



## 高尔基体蛋白提取试剂盒

货号: EX1241

规格: 50T/100T

保存: 2-8°C保存, 复检期为 12 个月。

### 产品内容:

名称	50T	100T
溶液 A	50ml	100ml
溶液 B	1mL	2ml
高尔基体蛋白提取液 C	12ml	24ml
蛋白酶抑制剂混合物	600 $\mu$ l	1200 $\mu$ l
PMSF	120 $\mu$ l	240 $\mu$ l
说明书	1 份	1 份

### 注:

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以 2-8°C 储存。开盖使用后 -20°C 储存。
2. 蛋白酶抑制剂在 2-8°C 低温时是固体状态, 从冰箱取出后恢复至室温或 37°C 短时间水浴, 变成液体状态后离心至管底部再开盖。
3. 试剂拆封后请尽快使用完!

### 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。

本试剂盒中含有蛋白酶抑制剂混合物、蛋白磷酸酶抑制剂混合物等, 阻止了蛋白酶对蛋白的降解, 为提取高纯度的蛋白提供了保证, 提取的蛋白可用于 Western Blotting、蛋白质电泳、免疫沉淀等下游蛋白研究实验。

### 操作步骤:

1. 取 100mg 左右新鲜动物组织样本或  $10^7$ - $10^8$  个细胞, 用 PBS 洗涤干净, 加入 400 $\mu$ l 溶液 A, 置冰上 10 分钟。

**注：每 400μl 溶液 A 使用前需要加入 4μl 蛋白酶抑制剂混合物混匀后使用。**

2. 用玻璃匀浆器/组织研磨仪破碎组织，4°C，1000×g 条件下离心 5 分钟。
3. 弃沉淀，将上清吸入另一预冷的干净离心管，4°C，3000×g 条件下离心 10 分钟。
4. 弃沉淀，将上清吸入另一预冷的干净离心管，在上清中加入 10 μl 溶液 B，4°C，20000×g 条件下离心 20 分钟。
5. 弃上清，在沉淀中加入 500μl 溶液 A，混匀，4°C，20000×g 条件下离心 30 分钟，弃上清，收集沉淀，即为高尔基体。
6. 在沉淀中加入 100-200 μl 高尔基体蛋白提取液 C，吹打混匀后，4°C 条件下放置 20-30 分钟，4°C，10000-14000×g 条件下离心 10 分钟。

**注：200μl 高尔基体蛋白提取液 C 中加入 2μl PMSF、2μl 蛋白酶抑制剂混合物混匀后使用。**

7. 将上清吸入干净离心管中，即可得到高尔基体蛋白样品。

#### **注意事项：**

1. 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。
2. 实验过程中的所有试剂须预冷，整个过程须保持样品处于低温。
3. 蛋白酶抑制剂混合物和 PMSF 在使用时都需要混匀，如果试剂盒不能短时间内用完，蛋白酶抑制剂混合物和 PMSF 不可以一次全部加入提取液。
4. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。

#### **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×PBS 缓冲液(pH7.2- 7.4)
- P1040 5×蛋白上样缓冲液 (含 DTT)