

Mitochondria Isolation Kit for Cell and Tissue

----- 组织/细胞线粒体分离试剂盒

产品简介

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。

本产品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。

产品组成

产品名称	Mitochondria Isolation Kit for Cell and Tissue	
编号	组织/细胞线粒体分离试剂盒	
组分	FS1012-50T	FS1012-100T
试剂 A: Lysis Buffer	50ML	100ML
试剂 B: Mito-Wash Buffer	25ML	50ML
试剂 C: Store Buffer	5ML	10ML

使用方法

1) 样本处理

①组织匀浆：称取 100-200 mg 新鲜组织，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 1-2.5mL 冰预冷的试剂 A，0℃冰浴研磨 30-40 次。

②培养细胞匀浆：消化细胞，PBS 洗涤，800 g 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 1-2.5mL 预冷的试剂 A，重悬细胞，混匀，将细胞悬液转移到小容量的玻璃匀浆器，0℃冰浴研磨 30-40 次

2) 将组织或细胞匀浆物转移到离心管，4 °C，1000 g 离心 5 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，离心后的上清含胞浆成分，可提取胞浆细胞，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。

5) 往线粒体沉淀中加 0.5ML 试剂 B 重悬线粒体沉淀，4℃，1000g 离心 5min。

6) 取上清，转移至新的离心管中，4℃12, 000g 离心 10min。弃上清，高纯度的线粒体沉淀在管底。

7) 用 50-100UL 试剂 C 或者合适的反应缓冲液重悬线粒体沉淀，立即使用或者-70℃保存。

运输和保存方法

冰袋运输。-20℃保存，有效期 1 年。

注意事项

1. 为保证获得完整的线粒体，务必做到：第一，全程低温操作；第二，快速；第三，在不破坏亚细胞器的情况下破碎细胞，这是制备线粒体的最关键环节。与组织块相比，培养细胞特别是贴壁培养细胞在用玻璃匀浆器匀浆时较难破壁，因而要选用小容量玻璃匀浆器、间隙严密的研杵上下研磨培养细胞。

2. 以离心力 g 计算正确的离心速度，不同的离心机可据此精确计算离心速度。3. 进行 Western Blot 和 2D-胶电泳，可直接加入上样缓冲液裂解线粒体。转速与离心力换算： $G = 1.11 \times (10-5) \times R \times [rpm]^2$ G 为离心力，一般以 g（重力加速度）的倍数来表示；[rpm]² 即：转速的平方；R 为半径，单位为厘米。