

Minute™ 组蛋白/DNA 结合蛋白提取试剂盒

目录号：HP-014

描述：

组蛋白和其他 DNA 结合蛋白在染色体结构，基因调控和翻译后修饰中扮演着重要角色。组蛋白的核心部件可以通过甲基化，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。本试剂盒可以快速从培养的细胞和动物组织中分离的细胞中提取组蛋白和其他 DNA 结合蛋白。不同于其他商业试剂盒采用酸或高盐提取，只能选择性的提取碱性蛋白，得率很难控制。本试剂盒采用完全不同的机制，有效的提取组蛋白和 DNA 结合蛋白，可用于研究组蛋白内部调控修饰。可以从 0.5-5million 细胞中提取组蛋白，得率可达 1-2.5mg/ml，操作时间<10 分钟

应用：

可应用于 SDS-PAGE，immunoblottings，ELISA，IP，蛋白定位和蛋白修饰研究。

缓冲液配方： 非公开

试剂盒组分

1. 25ml Buffer A
2. 25ml Buffer B
3. 50 个离心管柱
4. 50 个收集管

储存： 室温

所需附加材料

1XPBS 涡旋震荡仪 台式离心机 BCA 蛋白定量试剂盒

重要产品信息

蛋白酶抑制剂可根据实验选择是否加入，如果下游实验需要较长时间或者蛋白提取后保存较长时间，建议在裂解液中添加蛋白酶抑制剂。推荐使用 BCA (Pierce) 试剂盒用于蛋白浓度测定。

研究蛋白磷酸化，磷酸酶抑制剂应在使用前加入缓冲液 A 中。

注意：如果 BufferB 在低温环境储存出现沉淀，可以 37 度水浴析出盐分会复溶。

操作方法：

1. 将 Buffer A 和离心管柱和接收管套管放置于冰上预冷。低速离心 (200-600Xg 5 分钟) 收集 0.5-5million 细胞或从组织中分离的细胞。推荐使用 MinuteTM 单细胞分离试剂盒 (目录号 SC-012, Invent biotechnologies, MN) 从细胞组织中提取单细胞。
2. 加入 1ml 预冷的 PBS 重悬细胞，将细胞重悬液转入一个 2.0ml 离心管中。3000rpm，离心 2 分钟，沉淀细胞，将上清液完全弃去。
3. 加入 0.5ml Buffer A 重悬细胞，冰上孵育 5 分钟。涡旋震荡几下后，14000xg，离心 2 分钟。弃去上清液 (此上清液为细胞胞浆蛋白)， (优化：用 1.0ml 预冷的 PBS 清洗沉淀)。
4. 加入适量的 Buffer B (如下表 1，根据细胞体积或细胞起始数量添加) 到管中，涡旋震荡 10 秒钟，迅速倒入离心管柱和接受管套管中，盖上盖子，16000xg 离心 30 秒。弃掉离心管柱，收集管中的溶液即为组蛋白和 DNA 结合蛋白 (通常浓度 1-2.5mg/ml)。如果提取的蛋白下游用于免疫沉淀实验，请用 PBS-吐温或其他适配缓冲液 1:3 稀释蛋白溶液。

表格 1，不同细胞起始数量加入相应体积 Buffer B

细胞体积 (ul)	细胞数 (百万)	Buffer B (ul)
5	0.5	25-50
10	1.0	50-100
20	2.0	100-150
50	5.0	250-300

常见问题

问题	解决方法
低蛋白浓度	增加细胞起始量或者减少 Buffer B 用量
离心管柱中有液体残留	减少细胞起始数量或增加 Buffer B 用量

更多信息和活动请扫描
二维码关注官方公众号

