

细胞线粒体分离试剂盒

产品货号: T10234

产品规格: 50T

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。

尚宝生物 细胞线粒体分离试剂盒(Cell Mitochondria Isolation Kit)是快速便捷分离培养细胞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。本试剂盒提供台盼蓝染色液和PMSF,可以分别判断线粒体质量和提取细胞浆蛋白。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	规格	保存条件
试剂(A): Mitochondria Lysis buffer	100ml	-20℃
试剂(B): Trypan Blue Stain	10ml	4℃, 避光
试剂(C): Wash buffer	100ml	-20℃
试剂(D): Mitochondria Stock buffer	10ml	-20℃
试剂(E): Protein Stock buffer(5×)	20ml	室温
试剂(F): PMSF(100×)	1.5ml	-20℃

自备材料:

1. 胰蛋白酶
2. 低温离心机、匀浆器
3. PBS

操作步骤(仅供参考):

1. 清洗: 用预冷的PBS清洗细胞1次, 4℃ 1000g离心5min, 其上清。
2. 裂解: 沉淀用1~2ml预冷的Mitochondria Lysis buffer重悬细胞, 冰浴放置10~15min, 可用相差显微镜检测细胞膨胀的程度。
3. 匀浆: 把细胞悬液转移至Dounce匀浆器中, 匀浆10~20次。不同细胞或不同匀浆器所需的匀浆次数有所不同, 需自行优化。
4. 台盼蓝染色(可选): 取约2~5 μl细胞匀浆液, 加入30~50 μl Trypan Blue Stain, 混匀, 显微镜观察台盼蓝染色阳性(蓝色)细胞的比例, 如果阳性细胞比例不足50%, 增加5次匀浆, 随后再同前取样进行台盼蓝染色鉴定, 当阳性比例超过50%时即可停止匀浆进入下一步, 但勿过度匀浆, 否则易导致线粒体的机械损伤。同时记录对于该细胞的匀浆次数, 在后续实验时不必再摸索匀浆次数。
5. 立即取匀浆液, 加入等量Wash buffer, 轻轻颠倒混匀数次。
6. 4℃, 1300g 离心5min 以去除细胞核、未破碎的细胞和大的膜碎片。
7. 上清液转移至一干净离心管, 4℃ 1000g离心5min, 重复2次。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: shsunbao@126.com

http://www.saint-bio.com

8. 上清液转移至一干净离心管，4℃12000~15000g离心15min，重复1次。
9. 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。
10. 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。

注意事项：

1. 试剂(如台盼蓝染色液)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和Wash buffer中不必加入PMSF。如果用于制备线粒体蛋白样品，Mitochondria Lysis buffer 和Wash buffer中需添加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在冰上或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15000g，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：12个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719779

Q Q：807961520 731791866

邮箱：shsunbao@126.com

<http://www.saint-bio.com>