天净沙系列

CAT#:260936

低温运输，4℃保存

天净沙

内质网提取试剂盒

Endoplasmic Reticulum Isolation Kit

使用手册 V0.8

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是基于高速离心法的内质网提取试剂盒。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，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。产品特点如下：

1. 内质网提取试剂盒可用于各种动物细胞和组织样本的内质网的提取。
2. 本试剂盒适用于各种粗面内质网和光面内质网的提取。
3. 本产品足够 50 次内质网提取。
4. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用小扁盒包装

成分	编号	规格	包装
内质网提取液 A	260936a	50 mL	60 mL 本色瓶
内质网提取液 B	260936b	25 mL	30 mL 本色瓶
内质网保存液	260936c	20 mL	30 mL 本色瓶
使用手册	260936sc	1 份	无

运输及保存

低温运输，4℃保存，有效期一年。其中内质网提取液长期保存需-20℃保存，15 天内多次使用 4℃保存即可。

自备试剂

超纯水、离心机、振荡器、Dounce 匀浆器、PBS 缓冲液（pH 7.4）、10 mM 磷酸盐缓冲液。

使用方法

一、细胞内质网提取：

1. 取 1-2×10^7 个细胞，在 4℃，500×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：在 500×g 条件下离心 5 分钟）。
3. 加入 500 μL-1 mL 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℃，1000×g 条件下离心 5 分钟。弃沉淀，收集上清。
6. 将上清在 4℃，11000×g 条件下离心 10 分钟，弃沉淀，收集上清。
7. 将上清在 4℃，50000×g 条件下离心 45 分钟。弃上清，收集沉淀（注：如果条件允许，可将离心力加大到 100000×g，有利于提高光面内质网小泡回收率）。
8. 在沉淀中加入 400 μL 冷的试剂 B，混匀。
9. 在 4℃，50000×g 条件下离心 45 分钟。
10. 弃上清，沉淀用内质网保存液重悬，即得到内质网样品，置冰箱备用或直接用于下游实验。

	二、组织内质网提取： 11. 取 50-100 mg 新鲜动物组织样本，用 PBS 洗涤干净。 12. 用剪刀尽可能剪碎，用冷 PBS 洗涤两次。 13. 加入 500 μL-1 mL 冷的试剂 A，置冰上 10 分钟。 14. 用 Dounce 匀浆器充分匀浆 30-40 下，至无明显固体团块。然后在 4℃，1000×g 条件下离心 5 分钟。 15. 将上清吸入另一预冷的干净离心管。 16. 在 4℃，11000×g 条件下离心 10 分钟，弃沉淀，收集上清。 17. 将上清在 4℃，50000×g 条件下离心 45 分钟。弃上清，收集沉淀。 18. 在沉淀中加入 400 μL 冷的试剂 B，混匀。 19. 在 4℃，50000×g 条件下离心 45 分钟。 20. 弃上清，沉淀用内质网保存液重悬。 21. 即得到内质网样品，置冰箱备用或直接用于下游实验。 **三、注意事项：** 22. ER 的产率主要受起始材料的用量和细胞膜破碎的效率的影响。细胞膜破碎的效率可以通过匀浆前后用台盼蓝对细胞进行染色判断。 23. ER 富集的程度取决于样品类型。由于细胞内的膜结构是相互连接的，因此，在分离的 ER 组分中可能会检测到某些胞浆蛋白（如 actin 和 tubulin）、高尔基体与线粒体特征标记物等。 24. 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。 25. 要求离心力 50000×g 的离心，没有条件的话可以采用 30000-50000×g 离心力，最好能达到 45000×g 左右。最小离心力需要保证 30000×g。 26. 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。 27. 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。
关联产品	内质网提取试剂盒（低速离心法）