

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:130888-50

室温运输及保存

**TIANDZ**

## 石蜡包埋组织蛋白提取试剂盒

FFPE Total Protein Extraction Kit

使用手册 V1.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>石蜡包埋组织是很重要的临床材料，研究其正常细胞和疾病相关的细胞，特别是癌细胞中标记蛋白的差异表达水平，对于判断癌化的进展，癌症的类型的判定，以方便于诊断和治疗有重要的意义，然而体外培养的细胞的蛋白差异表达水平并不能够真实反映体内细胞的真实状况，因此从石蜡包埋组织中提取蛋白并且加以研究有很重要的意义，本试剂盒通过特殊的快速脱蜡试剂和蛋白质抽提试剂，在两种不同的温度条件下温育，可以将被铰链的蛋白质释放出来，经过简单的离心步骤，上清中含有的蛋白经过沉淀洗涤和溶解后，可以用于Western Blot、SDS-PAGE、ELISA、2D电泳或蛋白质芯片分析等，本试剂盒可以使用50次左右。本产品有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 不含有去污试剂，适用于非染色的标本。</li> <li>2. 可以适用于甲醛浸泡的组织标本。</li> <li>3. 不需要超速离心，可以同时处理多个标本。</li> </ol>																								
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1" data-bbox="668 938 1272 1397"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>小扁盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>预处理试剂 A</td> <td>130888A</td> <td>100 mL</td> </tr> <tr> <td>预处理试剂 B</td> <td>130888B</td> <td>5 mL</td> </tr> <tr> <td>提取试剂</td> <td>130888C</td> <td>5 mL</td> </tr> <tr> <td>沉淀试剂</td> <td>130888D</td> <td>75 mL</td> </tr> <tr> <td>DTT 干粉</td> <td>130888E</td> <td>80 mg</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>130888sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成分	编号	小扁盒包装	预处理试剂 A	130888A	100 mL	预处理试剂 B	130888B	5 mL	提取试剂	130888C	5 mL	沉淀试剂	130888D	75 mL	DTT 干粉	130888E	80 mg	使用手册	130888sc	1 份
成分	编号	小扁盒包装																							
预处理试剂 A	130888A	100 mL																							
预处理试剂 B	130888B	5 mL																							
提取试剂	130888C	5 mL																							
沉淀试剂	130888D	75 mL																							
DTT 干粉	130888E	80 mg																							
使用手册	130888sc	1 份																							
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>常温下运输和保存，但 DTT 和提取试剂需要 4℃ 保存，盛装预处理试剂 A 的瓶子已经密封，请在使用后，将剩余的预处理试剂 A 倒入一个有内盖的瓶中，同时盖紧内外盖，以防止挥发。盛装预处理试剂 A、B 和沉淀试剂的瓶盖要盖紧，同时避免火源。</p>																								
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>超纯水</p>																								
<p><b>使用方法</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 取两块大约 10-15 μm 厚，100 mm<sup>2</sup> 石蜡包埋组织切片到 1.5 mL 的干净离心管中，加入 1 mL 预处理试剂 A，高速涡悬震荡 30 sec，室温静置 5 min，期间偶尔颠倒离心管数次。</li> <li>2. 加入 100 μL 预处理试剂 B，涡悬震荡 10 sec，再 10000 rpm (10000 g) 离心 2 min，移去上下两层的液体。</li> </ol>																								

	<ol style="list-style-type: none"> <li>3. 用500 <math>\mu</math>L的超纯水清洗脱蜡的组织两次，离心并尽量吸去液体，保留组织块沉淀。</li> <li>4. 加入100<math>\mu</math>L提取试剂（用前需要将DTT全部加入到装提取试剂的瓶中，摇晃混匀，未用完的提取试剂需要4<math>^{\circ}</math>C放置），盖上盖子，涡悬震荡数秒。</li> <li>5. 在水浴锅中100<math>^{\circ}</math>C加热20 min，短暂离心一下，再用组织研磨棒将切片组织磨碎。</li> <li>6. 在水浴锅中60<math>^{\circ}</math>C加热2 hour，期间大约每20 min取出，震荡一次。</li> <li>7. 4<math>^{\circ}</math>C，12000 rpm（12830 g）离心15 min，小心将上清转移到一个新的1.5 mL 的干净离心管中。注意：在上清中的蛋白质可以在4<math>^{\circ}</math>C的环境条件下保存一个星期，如果需要长期保存，请放置在-20<math>^{\circ}</math>C的环境中，同时避免反复冻溶，也可以使用我公司生产的非干扰型蛋白浓度测定试剂盒对上清中的蛋白质直接定量。</li> <li>8. 加入1 mL 的沉淀试剂，涡悬震荡10 sec，在4<math>^{\circ}</math>C的环境中保持10 min。</li> <li>9. 4<math>^{\circ}</math>C，12000 rpm离心15 min，去除上清，保留沉淀。</li> <li>10. 加入0.5 mL的沉淀试剂，涡悬震荡10 sec，在4<math>^{\circ}</math>C的环境中保持10 min，再4<math>^{\circ}</math>C，12000 rpm离心15 min，去除上清，保留沉淀，在通风橱中将试管倒置在滤纸上，让残余的液体挥发干净。</li> <li>11. 将固体沉淀溶解于合适的自备的缓冲液中，再4<math>^{\circ}</math>C，12000 rpm 离心5 min，收集上清，用于SDS-PAGE，Western blot等实验。注意：此上清中含有DNA，RNA 残留，所以溶液有些发粘，加入少量的micrococcal nuclease, benzonase 等消化，有助于减少粘性，但是即使不处理一般不会影响后续实验，用枪头将沉淀捣碎。建议使用含有Thiourea，Urea，NDSB-201 或其它强溶解能力的去污试剂的缓冲液有利于沉淀的完全溶解。</li> </ol>
<p><b>注意事项</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 为提高石蜡包埋组织中蛋白质的回收效率，必须尽量减少在切片制作过程中甲醛固定时间，同时在石蜡包埋前彻底脱水， 甲醛固定的时间越长，蛋白质的提取回收效率越低。</li> <li>2. 尽量取用从石蜡包埋组织块中切取的薄片，或没有封闭到载玻片上的没有经过苏木精等染色的切片。</li> <li>3. 材料越新鲜或甲醛固定时间越短，蛋白质的回收效率越高。</li> </ol>

	<ol style="list-style-type: none"><li>4. 提取试剂中含有含有刺激性的化合物，操作时要戴好乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，防止吸入口鼻，沾染皮肤 眼睛后，立即用清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医生的帮助。</li><li>5. 对于甲醛浸泡的组织样本，每次可以取5-10 mg的组织样本，用双蒸水洗涤离心收集后后，直接从步骤4开始操作。</li><li>6. 提取的蛋白沉淀如果用于ELISA、RIA等免疫实验，可能需要先进行抗原修复程序，但是如果用Western Blot或Dot blot实验，一般情况下没有必要。</li><li>7. 本试剂盒只能够用于体外实验，不能够用于临床、治疗和动物体内实验等，由此产生的后果概不承担责任</li></ol>
<b>关联产品</b>	石蜡包埋组织DNAout (CAT#70502)