

内质网提取试剂盒（超高速）

货号：EX1370

保存：2-8° C 保存，一年有效

产品简介：

内质网存在于除哺乳动物成熟的红细胞外的各种真核细胞中。内质网为由生物膜构成的互相通连的片层隙状或小管状系统，膜片间的隙状空间称为池，通常与细胞外隙和细胞浆基质之间不直接相通。这种细胞内的膜性管道系统一方面构成细胞内物质运输的通路，另一方面为细胞内各种各样的酶反应提供广阔的反应面积。内质网的功能与蛋白质的合成、糖类和脂类的合成、解毒、同化作用有关，并且还具有运输蛋白质的功能。

内质网提取试剂盒可用于各种动物细胞和组织样本的完整内质网提取，也可以用于下游内质网蛋白提取等实验。

产品组成：

产品组分	50T	100T	储存条件
试剂 A：内质网提取液 A	50mL	100mL	2-8° 保存
试剂 B：内质网提取液 B	25mL	50mL	2-8° 保存
试剂 C：内质网保存液	20mL	40mL	2-8° 保存

注：提取液长期不用时置于-20℃保存，4℃保存有效期2周。

需自备试剂及设备

离心机、振荡器、匀浆机/匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒、1xPBS 缓冲液、离心管、吸头、一次性手套、细胞筛

产品使用（仅供参考）：

1. 旋帽离心管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体甩至管底，避免开盖时液体洒落。
2. 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。
3. 最好使用 Dounce 匀浆器匀浆，如果没有 Dounce 匀浆器，用普通 1ml 玻璃匀浆器匀浆也可，但是内质网回收率可能会下降。
4. 要求离心力 50000g 的离心，没有条件的话可以采用 30000g -50000g 离心力，最好能达到 45000g 左右。最小离心力需要保证 30000g。
5. 如果需要回收所有光面内质网小泡，最后一个离心步骤的离心力需要提高到 100000g 力。

细胞内质网提取：

1. 取 $1-2 \times 10^7$ 个细胞，在 4°C ， 500g 条件下离心 5 分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞。
2. 用冷 PBS 洗涤两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
3. 加入 $500\ \mu\text{l}-1\ \text{ml}$ 冷的试剂 A，置冰上 10 分钟。
4. 用 Dounce 匀浆器匀浆 30-40 下。
5. 将匀浆液在 4°C ， 1000g 力条件下离心 5 分钟。弃沉淀，收集上清。
6. 将上清在 4°C ， 11000g 力条件下离心 10 分钟，弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4°C ， 50000g 力条件下离心 45 分钟。弃上清，收集沉淀。
8. 在沉淀中加入 $400\ \mu\text{l}$ 冷的试剂 B，混匀。
9. 在 4°C ， 50000g 力条件下离心 45 分钟。
10. 弃上清，沉淀用内质网保存液重悬。
11. 即得到内质网样品，置冰箱备用或直接用于下游实验。

组织内质网提取：

1. 取 $50\ \text{mg}-100\ \text{mg}$ 新鲜动物组织样本，用 PBS 洗涤干净。
2. 用剪刀尽可能剪碎，用冷 PBS 洗涤两次。
3. 加入 $500\ \mu\text{l}-1\ \text{ml}$ 冷的试剂 A，置冰上 10 分钟。
4. 用 Dounce 匀浆器充分匀浆 30-40 下，至无明显固体团块。然后在 4°C ， 1000g 力条件下离心 5 分钟。
5. 将上清吸入另一预冷的干净离心管。
6. 在 4°C ， 11000g 力条件下离心 10 分钟，弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4°C ， 50000g 力条件下离心 45 分钟。弃上清，收集沉淀。
8. 在沉淀中加入 $400\ \mu\text{l}$ 冷的试剂 B，混匀。
9. 在 4°C ， $50000 \times \text{g}$ 力条件下离心 45 分钟。
10. 弃上清，沉淀用内质网保存液重悬。
11. 即得到内质网样品，置冰箱备用或直接用于下游实验。

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) 禁止与其他品牌的试剂混用，否则会影响使用效果。
- (4) 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。
- (5) 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。
- (6) 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。