

溶酶体提取试剂盒

货号: EX2670

规格: 50T/100T

有效期: 2-8°C保存, 有效期一年。

产品内容:

名称	50T	100T	储存条件
组分 A: 溶酶体提取液 A	25ml	50ml	2-8°C保存
组分 B: 溶酶体提取液 B	25ml	50ml	2-8°C保存
组分 C: 溶酶体保存液 C	20ml	40ml	2-8°C保存

注:

1. 提取液长期不用时置于-20°C保存。
2. 试剂拆封后请尽快使用完!

产品简介:

溶酶体是由一层单位膜包围, 内含多种酸性水解酶的泡状结构。溶酶体含有40多种水解酶, 其中包括蛋白酶、核酸降解酶和糖苷酶等。其主要功能是对细胞内物质的消化作用。此外溶酶体与器官形成、激素分泌的调节以及某些疾病的发生密切相关。

溶酶体提取试剂盒可用于各种动物细胞和实体软、硬组织样本的溶酶体提取。提取的溶酶体具有生物活性, 可以用于溶酶体功能研究、溶酶体染色、溶酶体蛋白提取等各种下游应用。

自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒, PBS缓冲液、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. 实验过程中的所有试剂须预冷; 所有器具须放-20°C冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
4. 最好使用标准Dounce匀浆器匀浆, 如果没有标准Dounce匀浆器, 用普通1ml玻璃匀浆器匀浆也可, 但是溶酶体回收率会下降。
5. 若实验室离心机较小达不到30000×g离心力, 或者离心管质量不能承受30000×g离心力, 请使用能达到的最大离心力。

二、细胞溶酶体提取:

1. 取 $1-2 \times 10^7$ 个细胞, 在 4°C, 500×g 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 400 μ l 冷的试剂 A，置冰上静置 10 分钟。
4. 用 Dounce 匀浆器匀浆 30-40 下。
5. 匀浆液在 4 $^{\circ}$ C，1000 \times g 条件下离心 5 分钟。弃沉淀，收集上清。
6. 将上清在 4 $^{\circ}$ C，3000 \times g 条件下离心 10 分钟。弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4 $^{\circ}$ C，5000 \times g 条件下离心 10 分钟。弃沉淀，收集上清。
8. 将上清在 4 $^{\circ}$ C，20000-30000 \times g 条件下离心 20 分钟。弃上清，收集沉淀。
9. 在沉淀中加入 400 μ l 冷的试剂 B，混匀。
10. 在 4 $^{\circ}$ C，20000-30000 \times g 条件下离心 20 分钟。弃上清，收集沉淀。
11. 沉淀用溶酶体保存液 C 重悬。
12. 即得到溶酶体样品，置冰箱保存备用或直接用于下游实验。

三、组织溶酶体提取：

1. 取 50-100mg 新鲜动物组织样本，用 PBS 清洗干净。
2. 用手术剪刀尽可能剪碎，用冷 PBS 洗涤两次。
3. 加入 400 μ l 冷的试剂 A，置冰上静置 10 分钟。
4. 用 Dounce 匀浆器匀浆 30-40 下。
5. 匀浆液在 4 $^{\circ}$ C，1000 \times g 条件下离心 5 分钟。弃沉淀，收集上清。
6. 将上清在 4 $^{\circ}$ C，3000 \times g 条件下离心 10 分钟。弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4 $^{\circ}$ C，5000 \times g 条件下离心 10 分钟。弃沉淀，收集上清。
8. 将上清在 4 $^{\circ}$ C，20000-30000 \times g 条件下离心 20 分钟。弃上清，收集沉淀。
9. 在沉淀中加入 400 μ l 冷的试剂 B，混匀。
10. 在 4 $^{\circ}$ C，20000-30000 \times g 条件下离心 20 分钟。弃上清，收集沉淀。
11. 沉淀用溶酶体保存液 C 重悬。
12. 即得到溶酶体样品，置冰箱保存备用或直接用于下游实验。

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。
5. 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。