洗涤液根据提取的样本量分别取出对应体积的试剂, 在使用前按100: 1添加蛋白酶抑制剂混合液备用。组蛋白抽提试剂B和组蛋白中和液不需要提前添加蛋白酶抑制剂混合液。

### 2. 样品预处理

**a. 对于细胞:** 收集细胞4℃, 500 g离心5 min, 用预冷的PBS洗涤两遍。然后在冰上, 按每1000万细胞直接加入2 mL预冷的组蛋白抽提试剂A。

**b. 对于组织:** 用冰的PBS洗净组织块上附着的脂肪和血液等杂质, 用滤纸吸干水分后称重, 在离心管中将组织块剪碎, 然后在冰上, 按每100 mg组织加2 mL预冷的组蛋白抽提试剂A。

**3. 样品匀浆:** 将样品悬液转移到合适大小的预冷玻璃匀浆器中, 在冰浴条件下对样品匀浆。

**注意:** 不同的样品所需匀浆次数不同, 培养细胞建议匀浆10-20次, 组织样本建议20-30次。鉴定方法: 取20 μL匀浆20次后的细胞样品或匀浆30次后的组织样品, 加入等体积的0.4%台盼蓝溶液, 混匀, 在显微镜下观察台盼蓝溶液染色阳性 (蓝色) 细胞数目的比例, 当阳性 (蓝色) 细胞破碎达到90%以上即可停止匀浆, 请勿过度匀浆。若阳性 (蓝色) 细胞比例未达到90%, 适当增加5次匀浆, 随后按照同样的方法使用台盼蓝溶液进行鉴定。

**注意:** 对于培养的细胞也可以采用涡旋震荡法和反复冻融法来破碎细胞。

**涡旋震荡法:** 将步骤2中已经加入了组蛋白抽提试剂A的样品, 在涡旋仪上剧烈涡旋1 min (涡旋10 s, 停10 s), 然后冰上放置2 min, 重复涡旋及放置步骤4-5次, 然后取少量样品台盼蓝染色检测其细胞破碎程度, 如果细胞破碎程度不足90%, 可以增加剧烈涡旋次数, 直到细胞破碎程度大于90%。

**反复冻融法:** 将步骤2中已经加入了组蛋白抽提试剂A的样品, 在液氮和室温依次反复冻融两次, 然后取少量样品台盼蓝染色检测其细胞破碎程度, 如果细胞破碎程度不足90%, 可以增加反复冻融次数, 直到细胞破碎程度大于90%。

**4. 将匀浆液, 4℃, 16000 g离心10 min, 收集沉淀。**

**5. 第一次洗涤:** 加入1 mL的组蛋白洗涤液, 使用移液器吹散混匀, 在涡旋仪上剧烈涡旋1 min (涡旋10 s, 停10 s), 然后冰上放置2 min, 重复涡旋及放置步骤4-5次, 4℃, 16000 g离心10 min, 收集沉淀。

**6. 第二次洗涤:** 重复步骤5洗涤步骤。

**注意:** 洗涤次数越多, 组蛋白纯度越高, 但得率会降低, 推荐洗涤次数在2-3次最佳。

**7. 向收集的沉淀中加入100 μL组蛋白抽提试剂B。在涡旋仪上高速剧烈涡旋, 涡旋10 s停10 s共2 min, 冰浴10 min, 重复涡旋及冰浴步骤3次, 以充分抽提组蛋白。**

**8. 4℃, 16000 g离心10 min, 收集上清即为组蛋白, 上清中加入20 μL组蛋白中和液 (1: 5加入组蛋白中和液)。**

**9. 样品的使用:** 用于免疫印迹的变性蛋白分析实验, 取部分样品用来测浓度, 剩下的蛋白样品按照3:1比例, 混合蛋白样品和SDS-PAGE上样缓冲液。100℃沸水浴加热5 min, 以充分变性蛋白。冷却至室温后, 直接上样到SDS-PAGE胶加样孔内即可。

## 问题解答

问题	可能原因	解决方案
组蛋白纯度不高	样品破碎程度不够	增加破碎程度

洗涤次数不够

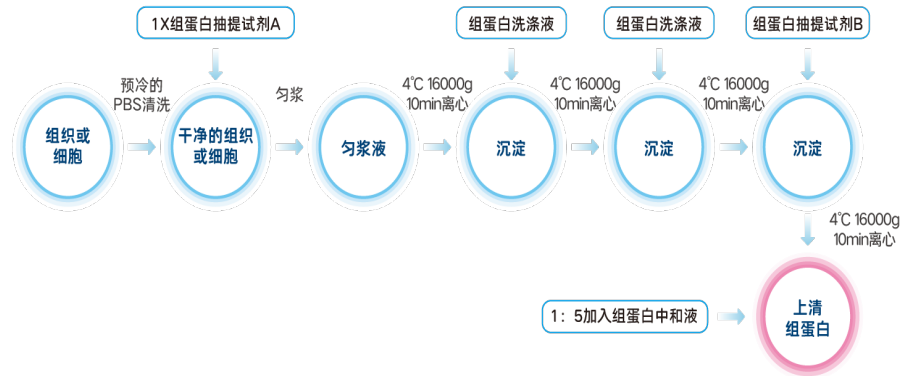
增加洗涤次数

没有得到组蛋白

提取试剂失效

检查试剂盒是否按要求保存及是否过期

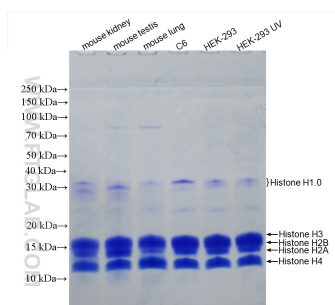
## 分离流程



## 注意

1. 分离组蛋白的所有步骤都需在低温下进行。
2. SDS-PAGE蛋白上样缓冲液中含少量DTT，有轻微刺激性气味，但不含剧毒的巯基乙醇。为取得最佳的使用效果，尽量避免过多的反复冻融，可以适当分装使用。
3. 抽提得到的组蛋白可以使用Proteintech的BCA蛋白浓度检测试剂盒（货号：[PK10026](#)）测定蛋白浓度，不适用Bradford法测蛋白浓度。
4. 本试剂盒中试剂都应在室温下溶解，请勿加热。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴好一次性手套操作。

## Validation Data



使用组蛋白抽提试剂盒 (货号: PK10022)提取的组蛋白样品。SDS-PAGE 考马斯亮蓝染色图。胶浓度: 10% Tricine-SDS-PAGE胶; 上样量: 10 ug; lane1: mouse kidney tissue histone; lane2: mouse testis tissue histone; lane3: mouse lung tissue histone; lane4: C6 cells histone; lane5: HEK-293 cells histone; lane6: UV treated HEK-293 cells... histone

For technical support and original validation data for this product please contact

T: 027-87531629

E: Proteintech-CN@ptglab.com

W: ptgcn.com

This product is exclusively available under Proteintech Group brand and is not available to purchase from any other manufacturer.