

## 内质网提取试剂盒（低速离心法）

货号：EX2690

规格：50T/100T

有效期：2-8℃保存，有效期一年。

### 产品内容：

名称	50T	100T	储存条件
组分 A：内质网提取液 A	25ml	50ml	2-8℃保存
组分 B：内质网提取液 B	10ml	20ml	2-8℃保存

### 注：

1. 有效期为试剂盒未拆封前按要求条件保存的有效期。
2. 试剂拆封后请尽快使用完！

### 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连通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。

传统的内质网提取方法需要采用较高的离心力或者采用密度梯度离心，对实验室离心机设备要求较高，对实验的操作细致程度要求较高。如果实验室没有能达到50000×g以上的离心力的设备，则没法进行提取。索莱宝内质网提取试剂盒（低速离心法）只需要达到20000×g以内的离心力即可提取内质网，一般的常规台式离心机均可以满足使用要求。

本试剂盒可用于各种动物细胞和实体软、硬组织样本的内质网的提取。

### 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℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
4. 最好使用Dounce匀浆器匀浆，如果没有Dounce匀浆器，也可用普通玻璃匀浆器匀浆，但是内质网回收率会下降。
5. 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。

#### 二、细胞内质网提取：

1. 取  $1-2 \times 10^7$  个细胞，在  $4^{\circ}\text{C}$ ， $500 \times \text{g}$  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，置冰上 10 分钟。
4. 用 Dounce 匀浆器充分匀浆，然后在  $4^{\circ}\text{C}$ ， $1000 \times \text{g}$  条件下离心 5 分钟。
5. 将上清吸入另一预冷的干净离心管。弃沉淀。
6. 将上清在  $4^{\circ}\text{C}$ ， $11000 \times \text{g}$  条件下离心 10 分钟。
7. 将上清吸入另一预冷的干净离心管。弃沉淀。
8. 将上清在  $4^{\circ}\text{C}$ ， $12000-16000 \times \text{g}$  条件下离心 10 分钟。弃沉淀，留上清。
9. 在上清中加入  $125\mu\text{l}$  试剂 B，充分混匀。
10. 置  $2-8^{\circ}\text{C}$  冰箱静置过夜。
11. 在  $4^{\circ}\text{C}$  条件下， $10000 \times \text{g}$  离心 20-45 分钟。
12. 小心移除上清，收集沉淀。
13. 沉淀即为内质网。

### 三、组织内质网提取：

1. 取 50-100 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  $500\mu\text{l}$  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  $4^{\circ}\text{C}$ ， $1000 \times \text{g}$  条件下离心 5 分钟。
5. 将上清吸入另一预冷的干净离心管。弃沉淀。
6. 将上清在  $4^{\circ}\text{C}$ ， $11000 \times \text{g}$  条件下离心 10 分钟。
7. 将上清吸入另一预冷的干净离心管。弃沉淀。
8. 将上清在  $4^{\circ}\text{C}$ ， $12000-16000 \times \text{g}$  条件下离心 10 分钟。弃沉淀，留上清。
9. 在上清中加入  $125\mu\text{l}$  试剂 B，充分混匀。
10. 置  $2-8^{\circ}\text{C}$  冰箱静置过夜。
11. 在  $4^{\circ}\text{C}$  条件下， $10000 \times \text{g}$  离心 20-45 分钟。
12. 小心移除上清，收集沉淀。
13. 沉淀即为内质网。

### 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。