

FFPE组织切片总蛋白提取试剂盒（Western Blot & RPA）

产品货号：26914

产品规格：100T/500T

产品概述：

本产品用于从福尔马林固定、石蜡包埋（FFPE）组织切片中提取总蛋白，下游可用于Western blot和RPA（反相蛋白阵列）实验。该试剂盒优化了提取条件，确保从旧FFPE样本或过度固定的组织中获得高效率的全长完整蛋白，提取效率与冷冻组织相当。适用于临床和研究样本的蛋白质组学分析。

产品组成：

试剂名称	100T	500T	保存条件
Buffer EXB 蛋白提取液	12mL	60mL	-20℃
β-巯基乙醇	1mL	5mL	2-8℃，避光

使用说明：

一、样品前处理

样本质量：组织取样后建议尽快固定（4-10%福尔马林，14-24小时）。固定超过24小时或保存数年的陈旧蜡块蛋白产量可能略有下降。

推荐起始量：2-3个10-15μm厚、100mm² 面积切片。蛋白产量因组织类型而异（例如，人结肠~530μg/5切片）。

I. 载玻片FFPE前处理（适用于安装在显微镜载玻片上的切片）

1. 二甲苯脱蜡：将载玻片完全浸没于二甲苯中，室温孵育 10min。重复此步骤 2 次（共 3 次）。
2. 梯度乙醇复水：依次在 100%乙醇、96%乙醇、70%乙醇中各孵育 10min。每种浓度均需重复操作一次。
3. 收集：浸入双蒸水中 30s，敲干余水。用针刮取感兴趣区域组织，转移至 1.5mL 离心管中，立即提取。

II. FFPE石蜡块前处理（适用于直接从FFPE样本块切割的切片）

1. 二甲苯脱蜡：向含切片的管中加入 1mL 二甲苯，剧烈涡旋 10s，孵育 10min。14,000×g 离心 2min，弃上清。重复 2 次（共 3 次）。
2. 梯度乙醇复水：依次在 100%乙醇、96%乙醇、70%乙醇中各孵育 10min。14,000×g 离心 2min，弃上清。重复 2 次（共 3 次）。每种浓度均需重复操作一次。
3. 收集：最后一次离心后，尽可能吸干残留液体，注意勿扰动松散的组织沉淀。

二、总蛋白提取（核心步骤）

1. 配制工作液：每 94μL Buffer EXB 加入 6μL β-巯基乙醇（现用现配）。
2. 裂解：向含组织沉淀的管中加入 100μL 工作液，涡旋混合。（在通风橱中进行）
3. 冰浴预冷：在冰上孵育 15min，然后涡旋混合，期间间歇涡旋。
4. 高温脱交联：使用封口膜或密封夹加固管盖并置于 100℃ 孵育 20min。
注意：务必使用封口膜或密封夹加固管盖，防止高温孵育时爆裂。
5. 持续修复：转移至恒温振荡器，在 80℃ 条件下以 750rpm 震荡孵育 2 小时。
6. 冷却与收集：

① 孵育结束，取出后立即置于 4℃ 环境（或冰上）静置 1min 以平衡压力。

② 移除封口膜或密封夹在 4℃ 下以 14,000×g 离心 15min。

③ 小心收集上清液（即提取的总蛋白）至新管中。

7. 蛋白定量：提取液含高浓度去垢剂和还原剂，严禁使用常规 BCA 法。建议使用商业试剂盒（如 Bradford 蛋白浓度测



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

定试剂盒（去垢剂兼容型）。稀释上清液 1:3-1:100，进行管式或微板测定。

注意事项：

1. 起始材料质量影响产量：固定时间过长（>24 小时）或储存不当会降低效率或条带弥散。
2. 低产量故障排除：检查起始材料量、脱石蜡彻底性；如样本含过多石蜡，用手术刀移除。
3. 蛋白定量：确保使用兼容还原剂的蛋白测定试剂盒进行蛋白定量。
4. 结晶析出：Buffer EXB 低温下可能析出为正常现象，使用时 37°C 复温即可溶解。
5. 安全防护：为了您的安全与健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
6. 科研用途：该试剂仅用于科研领域，不宜用于临床诊断或其他用途。

有效期：

12个月有效。



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