# 组蛋白提取试剂盒

Histone Extraction Kit

本产品冰袋运输；4°C保存，保质期 12 个月。

## 货号规格

| 货号 | 规格 |
|---|---|
| PC206 | 50次 |

## 产品内容

| 组分名称 | 体积 |
|---|---|
| 组蛋白试剂A | 75 mL |
| 组蛋白试剂B | 2.5 mL |
| 组蛋白试剂C | 25 mL |
| 组蛋白试剂D | 6.5 mL |
| 组蛋白试剂E | 50 mL |

## 产品简介

本试剂盒基于经典酸抽提原理，可从动物培养细胞或组织样品中高效提取总组蛋白（H1、H2A、H2B、H3、H4）。提取体系温和可控，能够最大程度保留组蛋白甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化及 SUMO 化等翻译后修饰；所得产物纯度高、杂蛋白污染低，适用于 Western Blot、ELISA、质谱鉴定、修饰位点检测等各类表观遗传相关实验。实验全程冰上操作，无需复杂层析设备，便于批量样品处理。

## 产品特点

**纯度佳** — 高效富集细胞与组织样品中的组蛋白，产物纯度可达 90% 以上；

**修饰全** — 提取条件温和可控，最大程度保留组蛋白甲基化、乙酰化、磷酸化、泛素化及 SUMO 化等各类翻译后修饰；

**得率高** — 所得组蛋白无需浓缩，可直接上样开展 SDS-PAGE 检测；

**易操作** — 采用纯试剂法破碎细胞，操作简便，无需复杂设备；

**应用广** — 提取的组蛋白适用于 SDS-PAGE、Western Blot、ELISA 及质谱分析等实验。

## 注意事项

1. 本产品适用于动物贴壁细胞、悬浮细胞及动物新鲜组织（如心、脑、肝、脾、肾、肿瘤组织等）中组蛋白的提取；
2. 组蛋白试剂 A 使用前，请按 1:100（V/V）加入蛋白酶抑制剂混合液（100×，不含 EDTA）（货号：GRF101）或蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合液（100×，不含 EDTA）（货号：GRF103）；
3. 本试剂盒的提取条件可能导致组氨酸磷酸化修饰丢失，研究组氨酸磷酸化相关课题的研究者请慎用本试剂盒；
4. 组蛋白修饰的 WB 检测结果受抗体特异性、上样量及曝光条件等因素影响，首次使用时建议通过梯度实验优化检测条件；
5. 提取获得的蛋白样品可采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度（货号：ZJ102）；
6. 操作全程请佩戴一次性手套、穿着实验服，注意实验防护；
7. 本产品仅限科研用途，不得用于临床。

## 使用说明

1. 样品前处理
   a. **贴壁细胞：** 经胰酶消化后，4°C，300×*g* 离心 5 min，弃上清；加入适量 PBS 缓冲液清洗细胞，300×*g* 离心 5 min，弃上清，加入适量 PBS 重悬细胞；
   b. **悬浮细胞：** 4°C，300×*g* 离心 5 min，弃上清；加入适量 PBS 缓冲液清洗细胞，300×*g* 离心 5 min，弃上清，加入适量 PBS 重悬细胞；
   c. **组织样品：** 取新鲜动物组织，置于预冷 PBS 缓冲液中清洗 1~2 次，去除血液、表面脂肪等杂质。

2. 样品准备
   a. **细胞样品：** 细胞计数后，取 $1\times10^7$个细胞转移至 1.5 mL 离心管中，300×*g* 离心 5 min，弃上清。加入 1 mL 组蛋白试剂 A，轻柔吹打重悬细胞并混匀；
   b. **组织样品：** 称取 30 mg 前处理后的新鲜动物组织（吸干水分后），剪碎后置于预冷的玻璃匀浆器中；加入 1 mL 组蛋白试剂 A，匀浆至无肉眼可见固体，转移匀浆物至 1.5 mL 离心管，全程需冰上操作。

   注意：① 使用**组蛋白试剂 A** 前，需预先加入蛋白酶抑制剂，参考【注意事项 2】；针对酰化修饰研究，推荐额外添加去酰化酶抑制剂；
   ② 对于体积较大的细胞，可将起始细胞数量调整为 $5\times10^6$个。

3. 加入 50 μL 组蛋白试剂 B，立即轻柔上下颠倒混匀 4~6 次，置于冰上孵育 30 min；
4. 4°C，1,000×*g* 离心 8 min，弃尽上清；
5. 加入 500 μL 预冷的组蛋白试剂 A 重悬沉淀，轻柔吹打混匀后，4°C，1,000×*g* 离心 8 min，弃尽上清；
6. 加入 500 μL 预冷的组蛋白试剂 C 重悬沉淀，吹打混匀后，置于冰上孵育 30 min；
7. 4°C，12,000×*g* 离心 5 min，吸取 480 μL 上清液转移至新 1.5 mL 离心管中；
   注意：吸取上清时切勿吸入沉淀。
8. 加入 130 μL 预冷的组蛋白试剂 D，立即上下颠倒混匀 4~6 次，置于冰上孵育 30 min；
   注意：混匀后溶液浑浊属于正常现象，为组蛋白析出；浑浊程度越高，代表组蛋白含量越高。
9. 4°C，12,000×*g* 离心 5 min，弃尽上清，所得沉淀即为组蛋白；
   注意：不同样品的组蛋白沉淀形态存在差异：部分样品在管底形成絮状或颗粒状沉淀，部分样品则为半透明片状贴附于离心管壁。
10. 加入 500 μL 预冷的组蛋白试剂 E，上下颠倒混匀；4°C，12,000×*g* 离心 5 min，弃尽上清；
11. 重复步骤 10；
    注意：若离心后未见明显沉淀，可能为组蛋白吸附于管壁所致。可用移液器吸取少量试剂 E 轻柔吹打管壁，若观察到蛋清状固体脱落，即为组蛋白沉淀，再次离心后弃尽上清即可。
12. 将离心管开盖，室温干燥 1~2 min；
    注意：可用 10 μL 吸头吸尽上清，请勿过度干燥，否则组蛋白不溶物会增多。
13. 用 50~100 μL PBS 或 $ddH_2O$ 溶解组蛋白，轻柔吹打沉淀多次，尽量避免产生气泡；
    注意：可根据实验目的自行选择合适的溶解缓冲液。例如，用于质谱分析时，可使用 50 mM $NH_4HCO_3$（pH 8.0）溶解。
14. 4°C，12,000×*g* 离心 2 min，将可溶性组蛋白上清分装置于 -80°C保存。