



线粒体提取试剂盒

Mitochondria Isolation Kit

货号: C5032

规格: 50T

产品组成及保存条件:

试剂	试剂内容	50T	保存条件
C5032-A	Mitochondria Lysis buffer	100ml	2-8°C保存
C5032-B	Mitochondria Stock buffer	10ml	2-8°C保存
C5032-C	Protein Stock Buffer	10ml	2-8°C保存
C05-01002	100mM PMSF (100×)	1.5ml	2-8°C保存

保质期: 有效期 1 年。

产品介绍:

线粒体是半自主性细胞器, 不仅是细胞内氧化磷酸化和合成三磷酸腺苷 (ATP) 的主要场所, 为细胞的活动提供能量, 而且在许多生命活动中具有重要调控作用。因此, 准确和全面分离保持正常活性的线粒体已经成为许多研究的前提。

利用专门试剂温和匀浆组织和细胞, 再采用差速离心法从匀浆中分离完整线粒体; 利用专门试剂, 配合超声波破碎线粒体, 可以得到保持活性的线粒体酶。

Bioss 线粒体提取试剂盒 (Mitochondria Isolation Kit) 用于从动物细胞或组织中分离出完整而纯化的线粒体。适合于动物软组织 (肝或脑组织) 和硬组织 (肌肉) 以及培养细胞的线粒体的分离提取。其制备物产量高, 可用于细胞凋亡、信号传递、代谢和蛋白组学等的研究。本产品仅用于科研领域, 不用于临床诊断或其他用途。

自备材料:

1. 低温离心机、匀浆器
2. PBS

提取步骤

1. 清洗: 取新鲜组织 (不宜采用冻存的组织), 准确称取约 0.1g 组织或收集约 500 万细胞, 用预冷的 PBS 清洗一次, 冰上剪成 3mm² 大小的组织碎片。
2. 匀浆裂解: 加入 10 倍体积的预冷 Mitochondria Lysis buffer (C5032-A) (如需获得细胞浆蛋白, 应提前加入 PMSF, 至 PMSF 浓度为 1×), 置于冰浴上, 用匀浆器或研钵研磨。
3. 离心: 4°C, 600g 离心 5min 以去除细胞核、未破碎的细胞核大的膜碎片。注: 如需获得纯度更高的线粒体, 可以将此步骤的离心速度改为 2000g 离心 3min, 相应的相同数量细胞的线粒体抽提得率会下降。
4. 弃沉淀, 将上清液移至另一离心管中, 4°C, 12000g 离心 10min。注: 如需获得纯度更高的线粒体, 可以将此步骤的离心速度改为 6000g 离心 10min, 相应的相同数量细胞的线粒体抽提得率会下降。
5. 上清液即胞浆提取物, 可用于研究细胞浆蛋白或线粒体蛋白向胞浆的释放。沉淀为完整线粒体。含有完整的内膜和外膜, 并具有线粒体的生理功能。可用于线粒体的生理功能等方面的研究。
6. 在沉淀中加入 200uL C5032-B 和 2uL 100mM PMSF (C05-01002), 超声波破碎 (冰浴, 功率 20%或 200W, 超声 3 秒, 间隔 10 秒, 重复 30 次), 可用于线粒体酶活性测定。
7. 在沉淀中加入 200uL C5032-C 和 2uL 100mM PMSF (C05-01002), 超声波破碎 (冰浴, 功率 20%或 200W, 超声 3 秒, 间隔 10 秒, 重复 30 次), 可用于线粒体蛋白浓度测定。

注意事项

1. 分离线粒体和提取线粒体蛋白质的所有步骤均需在冰上或 4°C 进行，所用溶液需冰浴或 4°C 预冷。
2. 通常在分离线粒体时前后两次离心速度选取 600g 和 12000g，如果希望纯度更高，但对线粒体的得率要求不高，前后两次离心速度可以采用 2000g 和 6000g。
3. 试剂（如 PMSF）对于不同实验不必全部使用，在实验条件成熟后也可以不必使用。
4. 如果不是用于制备线粒体蛋白，PMSF 不必使用；如果用于制备线粒体蛋白样品，需要添加 PMSF。PMSF 一定要在试剂计入到样品中前 1~2min 内加入，以免 PMSF 在水溶液中很快失效。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。