

## 酵母高尔基体提取试剂盒

货号: EX2920

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
酵母高尔基体提取液 A	20ml	40ml	2-8°C保存
酵母高尔基体提取液 B	25ml	50ml	2-8°C保存
酵母高尔基体提取液 C	20ml	40ml	2-8°C保存
酵母洗涤液 D	50ml	100ml	2-8°C保存
高尔基体保存液 E	20ml	40ml	2-8°C保存

### 注:

1. 试剂盒2-8°C保存, 开盖后组份按要求条件保存。
2. 提取液B、酵母洗涤液D长期不用时-20°C保存。
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, 凸出的一面对着内质网称为形成面 (forming face) 或顺面 (cis face)。凹进的一面对着质膜称为成熟面 (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。

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。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。

本试剂盒提供全套试剂, 适用于从各种酵母样品中提取高尔基体。提取过程简单方便。

本试剂盒不能用于冷冻酵母样品的高尔基体提取。

本试剂盒提取的为完整的高尔基体, 可以用于下游的高尔基体功能研究, 或者用于蛋白裂解提取高尔基体蛋白。

### 自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、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、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。

## 二、操作步骤

1、酵母培养物，在4℃，1000×g条件下离心5-10分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集酵母沉淀。

2、用PBS洗涤酵母两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。

【注】：1000×g离心5分钟。

3、每100ul体积或100mg湿重酵母沉淀物中加入400ul酵母高尔基体提取液A，混匀后，在30℃条件下保温15分钟。

【注】：酵母数量根据实验情况调整，每次的裂解液用量并不是一定的。

4、在1000×g条件下离心5-10分钟，收集酵母沉淀。

5、用300ul酵母洗涤液D洗涤酵母两次，离心收集酵母。

【注】：2000×g离心5分钟

6、酵母沉淀物中加入500ul酵母高尔基体提取液B，充分混匀后。

【注】：

①根据酵母细胞量调整提取液用量，一般加菌体体积的2-5倍均可。

②按酵母菌体体积每100ul或100mg湿重菌体加入250-500ul提取液。

7、在37℃或室温条件下轻微振荡60-90分钟。

【注】：

①使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。没有振荡条件也可以不振荡，中间每隔几小时用移液器吹打混匀即可。

②不同酵母样本需要处理的时间差异较大。根据下游细胞裂解的难易程度调整，如果下游试剂C处理后沉淀没有明显减少，需要延长此步骤处理时间。可以延长至2小时。

8、在2000×g条件下离心5-10分钟，弃上清，收集沉淀。

9、沉淀用PBS洗涤两次。2000×g离心收集沉淀。

10、在沉淀中加入400μl 酵母高尔基体提取液C，充分混匀，然后在振荡器上振荡10-30分钟。

【注】：

①使用振荡器/摇床的较低转速，提取液能轻微晃动即可。没有振荡条件也可以不振荡，中间每隔几小时用移液器吹打混匀即可。

②试剂C处理后下一步骤的沉淀应减少，否则延长处理时间。

11、在4℃，500×g条件下离心5分钟，弃沉淀，收集上清。

12、将上清在4℃，3000×g条件下离心10分钟。弃沉淀，收集上清。

13、将上清在4℃，5000×g条件下离心10分钟。弃沉淀，收集上清。

14、将上清在4℃，20000×g条件下离心20分钟。弃上清，留沉淀。

15、在沉淀中加入400μl高尔基体保存液E，混匀。

16、在4℃，20000×g条件下离心30分钟。弃上清，收集沉淀。即得到酵母高尔基体样品。

17、根据下游实验需要，将沉淀用相应的缓冲溶液重悬。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。