

内质网提取试剂盒

产品货号：26205

产品规格：50T/100T

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通连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。

内质网提取试剂盒可用于各种动物细胞和组织样本的完整内质网提取，也可以用于下游内质网蛋白提取等实验。

本试剂盒适用于各种粗面内质网和光面内质网的提取。

本试剂盒可以用于完整内质网提取相关的实验，也可以用于下游内质网蛋白提取等实验。

本试剂盒需要使用高速离心，没有高速离心的条件时，可以选择低速离心法内质网提取试剂盒。

产品内容：

| 产品名称 | 50T | 100T | 保存条件 |
|-------------|------|-------|------|
| 试剂A：内质网提取液A | 50ml | 100ml | 2-8℃ |
| 试剂B：内质网提取液B | 25ml | 50ml | 2-8℃ |
| 试剂C：内质网保存液 | 20ml | 40ml | 2-8℃ |

注：

1. 提取液长期不用时置于-20℃保存，15天内要多次使用的话置4℃保存即可。
2. 试剂拆封后请尽快使用完！

自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、匀浆机/Dounce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、细胞筛

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℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
3. 最好使用标准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，但是内质网回收率可能会下降。
4. 要求离心力50000g的离心，没有条件的话可以采用30000g-50000g离心力，最好能达到45000g左右。最小离心力需要保证30000g。
5. 如果需要回收所有光面内质网小泡，最后一个离心步骤的离心力需要提高到100000×g力。
6. 离心机转速有相对离心力（RCF，×g）和每分钟转速（RPM）两种表示方式，有些离心机设置有RPM和×g显示切换，但部分离心机没有自动切换功能。需要用下面的公式进行换算： $g=r \times 1.118 \times 10^{-5} \times rpm^2$ （r为有效离心半径，即从离心机轴心到离心收集管底部中心位置的长度，单位为厘米）
例如：转速为3000rpm，有效离心半径为10cm，则相对离心力（RCF，×g）为 $=10 \times 1.118 \times 10^{-5} \times 3000^2 = 1006.2$



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

($\times g$)。

二、操作步骤

细胞内质网提取：

1. 取 $1-2 \times 10^7$ 个细胞，在 4°C ， $500 \times g$ 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。

【注】：

- 1) 在 $500 \times g$ 条件下离心5分钟。
3. 加入 $500 \mu\text{l}$ - 1ml 冷的试剂A，置冰上10分钟。
4. 用Dounce匀浆器匀浆30-40下。
5. 将匀浆液在 4°C ， $1000 \times g$ 力条件下离心5分钟。弃沉淀，收集上清。
6. 将上清在 4°C ， $11000 \times g$ 力条件下离心10分钟，弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4°C ， $50000 \times g$ 力条件下离心45分钟。弃上清，收集沉淀。

【注】：

- 1) 如果条件允许，可将离心力加大到 $100000 \times g$ ，有利于提高光面内质网小泡回收率。
- 2) 如果用大的离心转头，液体量太少不好离心的话，可以添加PBS增加液体量。
- 3) 没有高速离心的条件时，可以选择低速离心法内质网提取试剂盒。
- 4) 沉淀是离心管底部薄薄一层。不是明显团块。
8. 在沉淀中加入 $400 \mu\text{l}$ 冷的试剂B，混匀。
9. 在 4°C ， $50000 \times g$ 力条件下离心45分钟。

【注】：

- 1) 如果用大的离心转头，液体量太少不好离心的话，可以添加PBS增加液体量。
- 2) 没有高速离心的条件时，可以选择低速离心法内质网提取试剂盒。
- 3) 如果期望回收所有光面内质网小泡，离心力需要提高到 $100000 \times g$ 力。
10. 弃上清，沉淀用内质网保存液重悬。

【注】：

- 1) 也可不用试剂盒中的内质网保存液重悬，根据下游实验需要选择合适的缓冲液重悬内质网或直接用于下游实验。
- 2) 需要提取内质网蛋白时可以直接在沉淀中加入适量蛋白裂解液进行裂解。
- 3) 沉淀是离心管底部薄薄一层。不是明显团块。
11. 即得到内质网样品，置冰箱备用或直接用于下游实验。

组织内质网提取：

1. 取 50mg - 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。

【注】：

- 1) 在 $500 \times g$ 条件下离心5分钟。
3. 加入 $500 \mu\text{l}$ - 1ml 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°C ， $1000 \times g$ 力条件下离心5分钟。
5. 将上清吸入另一预冷的干净离心管。
6. 在 4°C ， $11000 \times g$ 力条件下离心10分钟，弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4°C ， $50000 \times g$ 力条件下离心45分钟。弃上清，收集沉淀。

【注】：

- 1) 如果条件允许，可将离心力加大到 $100000 \times g$ ，有利于提高光面内质网小泡回收率。
- 2) 如果用大的离心转头，液体量太少不好离心的话，可以添加PBS增加液体量。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>

- 3) 没有高速离心的条件时，可以选择低速离心法内质网提取试剂盒。
- 4) 沉淀是离心管底部薄薄一层。不是明显团块。
8. 在沉淀中加入400 μ l冷的试剂B，混匀。
9. 在4 $^{\circ}$ C，50000 \times g力条件下离心45分钟。

【注】：

- 1) 如果用大的离心转头，液体量太少不好离心的话，可以添加PBS增加液体量。
 - 2) 没有高速离心的条件时，可以选择低速离心法内质网提取试剂盒。
 - 3) 如果期望回收所有光面内质网小泡，离心力需要提高到100000 \times g力。
10. 弃上清，沉淀用内质网保存液重悬。
【注】：
 - 1) 也可不用试剂盒中的内质网保存液重悬，根据下游实验需要选择合适的缓冲液重悬内质网或直接用于下游实验。
 - 2) 需要提取内质网蛋白时可以直接在沉淀中加入适量蛋白裂解液进行裂解。
 - 3) 沉淀是离心管底部薄薄一层。不是明显团块。
 11. 即得到内质网样品，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。

保存：2-8 $^{\circ}$ C保存，有效期1年。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>