天净沙系列

CAT#:240181

低温运输，-20℃保存

组蛋白微量纯化试剂盒

Histone Purification Kit

使用手册 V0.5

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本试剂盒是组蛋白微量纯化试剂盒，专门用于从哺乳动物细胞或组织中提取组蛋白。它具有下列特点：

1. 即用型试剂盒，方便快捷。
2. 本产品足够 30 次提取，每次可处理 100 mg 组织或 1E7 个细胞。
3. 本产品提取所得的组蛋白为变性蛋白。
4. 得到的提取物可以用于 SDS-PAGE、2D 电泳、免疫印迹分析和 BCA 法及 Lowry 法蛋白定量（不适用于 Bradford 法）。
5. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品使用大纸盒包装

成份	编号	规格	包装材料
10×组蛋白微量纯化溶液 A	240181a	6 mL	10 mL 本色瓶
组蛋白微量纯化溶液 B	240181b	3 mL	10 mL 本色瓶
4×组蛋白微量纯化溶液 C	240181c	16 mL	30 mL 本色瓶
组蛋白微量纯化溶液 D	240181d	1 mL	1.5 mL 本色管
5×SDS-PAGE 上样液	220624	2 mL	2 mL 本色管
100×蛋白酶抑制剂混合液	980808	1.5 mL	1.5 mL 本色管
0.4%台盼蓝（锥蓝）染色液	4-802305	1 mL	1.5 mL 棕色管
使用手册	240181sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，-20℃保存。保存期限一年。

自备试剂

去离子水，PBS，玻璃匀浆器。

使用方法

一、准备工作

1. 将试剂盒中溶液室温解冻，解冻后放置于冰上。
2. 提前 4℃预冷离心机、玻璃匀浆器、PBS 等。
3. 10×组蛋白微量纯化溶液 A 和 4×组蛋白微量纯化溶液 C 根据实验需求量使用去离子水稀释至 1×。10×组蛋白微量纯化溶液 A、4×组蛋白微量纯化溶液 C 根据提取的样本量分别取出对应体积的试剂，在使用前按 99：1 添加 100×蛋白酶抑制剂混合液备用。组蛋白微量纯化溶液 B 和组蛋白微量纯化溶液 D 不需要提前添加 100×蛋白酶抑制剂混合液。

二、样品预处理

4. 细胞：收集细胞于 4℃，500×g 离心 5 min，用预冷的 PBS 洗涤两遍。在冰上，每

1E7 细胞加入 2 mL 预冷的 1×组蛋白微量纯化溶液 A。

5. 组织：用预冷 PBS 洗净组织块上附着的杂质，用滤纸吸干水分后称重，在离心管中将组织块剪碎，在冰上，每 100 mg 组织加 2 mL 预冷的 1×组蛋白微量纯化溶液 A。

三、组蛋白微量纯化

6. 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（锥蓝）染色液，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。
7. 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。
8. 涡旋震荡法（可选）：将已经加入了 1×组蛋白微量纯化溶液 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%。
9. 反复冻融法（可选）：将中已经加入了 1×组蛋白微量纯化溶液 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%。
10. 将匀浆液，4℃，16000×g 离心 10 min，收集沉淀。
11. 第一次洗涤：加入 1 mL 的 1×组蛋白微量纯化溶液 C，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。
12. 第二次洗涤：重复上一步洗涤步骤。
13. 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。
14. 向收集的沉淀中加入 100 μL 组蛋白微量纯化溶液 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。
15. 4℃，16000×g 离心 10 min，收集上清即为组蛋白，上清中加入 20 μL 组蛋白微量纯化溶液 D（1：5 加入组蛋白微量纯化溶液 D）。
16. 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 4:1 比例，混合蛋白样品和 5×SDS-PAGE 上样液。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。
关联产品	植物叶绿体总蛋白纯化试剂盒

20250915wjw