天净沙系列

CAT#:7-EX1.14.14.88

常温运输及保存

天净沙

# 异黄酮 3'-羟化酶抽提试剂盒

# Isoflavone 3'-Hydroxylase Extraction Kit

## 使用手册 V0.51

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

本产品为异黄酮 3'-羟化酶抽提试剂盒，本产品主要用于从各种样本中抽提异黄酮 3'-羟化酶，它具有以下特点：

1. 本产品即开即用，操作简单便捷。
2. 所得抽提物可直接用于酶活性检测。
3. 足够进行 100 次微量抽提，每次可以处理 1E6 个细胞。
4. 起始材料可以是培养细胞，实体动物植物组织，培养或分离的微生物。
5. 本产品的基于抽提大肠杆菌异黄酮 3'-羟化酶开发，如果所研究的酶的理化特性与之相差较大，可联系本公司定做提取试剂。
6. 液体样本可以直接用于酶活性测定，不需要本试剂盒处理。
7. 本产品只能用于科研。

## 规格及成分

本产品使用大立盒包装

| 成分 | 编号 | 规格 | 包装 |
|---|---|---|---|
| 异黄酮 3'-羟化酶抽提液 | 7-EX1.14.14.88 | 100 T | 250 mL 本色瓶 |
| 使用手册 | 7-EX1.14.14.88sc | 1 份 | 无 |

## 运输及保存

常温运输及保存，有效期一年。

## 自备物品

PBS，细胞/组织样品。

## 使用流程

**一、起始材料预先处理**

1. 对贴壁细胞：吸尽培养液，PBS 洗涤两次，吸弃 PBS。在每 10 平方厘米细胞中加入 0.1 mL 异黄酮 3'-羟化酶抽提液，用刮刀刮入离心管中放冰上待用。建议在显微镜下观察并计算，方便后续计算裂解效率。
2. 对悬浮细胞：离心收集细胞，用 PBS 洗涤两次，吸尽液体。在每 1E6 细胞中加入 0.1 mL 异黄酮 3'-羟化酶抽提液，重悬后放冰上待用。建议在显微镜下观察并计算，方便后续计算裂解效率。
3. 对于实体组织：先将剪切成小块（芝麻大小）的新鲜组织，每 50-100 mg 组织加 0.5 mL 异黄酮 3'-羟化酶抽提液，放冰上待用。
4. 对培养的微生物：离心 1 mL 培养液收集菌体，加入 0.1 mL 异黄酮 3'-羟化酶抽提液，重悬后放冰上待用。

**二、剪切式匀浆机匀浆法裂解细胞（只适合培养细胞和实体组织）**

5. 需要将样本转入到 5-15 mL 离心管中。
6. 用剪切式匀浆机匀浆 1 分钟。

| | |
|---|---|
| | 7. 将匀浆液转移到离心管中，放冰上待用。<br>8. 对培养细胞，可在显微镜下观察并计数，跟裂解前的计数比较即得细胞裂解率。细胞裂解率需要达到 80%以上方可进入收集提取液步骤，，否则需要重复匀浆步骤。<br>**三、Dounce 玻璃匀浆器匀浆（只适合提取培养细胞中位于细胞浆中的酶）**<br>9 . 将样本转移到 Dounce 玻璃匀浆器中。<br>10. 用匹配的玻璃匀浆棒匀浆 1 分钟。<br>11. 将匀浆液转移到离心管中，放冰上待用。<br>12. 建议在显微镜下观察，确保 80%以上的细胞裂解。<br>13. 可在显微镜下观察并计数，跟裂解前的计数比较即得细胞裂解率。细胞裂解率需要达到 80%以上方可进入收集提取液步骤，否则需要重复匀浆步骤。<br>**四、冻融法裂解细胞（适合各种样本形态）**<br>14. 将样本放-20℃或更低温度，直到样本冻凝。一般需要 20 分钟左右。<br>15. 将离心管置于室温融化。<br>16. 再重复上面两步两次。<br>17. 样本放冰上待用。<br>18. 对培养细胞和培养的微生物，可在显微镜下观察并计数，跟裂解前的计数比较即得细胞裂解率。细胞裂解率需要达到 80%以上方可进入收集提取液步骤，，否则需要重复匀浆步骤。<br>**五、收集抽提液**<br>19 .以 14,000×g 低温离心 5 分钟。<br>20. 将上清液转移到新试管中即得含酶的抽提液，可直接用于酶活性测定。<br>21. 未用完的含酶抽提液必须加入甘油，使甘油终浓度为 25%（含酶抽提液和甘油的比例为 3:1），放-20℃或更低温度，有效期随酶的不同而不同。 |
| **关联产品** | 异黄酮 3'-羟化酶活性检测试剂盒 |