

哺乳动物细胞/组织线粒体分离试剂盒

Mitochondrial Isolation Kit for Mammalian Cells and Tissues

货号：AK528

规格：50T

产品组成及保存条件：

编号	规格	储存条件
AK528-A	50ml×1 瓶	4℃保存
AK528-B	10ml×1 瓶	4℃保存
AK528-C	10ml×1 瓶	4℃保存
AK528-D	1mL×1 支	-20℃保存

产品介绍：

意义：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。

原理：本试剂盒采用专门的试剂温和匀浆组织和细胞，再用差速离心法从匀浆中分离完整线粒体（如果需要线粒体酶，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，用于线粒体酶活性检测）。

应用：提取出的线粒体可应用于 SDS-PAGE, immunoblottings, ELISA, IP, 膜蛋白结构分析, 2-D, 酶活性检测，也可作为提取线粒体 DNA, RNA 等分子生物学研究的起始原料及其他应用。

需自备的仪器和用品：

超声波破碎仪、台式离心机、可调式移液器、研钵、冰和蒸馏水。

提取步骤

1. 准确称取约 0.1g 组织或收集约 500 万细胞，加入 1mL AK528-A 和 10uL AK528-D，用冰浴匀浆器或研钵研磨。
2. 4℃ 600 g 离心 5min。
3. 弃沉淀，将上清液移至另一离心管中，4℃ 11000 g 离心 10min。
4. 上清液即胞浆提取物，可用于研究线粒体蛋白向胞浆的释放。
5. 沉淀即为完整线粒体，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. 如果要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。
7. 如果要获得线粒体酶，在沉淀中加入 200uL AK528-B 和 2uL AK528-D，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。
8. 如果要获得线粒体蛋白，在沉淀中加入 200uL AK528-C 和 2uL AK528-D，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℃ 进行，所用溶液需冰浴或 4℃ 预冷。
2. 通常在分离线粒体时前后两次离心速度选取 600g 和 11,000g，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 1000g 和 3500g。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。