

甲醛固定组织蛋白提取试剂盒

货号：EX1310

规格：50T/100T

有效期：室温保存，有效期一年。

产品内容：

名称	50T	100T	储存条件
试剂 A：蛋白提取液 A	25ml	50ml	室温保存
试剂 B：蛋白提取液 B	250ul	500ul	

注：

1. 有效期为试剂盒未拆封前按要求条件保存的有效期。
2. 试剂拆封后请尽快使用完！

产品简介：

甲醛固定组织蛋白提取试剂盒适用于从各种经甲醛固定的组织样本中提取总蛋白，提取过程简单方便，提取的蛋白可用于Western Blotting、蛋白质电泳、免疫共沉淀等下游蛋白研究。

本试剂盒提取的蛋白样本含有高浓度的盐成分，不可直接用于2D电泳，也可以将最后样品用脱盐柱除盐后再用于2D电泳。

自备试剂和仪器

离心机、振荡器、匀浆机/匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒，PBS缓冲液、蛋白定量试剂盒，离心管、吸头、一次性手套

使用方法：

一、使用注意事项：

1. 正式实验前请选取几个样本做预实验，以优化实验条件，取得最佳实验效果
2. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖和管内壁上的液体离心至管底，避免开盖时试剂损失。
3. 注意低丰度蛋白的检测方法。
4. 离心机转速有相对离心力（RCF，×g）和每分钟转速（RPM，r/min）两种表示方式，有些离心机设置有RPM和×g显示切换，但部分离心机没有自动切换功能。需要用下面的公式进行换算： $g=r \times 1.118 \times 10^{-5} \times rpm^2$ （r为有效离心半径，即从离心机轴心到离心收集管底部中心位置的长度，单位为厘米）例如：转速为3000rpm，有效离心半径为10cm，则相对离心力（RCF，×g）为 $=10 \times 1.118 \times 10^{-5} \times 3000^2=1006.2$ （×g）。
5. 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
6. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。

二、操作步骤

1.提取液制备：

每500 μ l蛋白提取液A中加入5 μ l蛋白提取液B，混匀后备用。

2.将组织样品用手术剪刀剪碎，每100mg样本中加入500 μ l蛋白提取液，涡旋振荡10秒。

3.在恒温器（Heat Block）或水浴锅中100 $^{\circ}$ C保温20分钟。

4.涡旋振荡10秒混匀。

5.在恒温器（Heat Block）或水浴锅中60 $^{\circ}$ C保温1-2小时。

6.涡旋振荡10秒混匀。

7.在12000 \times g条件下离心15分钟。

8.将上清吸入另一干净离心管，即可得到总蛋白。

9.将上述蛋白提取物定量后分装保存备用或直接用于下游实验。

常见问题分析：

①提蛋白浓度低？

固定组织的蛋白质回收率在30%左右。

需要加大组织上样量，调整提取液用量来调整蛋白浓度。

②WB做不出来？

固定组织的蛋白质回收率较低，一般在30%左右。低丰度蛋白通常较难检出。

甲醛固定的蛋白质末端基团与甲醛之间形成交联链，各种氨基，亚氨基及酰氨基，肽，胍基，羟基，SH和芳香环等都会参与甲醛固定蛋白质的基团反应，在这个过程中，绝大部分常规的暴露抗原决定基团遭到破坏，通常从甲醛固定石蜡包埋的样本回收的蛋白质做WB成功的概率较低，最好选用抗体说明书上同时可以做WB和IHC应用的抗体。

注意事项：

1. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。

2. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。

3. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。

4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。