



组织线粒体分离试剂盒

包装清单

Cat No.	组分	包装规格-100T
MCK-0022	线粒体分离试剂 A (Mitochondria Isolation Reagent A)	60 mL
	线粒体分离试剂 B (Mitochondria Isolation Reagent B)	60 mL
	胰蛋白酶缓冲液 (Trypsin Buffer)	50 mL
	线粒体储存液 (Mitochondria Storage Buffer)	3 mL
	线粒体裂解液 (Mitochondria Lysis Buffer)	15 mL
	说明书	1 份

产品简介

线粒体是真核细胞中产生能量的主要部位，具有双层膜结构。制备线粒体的关键在于确保线粒体的完整性和纯度。通常先低速离心去除细胞核及细胞碎片，再高速离心获得线粒体。

默科的组织线粒体分离试剂盒可快速分离动物组织的线粒体，且线粒体纯度较高，绝大多数具有完整的内外膜及生理功能。提取的线粒体也可被相应裂解液裂解后得到线粒体蛋白，用于 SDS-PAGE、WB、双向电泳等蛋白分析。此外，本试剂盒也可用于提取不含线粒体的细胞浆蛋白。本试剂盒可检测 50-100 个样品，建议每个组织样品的重量为 50-100 mg。

保存条件

-20℃保存，有效期 1 年。

注意事项

- 若要制备线粒体蛋白样品，需在 Mitochondria Isolation Reagent 及 Mitochondria Lysis Buffer 中加入 PMSF，且 PMSF 一定要在试剂加入样品前 1-2 min 内加入，防止 PMSF 失效。
- 整个实验在冰上或 4℃ 进行。所用溶液需冰浴或 4℃ 预冷。
- 本实验获得的线粒体样品若不能及时使用，建议 -80℃ 保存。冻存后的线粒体不建议用于膜电位的检测。
- PMSF 对人体有害，使用时务必小心。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

从软组织(肝脏、脑等)中分离线粒体

- 称取约 50-100 mg 新鲜组织。加入 PBS 洗涤一次。

注：通常要求使用动物处死后不超过一小时并保存在冰上的组织。禁止使用冷冻保存的组织。

- 将组织剪成尽可能小的小块，加入 10 倍体积预冷的 Mitochondria Isolation Reagent A (含 1 mM PMSF)。

注：①若组织重量为 50 mg，可大致认为组织体积为 50μL，即加入 500μL Mitochondria Isolation Reagent A。②PMSF 本试剂盒未提供，需另行购买。

- 将组织悬液在冰上匀浆 10 次左右。
- 将组织匀浆 600 g，4℃ 离心 5 分钟。

注：此步离心目的在于去除细胞核、细胞碎片及未裂解细胞。将离心速度提升至 1,000g 可获得更纯的线粒体，但线粒体抽提率相对下降。

- 将上清转移至干净的离心管，11,000 g，4℃ 离心 10 分钟。

注：此步离心目的在于沉淀线粒体。将离心速度改为 3,500g 可获得更纯的线粒体，但线粒体抽提率相对下降。

- 弃去上清，所得沉淀即为线粒体。

注：此步骤也可用于获得不含线粒体的细胞浆蛋白。收集本步骤中的上清，12,000g，4℃ 离心 10 分钟，获得的上清液即为不含线粒体的细胞浆蛋白。后续可用 BCA 法或 Bradford 法测定蛋白浓度。

从硬组织(心肌、骨骼肌等)中分离线粒体

- 称取约 50-100 mg 新鲜组织。加入 PBS 洗涤一次。

注：通常要求使用动物处死后不超过一小时并保存在冰上的组织。禁止使用冷冻保存的组织。

- 将组织剪成尽可能小的小块，加入 10 倍体积预冷的 PBS，冰浴 3 分钟，600 g 离心 10-20 秒，弃去上清，保留组织沉淀。
- 加入 8 倍体积预冷的 Trypsin Buffer，冰浴 20 分钟，600 g 离心 10-20 秒，弃去上清，保留组织沉淀。



4. 加入 2 倍体积 Mitochondria Isolation Reagent 重悬组织，600g 离心 10-20 秒，弃去上清，保留组织沉淀。

注：若是心肌组织，使用 Mitochondria Isolation Reagent A；若是骨骼肌组织，使用 Mitochondria Isolation Reagent B。其余组织可以优先考虑 Mitochondria Isolation Reagent A。

5. 加入 8 倍体积预冷的相应 Mitochondria Isolation Reagent (含 1 mM PMSF)，在冰上匀浆 20-30 次。

6. 将组织匀浆 600 g，4℃ 离心 5 分钟。

注：此步离心目的在于去除细胞核、细胞碎片及未裂解细胞。将离心速度提升至 1,000 g 可获得更纯的线粒体，但线粒体抽提率相对下降。

7. 将上清转移至干净的离心管，11,000 g，4℃ 离心 10 分钟。

注：此步离心目的在于沉淀线粒体。将离心速度改为 3,500 g 可获得更纯的线粒体，但线粒体抽提率相对下降。

8. 弃去上清，所得沉淀即为线粒体。

注：此步骤也可用于获得不含线粒体的细胞浆蛋白。收集本步骤中的上清，12,000 g，4℃ 离心 10 分钟，获得的上清液即为不含线粒体的细胞浆蛋白。后续可用 BCA 法或 Bradford 法测定蛋白浓度。