

组织/细胞线粒体分离试剂盒

Mitochondria Isolation Kit for Cell and Tissue

产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存
Mitochondria Isolation Kit for Cell and Tissue 组织/细胞线粒体分离试剂盒	20128ES50	50 T	-20°C
Mitochondria Isolation Kit for Cell and Tissue 组织/细胞线粒体分离试剂盒	20128ES60	100 T	-20°C

产品描述

线粒体是绝大多数真核细胞内的一种基本的重要的细胞器,是细胞的动力工厂,细胞进行氧化磷酸化的场所。因此,对线粒体进行分离,以此为对象,对线粒体呼吸作用、mtDNA、mtRNA 以及其他线粒体蛋白性能分析等具有重要意义。

本试剂盒可用于快速便捷分离组织/细胞线粒体,获得的线粒体纯度较高,且绝大部分都含有完整的内膜和外膜,可用于线粒体的生理功能等方面的研究,得到的线粒体也可被相应裂解液裂解得到线粒体蛋白,从而用于后续 SDS-PAGE、Western、双向电泳及免疫共沉淀等分析。

按照每个样品使用量(细胞 $1-5 \times 10^7$ 个;组织: 100-200 mg), 20128ES50/20128ES60 可分别进行 50 个和 100 个样品的抽提。

产品组分

组分编号	组分名称	产品编号/规格	
		20128ES50 (50 T)	20128ES60 (100 T)
20128-A	Reagent A 试剂 A	100 mL	100 mL×2
20128-B	Reagent B 试剂 B	50 mL	100 mL
20128-C	Reagent C 试剂 C	1 mL	2 mL
20128-D	台盼蓝染色液	10 mL	20 mL

运输和保存方法

冰袋运输。-20°C保存,有效期1年。台盼蓝染色液可4°C保存。

注意事项

为了您的安全和健康,请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用方法

一、线粒体的抽提

1. 样本处理

- 1) **组织匀浆**: 称取 100-200 mg 新鲜组织, 预冷的 PBS 或生理盐水冲洗干净, 滤纸吸干, 用剪刀剪成非常小的碎块放入小容量玻璃匀浆器内。加入 1-2.5 mL 冰预冷的试剂 A, 混匀, 孵育 8-10 min, 匀浆 10-30 下左右, 也可采用超声方法破膜。
- 2) **培养细胞匀浆**: 消化细胞, PBS 洗涤, 800 g, 4°C 离心 5-10 min 收集细胞。计数, 每次提取需要 $1-5 \times 10^7$ 个细胞, 加入 1-2.5 mL 预冷的试剂 A, 重悬细胞, 混匀, 冰上孵育 10-15 min, 可以采用超声或匀浆器方法破膜。

【注】: 观察细胞膜破碎情况, 可取少量细胞液, 与台盼蓝染色液按照 1:1 比例混合后, 镜检。当大多数 ($\geq 80\%$) 细胞为蓝色, 可进行下面实验。

2. 将组织或细胞匀浆物转移到离心管, 4°C, 1000 g 离心 10 min。**【注】**: 细胞核、大的膜碎片、未裂解细胞等沉淀在管底。

3. 收集上清液并转移到新的离心管。4°C, 1000 g 再次离心 5 min。弃沉淀。
4. 将上清液转移到新的离心管。4°C, 12,000 g 离心 10 min, 小心去除上清, 沉淀即为分离得到的细胞线粒体。

【注】: 离心后的上清含胞浆成分, 尽量除去上清。

二、线粒体蛋白的抽提

1. 向每毫升预冷试剂 B 加入 10 μ L 试剂 C 混匀。冰上保存数分钟待用。
2. 按每 10 μ L 线粒体压积中, 加入 100 μ L 上述配制好的试剂 B/C 溶液。
3. 置于 4°C 15-30 min, 间断涡旋振荡。
4. 10,000 rpm, 4°C 离心 15 min, 取上清, 即为线粒体全蛋白提取物, 进行蛋白定量。
5. 分装保存于 -70°C, 避免反复冻融。

相关产品

20126ES50	Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit 细胞核/细胞浆蛋白抽提试剂盒	50 T
20126ES60	Nuclear and Cytoplasmic Protein Extraction Kit 细胞核/细胞浆蛋白抽提试剂盒	100 T
20127ES50	Membrane and Cytosol Protein Extraction Kit 细胞膜/细胞浆蛋白抽提试剂盒	50 T
20127ES60	Membrane and Cytosol Protein Extraction Kit 细胞膜/细胞浆蛋白抽提试剂盒	100 T