

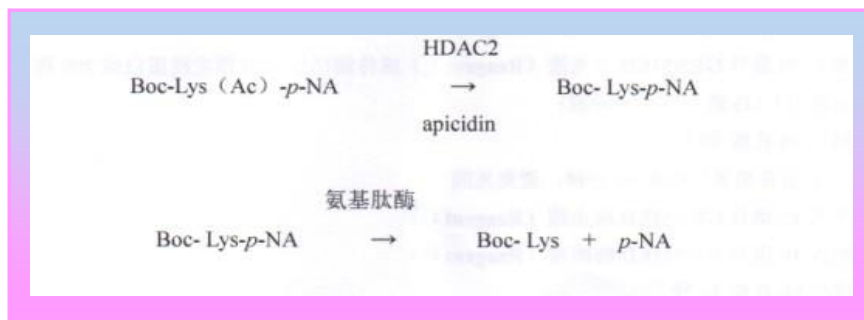
## GENMED 组蛋白脱乙酰化酶 2 (HDAC2) 活性比色法定量检测试剂盒 (中文版)

### 主要用途

GENMED 组蛋白脱乙酰化酶 2 (HDAC2) 活性比色法定量检测试剂是一种旨在通过比色探针对硝基苯胺标记乙酰化多肽底物, 在特异性抑制剂的存在下, 经过 HDAC 脱乙酰基后, 被位点特异性氨基肽酶水解, 释放黄色对硝基苯胺, 即采用比色法来测定样品中酶活性的权威而经典的技术方法。该技术经过精心研制、成功实验证明的。其适用于各种细胞、组织裂解萃取液样品 (动物、人体)、核蛋白样品、部分或完全纯化酶样品中 HDAC2 的特异活性定量检测, 以及抑制剂和激活剂的筛选。产品严格无菌, 即到即用, 操作简捷, 性能稳定。

### 技术背景

人体组蛋白脱乙酰基酶 (histone deacetylase; HDAC) 家属分成三类共20多个蛋白: 种类I (class I) 与酵母 Rpd3蛋白同源, 包括HDAC1、2、3、8, 存在于细胞核中; 种类II (class II) 与酵母Hda1蛋白同源, 包括 HDAC4、5、6、7、9a、9b、10和HDRP/MITR, 存在于细胞核和细胞浆里; 上述两大种类的蛋白分子催化结构域含有锌, 且曲古菌素A (trichostatin A; TSA) 敏感。种类III (class III) 为NAD辅助因子必需, 又称为sirtuins, 与酵母Sir2同源, 包括SIRT1至7等。其曲古菌素A (trichostatin A; TSA) 不敏感。通过催化组蛋白上赖氨酸残基ε-氨基酸的乙酰基团的水解脱离, 改变核小体 (nucleosome) 结构达到调节基因表达, 从而调节细胞周期和分化, 一旦失控, 则会导致肿瘤和衰老。HDAC2 (EC3.5.1.98), 与各种不同蛋白, 包括 YY1, 形成转录抑制复合物, 达到转录调节、细胞周期进程、以及发育变化等控制作用。其脱乙酰化目标序列为 XXXLys (Ac) X。基于乙酰化多肽具有抗氨基肽酶切离的功能, 首先通过比色染料对硝基苯胺 (*p*-Nitroaniline; *p*-NA) 来标记乙酰化多肽底物, 其次, 在特异性抑制剂apicidin的差异浓度作用下, 进行 HDAC的脱乙酰化, 最后底物进一步在氨基肽酶的催化酶解, 释放出具有强烈吸光值的黄色对硝基苯胺 (波长405nm), 由此来定量测定组蛋白脱乙酰基酶2的特异活性。其反应系统为:



### 产品内容

GENMED 缓冲液 (Reagent A)	6 毫升
GENMED 底物液 (Reagent B)	200 微升
GENMED 终止液 (Reagent C)	400 微升
GENMED 酶解液 (Reagent D)	400 微升
GENMED 补充液 (Reagent E)	500 微升
GENMED 专性液 (Reagent F)	100 微升
产品说明书	1 份



## 保存方式

保存在-20℃冰箱里，GENMED 底物液（Reagent B）避免光照，有效保证 6 月

## 用户自备

（微型）台式离心机：用于细胞预处理

培养箱：用于反应物孵育

96 孔板或 100 微升 1 厘米光径比色皿：用于反应和比色的容器

酶标仪或分光光度仪：用于比色分析

## 实验步骤

实验开始前，将-20℃冰箱里的试剂置入冰槽里融化。然后进行下列操作。

### 一、测定准备

1. 准备好待测样品（例如核蛋白或纯化酶样品等），置于冰槽里
2. 设定好酶标仪或分光光度仪（温度为 37℃）： 波长 405nm，并置零

### 二、活性测定

#### 1) 总活性测定

1. 在 96 孔板上做好相应标记：背景空对照和待测样品总活性
2. 分别移取 55 微升 **GENMED 缓冲液（Reagent A）** 到相应孔中
3. 分别加入 5 微升 **GENMED 底物液（Reagent B）**
4. 分别加入 20 微升 **GENMED 补充液（Reagent E）** 或待测样品（50 微克核蛋白或 200 微克细胞裂解萃取液总蛋白）（注意：*样品须清澈*）
5. 轻轻摇动 96 孔板 30 秒
6. 放进 37℃ 培养箱里，孵育 60 分钟，避免光照
7. 分别加入 10 微升 **GENMED 终止液（Reagent C）**
8. 分别加入 10 微升 **GENMED 酶解液（Reagent D）**
9. 轻轻摇动 96 孔板 30 秒
10. 在 37℃ 培养箱里，孵育 30 分钟
11. 即刻放进酶标仪或转移到 100 微升比色皿，在分光光度仪里检测：获得吸光读数

#### 2) 非特异活性测定

1. 在 96 孔板上做好相应标记：待测样品非特异活性
2. 移取 50 微升 **GENMED 缓冲液（Reagent A）** 到相应孔中
3. 加入 5 微升 **GENMED 专性液（Reagent F）**
4. 加入 20 微升待测样品（50 微克核蛋白或 200 微克细胞裂解萃取液总蛋白）（注意：*样品须清澈*）
5. 放进 37℃ 培养箱里，孵育 10 分钟，避免光照
6. 加入 5 微升 **GENMED 底物液（Reagent B）**
7. 轻轻摇动 96 孔板 30 秒

8. 放进 37°C 培养箱里, 孵育 60 分钟, 避免光照
9. 加入 10 微升 GENMED 终止液 (Reagent C)
10. 加入 10 微升 GENMED 酶解液 (Reagent D)
11. 轻轻摇动 96 孔板 30 秒
12. 在 37°C 培养箱里, 孵育 30 分钟
13. 即刻放进酶标仪或转移到 100 微升比色皿, 在分光光度仪里检测: 获得吸光读数

### 3) 样品活性计算

**(1) 酶标仪检测**

$$[(\text{样品读数} - \text{背景读数}) \times \text{样品稀释倍数} \times 0.10 (\text{体系容量: 毫升})] + [0.02 (\text{样品容量: 毫升}) \times 10.5 (\text{毫摩尔吸光系数}) \times 1 (\text{反应时间: 小时}) \times 0.6 (\text{光径距离: 厘米})] = \text{单位/毫升} + (\text{样品蛋白浓度}) \text{毫克/毫升} = \text{单位/毫克}$$

单位 = 微摩尔对硝基苯酚/分钟

**(2) 比色皿检测**

$$[(\text{样品读数} - \text{背景读数}) \times \text{样品稀释倍数} \times 0.10 (\text{体系容量: 毫升})] + [0.020 (\text{样品容量: 毫升}) \times 10.5 (\text{毫摩尔吸光系数}) \times 1 (\text{反应时间: 小时})] = \text{单位/毫升} + (\text{样品蛋白浓度}) \text{毫克/毫升} = \text{单位/毫克}$$

单位 = 微摩尔对硝基苯酚/小时

### (3) 样品特异活性

样品总活性 - 样品非特异活性 = 样品特异活性

### 注意事项

1. 本产品为 20 次操作, 包括背景对照
2. 操作时, 须戴手套
3. 系统操作过程中, 背景测定只需 1 次
4. 样品须澄清, 至关重要
5. 样品处理时, 避免使用蛋白酶抑制剂、PMSF、烷基胺 (alkyl amine) 等
6. 孵育反应完成后即刻进行比色测定
7. 滤波器可以使用波长 400nm 替代 405nm
8. 测定值由低到高变化; 测定可以持续 60 分钟
9. 测定值吸光读数越高, 表明酶活性越高
10. 比色测定后, 比色皿须清洗彻底
11. 待测样本为核蛋白样品, 其蛋白浓度为 50 微克/20 微升; 待测样本为细胞裂解悬液, 其蛋白浓度为 200 微克/20 微升 (本公司提供 GENMED Bradford 蛋白质浓度定量试剂盒 A-GMS30030.1)
12. 如果待测样品浓度过高或过低, 可以调整样品浓度
13. 组蛋白脱乙酰基酶 2 单位活性定义为: 在 37°C, pH 8.0 条件下, 每分钟内能够释放 1 微摩尔对硝基苯酚所需的酶量作为一个活性单位
14. 本公司提供系列组蛋白脱乙酰基酶检测试剂产品

### 质量标准

1. 本产品经鉴定性能稳定
2. 本产品经鉴定检测敏感



### 使用承诺

艾德科技秉承“信誉至上、客户满意、质量承诺”的宗旨为我们的用户提供优质产品和服务。用户收到货后，应按照产品说明书上的规定妥善保管并在有效期内使用。我们的产品在销售前已作严格的质量鉴定，保证说明书所述的使用效果。在货到后 10 天内若发现确属本产品的质量问題，请立即以书面形式（实验报告）与本公司联系，并将该产品退回，经检验确系产品质量所致，本公司负责更换产品。如系使用者错误操作所致，本公司不承担由此造成的损失。

### 友情提醒

**IF IT DOESN'T WORK, RECHECK YOUR EXPERIMENT TO SEE WHAT YOU DID WRONG.**

### 订购信息

#### 单组份订购信息

编号	名称	规格
GMS50082.3	GENMED 组蛋白脱乙酰化酶 2 (HDAC2) 活性比色法定量检测试剂盒	20 次
GMS50082.3A	GENMED 缓冲液 (Reagent A)	毫升
GMS50082.3B	GENMED 底物液 (Reagent B)	微升
GMS50082.3C	GENMED 终止液 (Reagent C)	毫升
GMS50082.3D	GENMED 酶解液 (Reagent D)	毫升
GMS50082.3E	GENMED 补充液 (Reagent E)	毫升
GMS50082.3F	GENMED 专性液 (Reagent F)	毫升

#### 试剂盒订购信息

产品编号	名称	规格
A-GMS50082.3	组蛋白脱乙酰化酶 2 (HDAC2) 活性比色法定量检测试剂盒	20 次
A-GMS50082.3.1	细胞组蛋白脱乙酰化酶 2 (HDAC2) 活性比色法定量检测试剂盒	20 次
A-GMS50082.3.2	组织组蛋白脱乙酰化酶 2 (HDAC2) 活性比色法定量检测试剂盒	20 次
A-GMS50851.3	组蛋白脱乙酰化酶 2 (HDAC2) 活性荧光法定量检测试剂盒	20 次
A-GMS50851.3.1	细胞组蛋白脱乙酰化酶 2 (HDAC2) 活性荧光法定量检测试剂盒	20 次
A-GMS50851.3.2	组织组蛋白脱乙酰化酶 2 (HDAC2) 活性荧光法定量检测试剂盒	20 次

### 联系我们

关于订购详情或技术支持，欢迎来电、来函、传真或电邮——

艾德科技（北京）有限公司  
北京市中关村生命科学园东 60 米  
邮编：102206  
订购电话：+86 (010) 52406250  
传真：+86 (010) 52406250  
Email: [tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com)  
主页: [www.aderr.com](http://www.aderr.com)

GENMED SCIENTIFICS INC. U.S.A  
438 MASS AVENUE, SUITE 223  
ARLINGTON, MA 02474  
U.S.A.  
TEL: 010-52406250