

高尔基体提取试剂盒

货号：EX1360

保存：2-8°C保存，一年有效

产品简介：

高尔基体（Golgi apparatus, Golgi bodies）是由许多扁平的囊泡构成的以分泌为主要功能的细胞器。又称高尔基器或高尔基复合体；高尔基体是由数个扁平囊泡堆在一起形成的高度有极性的细胞器。常分布于内质网与细胞膜之间，呈弓形或半球形，凸出的一面对内质网称为形成面（forming face）或顺面（cis face）。凹进的一面对质膜称为成熟面（mature face）或反面（trans face）。顺面和反面都有一些或大或小的运输小泡，在具有极性的细胞中，高尔基体常大量分布于分泌端的细胞质中。因其看上去极像滑面内质网，因此有科学家认为它是由滑面内质网进化而来的。

高尔基体中的酶主要有糖基转移酶、磺基-糖基转移酶、氧化还原酶、磷酸酶、蛋白激酶、甘露糖苷酶、转移酶和磷脂酶等不同的类型。高尔基体的主要功能将内质网合成的蛋白质进行加工、对比分类、与包装，然后分门别类地送到细胞特定的部位或分泌到细胞外。

本试剂盒可用于各种动物细胞和新鲜实体软、硬组织样本以及冻存样本的高尔基体提取。新鲜组织提取得到的高尔基体具有完整生物活性，可以用于高尔基体功能研究、蛋白提取等各种下游应用。

产品组成：

产品组分	50T	100T	储存条件
试剂 A：高尔基体提取液 A	25mL	50mL	-20°C 保存
试剂 B：高尔基体提取液 B	25mL	50mL	-20°C 保存
试剂 C：试剂 WT	1mL	1mL	2-8°保存
试剂 D：高尔基体保存液	20mL	40mL	2-8°保存

注：提取液长期不用时置于-20°C保存，4°C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、
1×PBS 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°C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，但是高尔基体回收率可能会下降。

细胞高尔基体提取：

1. 取 $1-2 \times 10^7$ 个细胞，在 4°C ， $500 \times g$ 条件下离心 2-3 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 $500\mu\text{l}$ 冷的试剂 A 重悬细胞，置冰上 10 分钟。
4. 用 Dounce 匀浆器充分匀浆几分钟。
5. 将匀浆液在 4°C ， $1000 \times g$ 条件下离心 5 分钟。
6. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，弃沉淀。
7. 将上清在 4°C ， $3000 \times g$ 条件下离心 10 分钟。
8. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，弃沉淀。
9. 将上清在 4°C ， $5000 \times g$ 条件下离心 10 分钟。
10. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，弃沉淀。
11. 在上清中加入 $10\mu\text{l}$ 试剂 WT。
12. 在 4°C ， $20000 \times g$ 条件下离心 20 分钟。弃上清，留沉淀。
13. 在沉淀中加入 $500\mu\text{l}$ 冷的试剂 B，轻轻混匀。
14. 在 4°C ， $20000 \times g$ 条件下离心 30 分钟。
15. 弃上清，沉淀用高尔基体保存液重悬。
16. 即得到高尔基体样品，置冰箱备用或直接用于下游实验。

组织高尔基体提取：

1. 取 50 mg -100 mg 新鲜动物组织样本，用 PBS 洗涤干净。
2. 用手术剪刀尽可能剪碎，用冷 PBS 洗涤两次。
3. 加入 $500\mu\text{l}$ 冷的试剂 A，置冰上 10 分钟。
4. 用 Dounce 匀浆器充分匀浆几分钟。
5. 将匀浆液在 4°C ， $1000 \times g$ 条件下离心 5 分钟。
6. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，弃沉淀。
7. 将上清在 4°C ， $3000 \times g$ 条件下离心 10 分钟。
8. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，弃沉淀。
9. 将上清在 4°C ， $5000 \times g$ 条件下离心 10 分钟。
10. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，弃沉淀。
11. 在上清中加入 $10\mu\text{l}$ 试剂 WT。
12. 在 4°C ， $20000 \times g$ 条件下离心 20 分钟。弃上清，留沉淀。
13. 在沉淀中加入 $500\mu\text{l}$ 冷的试剂 B，轻轻混匀。
14. 在 4°C ， $20000 \times g$ 条件下离心 30 分钟。
15. 弃上清，沉淀用高尔基体保存液重悬。
16. 即得到高尔基体样品，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。