

组织线粒体提取试剂盒

货号: EX2620

规格: 50T/100T

有效期: 2-8°C保存, 有效期一年。

产品内容:

名称	50T	100T	储存条件
组分 A: 线粒体提取液 A	50ml	100ml	2-8°C保存
组分 B: 线粒体提取液 B	25ml	50ml	2-8°C保存
组分 C: 线粒体保存液 C	10ml	20ml	2-8°C保存

注:

1. 提取液长期不用时置于-20°C保存。
2. 试剂拆封后请尽快使用完!

产品简介:

线粒体(mitochondria)是真核细胞中产生能量的重要细胞器。细胞中的能源物质—脂肪、糖、部分氨基酸在此进行最终的氧化, 并通过偶联磷酸化生成ATP, 供给细胞生理活动之需。对线粒体结构与功能的研究通常是在离体的线粒体上进行的, 本试剂盒用简便快速的方法即可在40分钟内提取得到线粒体。

本试剂盒可用于各种动物实体软、硬组织样本的线粒体提取。最好用于新鲜样品的线粒体提取, 由于冷冻样品的线粒体在冻存过程中可能被破坏, 提取回收率可能大幅降低。

本试剂盒提取的线粒体可以用于各种线粒体功能研究、蛋白提取等下游应用。

自备试剂和仪器:

离心机、振荡器、匀浆器、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒, PBS缓冲液、离心管、吸头、一次性手套

使用方法:

一、使用注意事项:

1. 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
2. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心, 将盖和管内壁上的液体离心至管底, 避免开盖时试剂损失。
3. 实验过程中的所有试剂须预冷; 所有器具须放-20°C冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
4. 最好使用标准Dounce匀浆器匀浆, 如果没有标准Dounce匀浆器, 用普通1ml玻璃匀浆器匀浆也可, 但是线粒体回收率会下降。
5. 用Dounce匀浆器匀浆匀浆是线粒体提取的关键的步骤, 故匀浆前最好先通过预实验确定不同组织样本的最适匀浆次数, 方法是每匀浆5-10次后, 取2-3 μ l匀浆液到载玻片上, 然后在相差显微镜下观察, 完整细胞数量降低到20%以下为佳。此镜检步骤非必须步骤, 但是会影响线粒体的回收率。在样本极难获取的实验中, 务必做镜检。

二、组织线粒体提取：

1. 取 50-100mg 新鲜动物组织样本，用 PBS 洗涤干净。

【注】：

- 由于有些样本线粒体含量较少，可能需亚更多的样本才能保证得率。

2. 用剪刀尽可能剪碎，用冷 PBS 洗涤两次。

【注】：

- 用 1000×g 离心 5 分钟。

3. 加入 500-1000μl 冷的试剂 A，置冰上 10 分钟。

4. 用 Dounce 匀浆器匀浆 30-40 次。

【注】：

- 先用 Dounce 匀浆器的松型槌初步匀浆 10-20 次，再用紧型槌匀浆 20-30 次。
- 每上下一个来回为一次。

5. 然后在 4°C，500×g 条件下离心 5 分钟。弃沉淀，收集上清。

6. 将上清在 4°C，1000×g 条件下离心 10 分钟。弃沉淀，收集上清。

7. 将上清在 4°C，2000×g 条件下离心 10 分钟。弃沉淀，收集上清。

8. 将上清在 4°C，11000×g 离心 20 分钟。弃上清，留沉淀。

9. 在沉淀中加入 500μl 冷的试剂 B，混匀。

10. 在 4°C，11000×g 离心 20 分钟。弃上清，留沉淀。

11. 沉淀用线粒体保存液重悬。

【注】：

- 可以不用试剂盒中提供的保存液。
- 根据实验需要用自己的其他缓冲液保存或直接用于蛋白裂解/线粒体染色等下游实验。
- 线粒体保存液中保存的线粒体可以于 12000×g 离心 15 分钟重新收集沉淀。

12. 即得到线粒体样品，置冰箱备用或直接用于下游实验。

【注】：

- 3 天内使用可以 4°C 保存。长期保存须-20°C 以下冻存。

注意事项：

1. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。

2. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。

3. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。

4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。

5. 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。