



核糖体提取试剂盒

货号：EX1380

保存：2-8°C 保存，有效期一年。

产品简介：

核糖体是细胞内一种核糖核蛋白颗粒(ribonucleoprotein particle),主要由 RNA 和蛋白质构成,其惟一功能是按照 mRNA 的指令将氨基酸合成蛋白质多肽链,所以核糖体是细胞内蛋白质合成的分子机器。核糖无膜结构,主要由蛋白质(40%)和 RNA(60%)构成。核糖体按沉降系数分为两类,一类(70S)存在于细菌等原核生物中,另一类(80S)存在于真核细胞的细胞质中。他们有的漂浮在细胞内,有的结集在一起。

核糖体提取试剂盒可用于各种动物细胞和实体软、硬组织样本的核糖体的提取。

本试剂盒的核糖体提取对实验室离心机设备要求较高,需要离心力能达到 100000×g 以上。对实验的操作细致程度要求较高。

产品组成：

产品组分	50T	100T	储存条件
试剂 A: 核糖体提取液 A	50mL	100mL	2-8°C 保存
试剂 B: 核糖体提取液 B	25mL	50mL	2-8°C 保存
试剂 C: 核糖体保存液 C	20mL	40mL	2-8°C 保存

注：

试剂拆封后请尽快使用完,长期不用可以-20°C保存。

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

使用方法（仅供参考）：

一、使用注意事项：

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. 实验中所有液体以及器具均应该用 DEPC 处理。用 0.1%的 DEPC 处理 12 小时然后高压。
4. 下游用于蛋白质类实验的话可以不用 DEPC 处理。
5. 细胞最好采用新鲜收集的,或者收集后立即置于-80°C保存的样本。
6. 最好使用标准 Dounce 匀浆器匀浆,如果没有标准 Dounce 匀浆器,用普通玻璃匀浆器匀浆也可,但是核糖体回收率可能会下降。

二、细胞核糖体提取：

1. 取 $1-2 \times 10^7$ 个细胞，在 4°C ， $500-1000 \times \text{g}$ 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 $500\mu\text{l}-1\text{ml}$ 冷的试剂 A，置冰上 10 分钟。
4. 用 Dounce 匀浆器匀浆 20-30 下。
5. 将匀浆液在 4°C ， $1000 \times \text{g}$ 条件下离心 5 分钟。弃沉淀，收集上清。
6. 将上清在 4°C ， $20000 \times \text{g}$ 条件下离心 10 分钟，弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4°C ， $100000 \times \text{g}-120000 \times \text{g}$ 条件下离心 60 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 ， $100000 \times \text{g}-120000 \times \text{g}$ 条件下离心 60 分钟。
10. 弃上清，沉淀用核糖体保存液重悬。
11. 即得到核糖体样品，置冰箱 -80°C 冻存储用或直接用于下游实验。

三、组织核糖体提取：

1. 取 50-100mg 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 20-30 下，至无明显固体团块。然后在 4°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。
6. 在 4°C ， $20000 \times \text{g}$ 条件下离心 10 分钟，弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4°C ， $100000 \times \text{g}-120000 \times \text{g}$ 条件下离心 60 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 ， $100000 \times \text{g}-120000 \times \text{g}$ 条件下离心 60 分钟。
10. 弃上清，沉淀用核糖体保存液重悬。
11. 即得到核糖体样品，置冰箱 -80°C 冻存储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。