

## 石蜡包埋组织蛋白提取试剂盒

产品货号: BA1793

产品规格: 50T

### 产品简介:

从固定在福尔马林中提取和纯化出来的蛋白, 可用于western blot, RPA, 质谱, 2D电泳分析。

### 产品组成:

试剂名称	50T	保存条件
蛋白提取缓冲液EXB	5ml	-20℃
二甲苯	5ml	室温
正庚烷	5ml	室温
$\beta$ -巯基乙醇	300 $\mu$ l	室温
甲醇	30ml	室温
氯仿	5ml	室温

### 试剂盒成分保存

提取缓冲液EXB应存放在-20℃。FFPE试剂盒中其它的组分应存放在室温干燥环境(15-25℃)。FFPE中的其它成分正庚烷, 甲醇, 氯仿应储存在适当的储藏柜中, 此条件下, 该试剂盒至少可以稳定保存12个月。

### 载玻片上的石蜡组织切片脱蜡:

用户须自备的设备和试剂:

100%, 96%, 和70%(V/V)乙醇

石蜡包埋切片脱蜡罐

### 实验开始前注意事项:

二甲苯清洗(步骤1和2)应在通风橱内进行。

### 实验步骤

1. 将载玻片转移到一个合适的装有二甲苯的容器中, 玻片要被二甲苯完全覆盖, 室温(15-25°)孵育10min。
2. 重复步骤1两次, 每次使用新的二甲苯。
3. 将玻片放入100%乙醇中室温孵育10min, 使用新的100%乙醇重复此步。
4. 将玻片转移到一个含有96%的乙醇的容器中孵育10min, 使用新的96%乙醇重复这一步骤。
5. 将玻片转移到一个含有70%的乙醇的容器中孵育10min, 使用新的70%乙醇重复这一步骤。
6. 浸在双蒸馏水中30s, 用纸巾小心地擦去玻片上的水。  
注意: 纸巾不要触碰到组织, 确保组织不要干。
7. 用针划要的组织转移到离心管中。
8. 从FFPE组织切片中提取的总蛋白可进行western blot。

### 直接从一块石蜡包埋样本中脱蜡:

用户须自备的设备和试剂:

微型离心机(适合于1.5ml离心管)



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

涡旋混合器

100%，96%，and 70%(vv)乙醇

**实验开始前注意事项：**

所有离心步骤都是在20-25°C使用台式进行离心(例如，Eppendorf® Micro Centrifuge 5417C or HeraeusBiofuge® 15)。

二甲苯洗涤应在通风橱内进行。

**实验步骤：**

1. 从同一块组织中切3片10-15m厚切片。
2. 立即把切片放在1.5毫升离心管中(提供)。
3. 向管子中加入1ml二甲苯，用力涡旋10s，孵育10min。
4. 将管子放入微型离心机中全速离心2min，小心弃掉上清。
5. 重复步骤3，4两次。
6. 加入1ml无水乙醇到包含有颗粒的管子中，涡旋混匀。孵育10min，全速离心2min。
7. 小心弃掉上清。
8. 不要搅乱管底颗粒
9. 重复步骤6。
10. 加1mL96%乙醇到管中，涡旋混匀。孵育10分钟，全速离心2min。
11. 小心弃掉上清。
12. 不要搅乱管底颗粒。
13. 重复步骤11，12。
14. 加1mL70%乙醇到管中，涡旋混匀。孵育10分钟，全速离心2min。
15. 小心弃掉上清。
16. 不要搅乱管底颗粒。
17. 重复步骤14，15。

注意：如有必要，重复离心的步骤，尽量去除乙醇残留。不要搅乱和弃掉管底颗粒。

18. 从FFPE组织切片中提取的总蛋白可进行进行western blot。

**从石蜡组织切片中提取的总蛋白用于western blot实验：**

**用户须自备的设备和试剂：**

一次性手套

台式离心机或微型离心机（转速能达到14000xg）

涡旋混匀器

水浴或者金属浴锅（温度能够达到100°C）

热电搅拌器(Eppendorf,德国)

实验开始前注意事项

使用β-巯基乙醇应在通风橱中操作

**实验开始前注意事项：**

提供的提取缓冲液EXB未加β-巯基乙醇，每次提取过程中添加6μLβ-巯基乙醇到提取94μL的提取缓冲液EXB获得工作液。

**蛋白提取：**

1. 取100μL提取缓冲液EXB(已加入β-巯基乙醇)加入到装有组织的1.5ml的离心管中，涡旋混匀，用密封夹封号



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

离心管。

2. 冰上孵育5min，涡旋混匀。

注意:确定离心管已经被密封好后在进行步骤3。

3. 将离心管放在水浴锅中100°C孵育20min。

4. 使用热电搅拌器，以750rpm速度，80°C，搅拌2h。

5. 然后将离心管放在4°C，1min，去掉密封夹。

6. 将离心管置于离心机中，4°C，14000xg，离心15min。

7. 转移含所提蛋白质的上清液到一个新的1.5毫升的离心管中(提供)。

### 从FFPE组织中提取蛋白—用于双向电或MS分析:

#### 实验开始前注意事项:

提供的提取缓冲液EXB未加 $\beta$ -巯基乙醇。每次提取过程中添加6 $\mu$ L $\beta$ -巯基乙醇到提取94 $\mu$ L的提取缓冲液EXB获得工作液。

#### 流程:

##### 脱蜡:

1. 从同一块组织中切3块10-15 $\mu$ m厚切片。

注意:如果你不确定你的样品中含有多少蛋白质，我们建议使用2个切片，每一个厚度为10 $\mu$ m，面积100平方毫米制备。

2. 把切片在1.5毫升离心管中(提供)。

3. 吸取0.5mL的庚烷到管子中，盖紧管子用力涡旋10s，室温孵育1h(15-25°C)。

4. 加25 $\mu$ L甲醇，扣紧管子，大力涡旋10s。

5. 9000xg离心2分钟。

管底会出现沉淀

6. 小心弃掉上清，在空气中干燥5min。

##### 蛋白提取

7. 取100 $\mu$ L提取缓冲液EXB(已加入 $\beta$ -巯基乙醇)加入到装有组织的1.5mL的离心管中，涡旋混匀，用密封夹封号离心管。

8. 冰浴5min，然后涡旋混匀。

确保离心管密封好再进行步骤9。

9. 将离心管在100°C水浴锅中孵育20min。

10. 使用热电搅拌器，以750rpm速度，80°C，搅拌2h。

11. 然后将离心管放在4°C，1min，去掉密封夹。

在进行12步之前确定密封夹已经被去除。

12. 将离心管置于离心机中，4°C，14000xg，离心15min。转移含所提蛋白质的上清液到一个新的1.5mL的离心管中(提供)。

#### 双向电泳蛋白样品制备:

13. 加400 $\mu$ L甲醇到100 $\mu$ L步骤12所得的蛋白溶液中，扣紧盖子，大力涡旋10s。

14. 9000xg离心10s。

15. 加100 $\mu$ L氯仿，扣紧管子，大力涡旋10s。

16. 9000xg离心10s。

17. 加300 $\mu$ L水，扣紧管子，用力涡旋10s。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

18. 9000xg离心1min。

注意：离心后，样品分为3层：最低层，无色，有机相(氯仿)；中间层含蛋白质；上部，无色，水相。

19. 小心弃掉上层水相。

不要搅乱中间层和底层。

20. 加300 $\mu$ L甲醇，扣紧盖子，大力涡旋。

21. 9000xg离心2min。

22. 小心弃掉上清。

注意:该蛋白是位于管子底部的可见的透明或白色凝胶状沉淀。

23. 加入1mL乙醇到离心管中洗涤沉淀，而后9000xg离心2min，小心弃掉上清。

注意:不要使沉淀干燥

24. 加入适量体积的缓冲液溶解蛋白沉淀用于双向电泳。

根据凝胶尺寸和染色方法，双向电泳分析所需的蛋白质量从50-250 $\mu$ g。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com