

甲醛固定组织蛋白提取试剂盒

货号: EX1311

规格: 50T/100T

保存: 2-8℃保存, 有效期为 12 个月。

试剂盒组成	50T	100T	保存温度
试剂 A: 蛋白提取液	15ml	30ml	2-8℃
试剂 B: 蛋白沉淀试剂	18.75ml	37.5ml	2-8℃
试剂 C: 蛋白溶解试剂	15ml	30ml	2-8℃

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

试剂 B, 无水乙醇是需要单独加(自备), 如 50T 需单独加 56.25ml 的无水乙醇, 100T 需单独加 112.5ml 的无水乙醇。

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. 实验过程中的所有试剂须预冷; 所有器具须放-20℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
4. 蛋白酶抑制剂储存期间溶液如果出现沉淀, 不影响使用, 溶解后正常使用。
5. 如果试剂盒不能短时间内用完, 蛋白酶抑制剂混合物不可以一次全部加入提取液。
6. 可以根据自己实验需要加入其它蛋白酶抑制剂单品。
7. 下游实验如果是进行特定蛋白酶或磷酸酶的酶活性检测, 提取液可以不加蛋白酶抑制剂或磷酸酶抑制剂, 注意提取过程保持低温操作, 缩短离心时间。
8. 禁止与其他品牌的试剂混用, 否则会影响使用效果。
9. 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。

操作步骤:

1. 称取 50mg 左右甲醛浸泡过的组织样品。500 μl 高压水清洗两次组织。

2. 加入 250 μ l 试剂 A, 使用研磨杵, 或匀浆器研磨均匀。涡旋振荡 10 秒混匀。
3. 在水浴锅中 100 $^{\circ}$ C 加热温 20min。涡旋振荡 10 秒混匀。
4. 在恒温器(Heat Block)或水浴锅中 60 $^{\circ}$ C 保温 1-2 小时。涡旋振荡 10 秒混匀。
5. 4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 15 分钟, 将上清吸入另一干净离心管。加入 1ml 试剂 B, 涡旋振荡 10 秒, 4 $^{\circ}$ C 静置 10min。
8. 4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 15 分钟, 弃上清, 留沉淀。
9. 再加入 0.5ml 试剂 B, 涡旋振荡 10 秒, 4 $^{\circ}$ C 静置 10min。4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 15 分钟, 弃上清, 留沉淀。
10. 加入 250 μ l 试剂 C 充分溶解后, 加入上样缓冲液 100 $^{\circ}$ C 加热 10min。4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 2 分钟, 收集上清。
14. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用或直接用于下游实验。

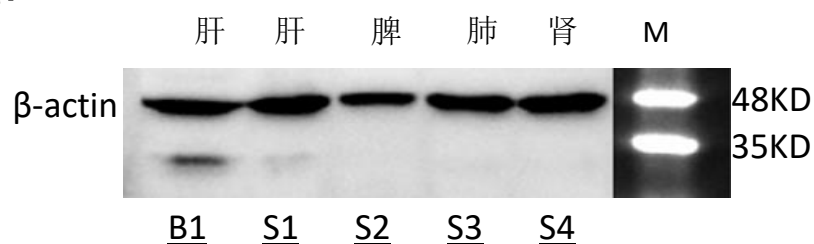
注:

- ①蛋白浓度低? 处理部分组织样本时可能没有裂解完全, 导致蛋白浓度低。只要适当延长试剂 A 的处理时间即可。没有振荡器也可间隔几分钟用吸头吹打混匀。
- ②用什么方法定量蛋白? 建议用 BCA 法。不适合用 Bradford 法, 因为试剂 A 中含有干扰 Bradford 法的组份, 导致定量不准。如果已经进行过透析处理或者用脱盐柱改换过缓冲体系, 则可以用 Bradford 法定量。
- ③提取的蛋白具有活性吗? 裂解液和沉淀液不含有离子型去垢剂组份, 不破坏蛋白的结构, 溶解试剂含有低浓度变性剂成分, 如果需要活性蛋白, 建议最终采用 PBS 进行溶解, 离心取上清部分即为天然构象活性蛋白。

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

实验数据:



Western blot analysis with β -actin antibody diluted at 1:2000;
Lane: B1 B company, S1 Solarbio, S2 Solarbio, S3 Solarbio, S4 Solarbio.

相关产品:

- R0020 普通 RIPA 裂解液(组织/细胞)
- PR1910 彩虹 180 广谱蛋白 Marker (11-180KD)
- PC0020 BCA 蛋白浓度测定试剂盒
- P1020 1 \times PBS 缓冲液(pH7.2-7.4)
- P10405 5 \times 蛋白上样缓冲液 (含 DTT)