

组织线粒体分离试剂盒

产品简介：

组织线粒体分离试剂盒(Tissue Mitochondria Isolation Kit)是用于快速分离动物组织线粒体的试剂盒。本试剂盒在分离线粒体的同时可以获得去除线粒体的细胞浆蛋白，可用于研究细胞色素 c 等线粒体蛋白向胞浆的释放。分离获得的线粒体纯度较高，并且绝大部分分离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，因此本试剂盒分离得到的线粒体可以用于线粒体的生理功能等方面的研究。本试剂盒分离得到的线粒体也可以被试剂盒中的线粒体裂解液或其它适当裂解液裂解后用于 SDS-PAGE、Western、双向电泳等蛋白分析。如果每个组织样品的重量为 50-100 mg，本试剂盒可以处理 50-100 个样品。

主要组分：

产品名称	规格
线粒体分离试剂 A	60 ml
线粒体裂解液 B	20 ml
酶抑制剂	1 ml

储存条件： -20℃，12 个月。

使用方法：

A. 准备溶液：

室温融解试剂盒中的各种溶液，溶解后立即置于冰上并混匀。如果最终目的是制备线粒体蛋白，根据样品数量，取适量相应的线粒体分离试剂备用，在线粒体分离试剂加入到组织样品中前数分钟内加入 1:100 稀释的酶抑制剂。取适量线粒体裂解液备用，在线粒体裂解液加入到线粒体样品中前数分钟内加入 1:100 稀释的酶抑制剂。

B. 从组织中分离线粒体：

- 1) 使用新鲜的动物组织，通常要求动物处死后不超过一小时，并且保存在冰上的组织。请勿使用经过冷冻保存的组织。
- 2) 剪取一小块组织，重量约为 50-100 mg。在 1.5 ml 离心管内对剪取的组织进行称重。用 PBS 洗涤组织一次。
- 3) 把组织放在一个置于冰上的离心管或培养皿中，用剪刀或刀片把组织剪切成非常细小的组织碎片。
- 4) 加入 10 体积预冷的线粒体分离试剂 A 或临用前添加了 1:100 稀释的酶抑制剂的线粒体分离试剂 A，在冰浴上进行匀浆，匀浆 10 次左右。

注：如果组织的重量为 50 mg，可以大致认为组织的体积接近 50 μ l，此时需加入 500 μ l 线粒体分离试剂 A。

- 5) 把匀浆在 600 g，4℃离心 5 min。

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 1000 g，其它离心条件不变；获得更高纯度线粒体的缺点是相同数量细胞的线粒体抽提得率会下降。

- 6) 小心把上清转移到另一离心管中，在 11000 g，4℃离心 10 min。

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 3500 g，其它条件不变；获得更高纯度线粒体的缺点是相同数量细胞的线粒体抽提得率会下降。

- 7) 小心去除上清。沉淀即为分离得到的线粒体。

注：如果希望获得去除线粒体的细胞浆蛋白，在本步骤需收集上清，并且在收集上清时注意勿触及沉淀。随后把收集的上清 12000 g，4℃离心 10 min。取上清即为去除线粒体的细胞浆蛋白。

- 8) 如果用于线粒体的蛋白分析，初始重量为 50-100 mg 的组织样品分离得到的线粒体样品中可以加入 150-200 μ l 临用前添加了 1:100 稀释的酶抑制剂的线粒体裂解液裂解线粒体。裂解后的线粒体可以用于 PAGE、Western、IP 以及线粒体中的一些酶活性的测定等。裂解后的蛋白样品可以使用 BCA 法测定蛋白浓度。

- 9) 如果用于双向电泳，请使用适当的用于双向电泳的裂解液处理线粒体。

注意事项：

- 1) 使用说明中的操作步骤按照组织重量为 50-100 mg 进行说明，如果组织块较大，可以按比例加大各溶液的使用量。
- 2) 分离线粒体的所有步骤均需在冰上或 4℃进行，所用溶液需冰浴或 4℃预冷。
- 3) 通常在分离线粒体时前后两次离心速度选取 600 g 和 11000 g，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 1000 g 和 3500 g。
- 4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

***本试剂仅供实验室研究使用**