天净沙系列

CAT#:930888

常温运输及保存

天净沙

# 石蜡包埋切片蛋白提取试剂盒

## Paraffin-Embedded Sections Protein Extraction Kit

## 使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

## 产品及特点

石蜡包埋组织切片是很重要的临床材料，常用于研究正常细胞和疾病相关的细胞，特别是研究癌细胞中标记蛋白的差异表达水平，后者对于诊断癌化进展、癌症类型的判定、癌症的治疗均有重要的意义。同时，医院一般有大量的临床样品的石蜡包埋组织切片，它们是宝贵的、现成的样本库。从中提取出蛋白和核酸，并跟临床数据对比，可以提供极其重要的病理相关信息。本试剂盒就是专门用于从石蜡包埋组织切片中快速提取总蛋白质的试剂，它具有下列特点：

1. 即开即用，简单快捷。
2. 可以适用于甲醛固定的组织切片，也可用于冰冻切片，产量范围在1-4 mg/mL（取决于不同种类切片的材料）。
3. 不需要使用有毒的二甲苯脱蜡。
4. 不需要超速离心，可以同时处理多个标本。
5. 所得蛋白提取液可以用于Western Blot、SDS-PAGE、ELISA、2D电泳、蛋白质芯片分析或LC-MS（液相色谱质谱联用）等。
6. 本试剂盒可以使用50次，每次可以处理5张10 μM厚的石蜡包埋切片。
7. 本试剂盒重复性好。
8. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品采购小扁盒包装

| 成分 | 编号 | 规格 | 包装材料 |
|---|---|---|---|
| 石蜡去除剂溶液 A | 230326a | 100 mL | 125 mL 本色瓶 |
| 石蜡去除剂溶液 B | 230326b | 7.5 mL | 10 mL 本色瓶 |
| FFPE 切片蛋白抽提液 | 930888a | 7.5 mL | 10 mL 本色瓶 |
| DTT 干粉 | 27565-41-9 | 30 mg | 0.5 mL 本色管 |
| PMSF 溶液（0.2M） | 6-2628 | 100 μL | 0.5 mL 蓝色盖 |
| 微型研磨杵 | 930888b | 50 只 | 塑料袋 |
| 使用手册 | 930888sc | 1 份 | 1 份 |

## 运输及保存

常温运输及保存，但 DTT 和 PMSF 溶液需要 4℃保存，石蜡去除剂溶液 A 和溶液液 B 容易挥发，请在使用后盖紧。

## 自备试剂

超纯水，无水乙醇、95%乙醇、70%乙醇

## 使用方法

第一次使用时，请将DTT干粉和PMSF溶液全部加入到FFPE切片蛋白抽提液中，轻柔颠倒混匀后再使用，未用完的需要-20℃保存。

1. 取5张10 μM厚的石蜡包埋组织切片转移到2 mL的干净离心管中。

| | |
|---|---|
| | 2. 加入 2 mL 石蜡去除剂溶液 A，以最大速度在涡旋振荡仪上振荡 10 秒。<br>3. 加入 150 μL 石蜡去除剂溶液 B，在涡旋振荡仪上振荡 10 秒（步骤 2.3 所用试剂为天净沙试剂盒 230326 提供）。<br>4. 室温 7,000×g 离心 2 分钟，溶液将形成两个相，其中 FFPE 组织切片位于下相，小心吸弃上层液体（含石蜡）。<br>5. 在下层中（含切片）加入自备的无水乙醇1 mL，静置1分钟，12,000×g离心2分钟，吸去液体，保留切片沉淀。<br>6. 加入自备的95%乙醇1 mL，静置1分钟，12,000×g离心2分钟，吸去液体，保留切片沉淀。<br>7. 加入自备70%乙醇1 mL，静置1分钟，12,000×g离心2分钟，吸去液体，保留切片沉淀。<br>8. 打开盖子，空气中晾干2分钟。<br>9. 用本试剂盒提供的微型研磨杵研磨3分钟。<br>10. 在管中加入150 μL FFPE切片蛋白抽提液，可以用抽提液洗涤下研磨杵上的残留的样品，盖上盖子，涡旋震荡数秒。<br>11. 将管置于冰上5分钟后，涡旋数秒震荡混匀。<br>12. 用超声处理3分钟。如果没有超声仪，此步可跳过。<br>13. 在金属浴或水浴锅中98℃加热20分钟，高速涡旋震荡30秒。<br>14. 在金属浴或水浴锅中80℃加热2小时，期间大约每20分钟取出，高速涡旋震荡一次。<br>15. 常温14,000×g离心10分钟，小心将上清转移到一个新的1.5 mL的干净离心管中。所得上清为总蛋白溶液，可立即用于 SDS-PAGE、Western blot 等后续实验，如果暂时不用则放置在-80℃保存。 |
| **注意事项** | 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。<br>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。<br>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。<br>4. 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，直接从步骤2开始操作。<br>5. 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 BCA 蛋白浓度测定、Western Blot 或 Dot blot 等实验，一般情况下没有必要进行抗原修复。 |

| | |
|---|---|
| **关联产品** | 细胞核-细胞浆蛋白提取试剂盒（溶胀法） |