

## 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. 用针划下需要的组织转移到1.5mL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:



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

微型离心机(适合于1.5mL离心管)

涡旋混合器

100%，96%，and 70%(v/v)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10-15 $\mu$ m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6，7。
  10. 加1mL 96%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1mL 70%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14000 $\times$ g）

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 $\beta$ -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 $\beta$ -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。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

### 蛋白提取:

1. 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。
  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 $^{\circ}$ C孵育20min。
  4. 使用热电搅拌器, 以750rpm速度, 80 $^{\circ}$ C, 搅拌2h。
  5. 然后将离心管放在4 $^{\circ}$ C, 1min, 去掉密封夹。
  6. 将离心管置于离心机中, 4 $^{\circ}$ C, 14000 $\times$ g, 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—用于双向电泳或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 $^{\circ}$ C)。
  4. 加25 $\mu$ L甲醇, 扣紧管子, 大力涡旋10s。
  5. 9000 $\times$ g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 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育20min。
  10. 使用热电搅拌器, 以750rpm速度, 80 $^{\circ}$ C, 搅拌2h。
  11. 然后将离心管放在4 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C, 14000 $\times$ g, 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. 9000 $\times$ g离心10s。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>

15. 加100 $\mu$ L氯仿，扣紧管子，大力涡旋10s。

16. 9000 $\times$ g离心10s。

17. 加300 $\mu$ L水，扣紧管子，用力涡旋10s。

18. 9000 $\times$ g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. 9000 $\times$ g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900 $\times$ g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

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>