

## 组织线粒体分离试剂盒

产品货号: 10262

产品规格: 50T/100T

### 产品简介:

线粒体是细胞呼吸的主要场所,细胞活动所需的能量主要由在线粒体内进行的氧化所产生的能量来供应。制备线粒体的关键是保持线粒体的完整性和纯度,可通过分级分离法获得,即先低速离心去除细胞核以及细胞碎片,再进行高速梯度离心分离线粒体。

乐业生物 组织线粒体分离试剂盒(Tissue Mitochondria Isolation Kit)是快速便捷分离动物组织中的线粒体的试剂盒,分离线粒体的同时可以获得去除线粒体的细胞浆蛋白,可用于分析细胞色素C等线粒体蛋白向胞浆的释放,大部分获得的线粒体都含有完整的内膜和外膜,并具有线粒体的生理功能(如检测线粒体膜电位),获得的蛋白可用于SDS-PAGE、Western、双向电泳等蛋白分析。该试剂盒可用于从动物软组织(如脑、肝脏)和硬组织(心肌、骨骼肌)中提取线粒体,对于采用该试剂盒提取硬组织线粒体效果不佳者,建议采用 乐业生物硬组织线粒体分离试剂盒。该试剂盒仅用于科研领域,不宜用于临床诊断或其他用途。

### 产品组成:

试剂名称	50T	100T	保存条件
试剂(A): Mitochondria Lysis buffer	100ml	200ml	-20℃
试剂(B): Mitochondria Stock buffer	10ml	20ml	-20℃
试剂(C): Protein Stock buffer (5×)	10ml	20ml	室温
试剂(D): PMSF(100×)	1.5ml	3ml	-20℃

### 自备材料:

1. 低温离心机、匀浆器
2. PBS

### 操作步骤:

1. 清洗:取新鲜组织(不宜采用冻存的组织),迅速称重50~100mg,用预冷的PBS清洗1次,冰上剪成3mm<sup>2</sup>大小的组织碎片。
2. 匀浆裂解:加入10倍体积的预冷的Mitochondria Lysis buffer(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Dounce匀浆器中,匀浆10~20次。不同组织或不同匀浆器所需的匀浆次数有所不同,需自行优化。
3. 离心:4℃,600g离心5min以去除细胞核、未破碎的细胞和大的膜碎片。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,其缺点是相同数量细胞的线粒体抽提得率会下降。
4. 上清液转移至一干净离心管,4℃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,其缺点是相同数量细胞的线粒体抽提得率会下降。
5. 弃上清,沉淀为线粒体,如果希望获得去除线粒体的细胞浆蛋白,应在本步骤中收集上清,并且在收集上清时注意勿触及沉淀。随后把收集的上清12000g,4℃离心10min,上清即为去除线粒体的细胞浆蛋白。
6. 保存:弃上清,用适当缓冲液悬浮沉淀。如果用于线粒体酶活性或功能的分析,线粒体沉淀应重悬于Mitochondria Stock buffer;如果用于线粒体蛋白的分析,获得的细胞浆蛋白应保存于1×Protein Stock buffer,即按细胞浆蛋白: Protein Stock buffer (5×)=1:4比例混合;如果用于双向电泳,应使用恰当的保存液。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话:400-611-0007 13671551480 13643719799

QQ:807961520 731791866

邮箱:zzlybio@126.com

**注意事项:**

1. 试剂 (如 PMSF)对于不同实验不必全部使用, 在实验条件成熟后可以不必使用。
2. 如果不是用于制备线粒体蛋白, Mitochondria Lysis buffer 不必加入 PMSF。如果用于制备线粒体蛋白样品, Mitochondria Lysis buffer 需添加 PMSF。PMSF 一定要在试剂加入到样品中前 1~2min 内加入, 以免 PMSF 在水溶液中很快失效。
3. 分离线粒体的所有步骤均需冰上或 4℃ 进行, 所用溶液需冰浴或 4℃ 预冷, 全部操作时间尽量控制在 1h 以内。
4. 通常在分离线粒体时前后两次离心速度选取 1000g 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用 2000g 和 6000g。
5. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期:** 一年有效。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com