

はじめに

ヌクレオソームは、真核生物の細胞核内にある DNA とコアヒストンから構成されるクロマチンの基本単位です（図 1）。ヌクレオソームの構造や性質が DNA を鋸型とするすべての反応に影響を及ぼすことから、ヒストンの種類や翻訳後修飾は転写、複製、組み換え、修復などの制御機構に重要な役割を果たしています。そのため、ヒストン修飾の状態を明らかにすることは、ゲノム機能制御を理解するうえで極めて重要であります。本製品群は、修飾ヒストンを検出するために必要な蛍光標識修飾ヒストン抗体及びブロッキング・染色溶液をセットにしたものです。

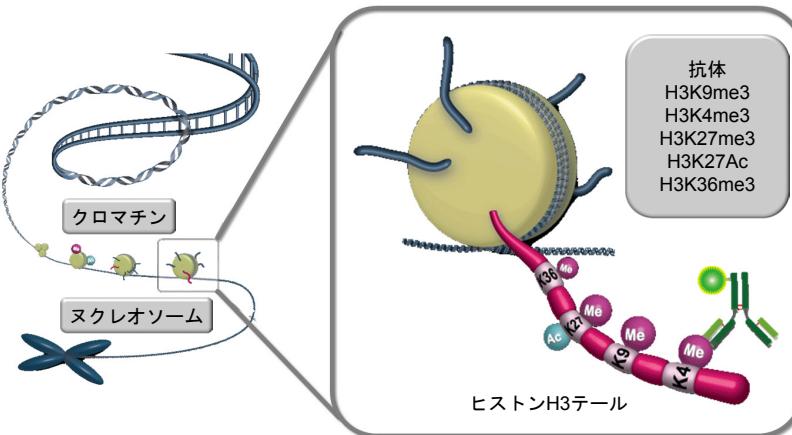


図 1 修飾ヒストン及び検出用蛍光標識抗体

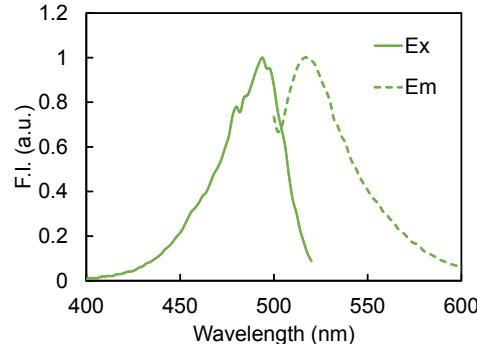


図 2 標識蛍光色素の励起・蛍光スペクトル

内容

- Anti H3Kx antibody - Green (x = 9me3, 4me3, 27me3, 27Ac, 36me3) x 1
※モノクローナル抗体研究所製の抗体を使用しております。
- Blocking Solution x 1

保存条件

冷蔵保存してください。

キット以外に必要なもの

- 超純水
- Phosphate Buffered Saline (PBS)
- マイクロピペット
- Paraformaldehyde (PFA)
- Triton X-100
- 250 mM HEPES (pH7.4)

溶液調製

Anti H3Kx antibody - Green stock solution の調製

Anti H3Kx antibody - Green のチューブに超純水 100 µL 加えピッピングにより溶解し、Anti H3Kx antibody - Green stock solution を調製する。
※溶解後は冷蔵で保存して下さい。3 週間保存可能です。

Anti H3Kx antibody - Green staining solution の調製

表 1 に従い、Anti H3Kx antibody - Green stock solution を Blocking Solution で希釈し、Anti H3Kx antibody - Green staining solution を調製する。

※細胞種により適切な希釈倍率が異なる可能性があります。20–50 倍希釈を目安にご使用ください。
※調製後はその日の内にご使用ください。

尚、本製品群の使用可能回数は染色溶液量により表 2 のようになります。

表 1 抗体種と推奨希釈倍率

種類	推奨希釈倍率
H3K9me3	20倍希釈
H3K4me3	20倍希釈
H3K27me3	50倍希釈
H3K27Ac	50倍希釈
H3K36me3	50倍希釈

表 2 染色溶液量と使用回数

染色溶液量	使用回数	
	50倍希釈	20倍希釈
100 µL	50	20
200 µL	25	10
2 mL	2	1

細胞の固定化及び 蛍光免疫染色

1. 細胞を蛍光イメージング用のディッシュ、チャンバースライドまたはマイクロプレートに播種し、37 °C、5% CO₂ インキュベーター内で一晩培養する。
2. 培地を除去し、PBS を用いて細胞を 1 回洗浄する。
3. 上清を除去し、4% PFA 及び 0.1% TritonX-100 を含む 250 mM HEPES (pH7.4) 溶液を添加し、室温で 5 分間静置する。
4. 上清を除去し、PBS で 2 回洗浄する。
5. 1% TritonX-100 を含む PBS 溶液を添加し、20 分間室温で静置する。
6. 上清を除去し、PBS で 2 回洗浄する。
7. Blocking Solution を添加し、20 分間室温で静置する。
8. 上清を除去し、PBS で 2 回洗浄する。
9. 上清を除去し、Anti H3Kx antibody - Green staining solution を添加し、室温で 1 時間静置する。
10. 上清を除去し、PBS で 2 回洗浄する。
11. 蛍光顕微鏡で観察する。

実験例 1

WI-38 細胞中の修飾ヒストンの検出

1. μ-Slide 8 well に WI-38 細胞を播種し、37 °C、5% CO₂ インキュベーター内で一晩培養した。
2. 培地を除去し、PBS を用いて細胞を 1 回洗浄した。
3. 上清を除去し、4% PFA 及び 0.1% TritonX-100 を含む 250 mM HEPES (pH7.4) 溶液 200 μL を添加し、室温で 5 分間静置した。
4. 上清を除去し、PBS で 2 回洗浄した。
5. 1% TritonX-100 を含む PBS 溶液 200 μL を添加し、20 分間室温で静置した。
6. 上清を除去し、PBS で 2 回洗浄した。
7. Blocking Solution 200 μL を添加し、20 分間室温で静置した。
8. 上清を除去し、PBS で 2 回洗浄した。
9. 上清を除去し、Anti H3K9me3 antibody - Green staining solution 及び DAPI 溶液を添加し、室温で 1 時間静置した。
10. 上清を除去し、PBS で 2 回洗浄した。
11. 蛍光顕微鏡で観察した。

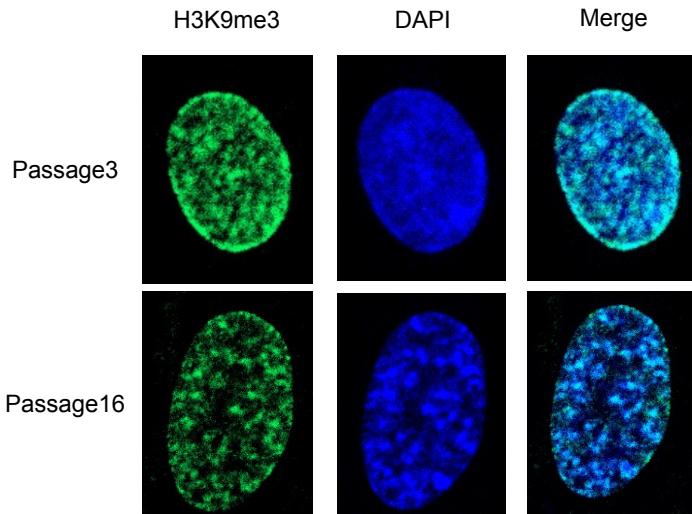


図 3 WI-38 細胞の修飾ヒストンの検出
DAPI Ex/Em = 405 nm/ 410–450 nm
H3K9me3 Ex/Em = 488 nm/ 500–550 nm

本製品は試験・研究用途です。臨床診断用途には使用できません。
ご質問・ご要望は下記までお問い合わせください。

Dojindo 株式会社同仁化学研究所
熊本県上益城郡益城町田原 2025-5
熊本テクノリサーチパーク 〒 861-2202
Tel:096-286-1515 (代表) Fax:096-286-1525
E-mail: info@dojindo.co.jp URL: www.dojindo.co.jp

ドージン・イースト（東京）
東京都港区芝大門2-1-17 朝川ビル 7F 〒 105-0012
Tel: 03-3578-9651 (代表) Fax: 03-3578-9650
フリーダイヤル :0120-489548
フリーファックス :0120-021557

H419: Anti H3K9me3 antibody -Green
H420: Anti H3K4me3 antibody -Green
H421: Anti H3K27me3 antibody -Green
H422: Anti H3K27Ac antibody -Green
H423: Anti H3K36me3 antibody -Green