线粒体提取试剂盒

Mitochondrial Extraction Assay Kit

货号： E-BC-E001 **规格：** 50 assays/100 assays

注意事项： 1. 分离线粒体的所有步骤均需在冰盒上或4°C条件下进行，所用溶液需冰浴或2-8°C预冷。

2. 选用间隙严密的玻璃匀浆器。

基本信息

用途 本试剂盒适用于提取动物组织中的线粒体细胞器。

检测原理 线粒体分离纯化的原理，第一通过机械方法破裂细胞；第二通过低速差速离心取出残渣碎屑和巨大的细胞器；第三通过高速差速离心获得线粒体。

提供试剂及物品

编号	名称	规格 1 (50 assays)	规格 2 (100 assays)	保存方式
试剂一 (Reagent 1)	裂解液 (Lysis Buffer)	30 mL×1瓶	60 mL×1瓶	-20°C 保存6个月
试剂二 (Reagent 2)	漂洗液 (Mito-Wash Buffer)	15 mL×1瓶	30 mL×1瓶	-20°C避光 保存6个月
试剂三 (Reagent 3)	保存液 (Store Buffer)	7 mL×1瓶	15 mL×1瓶	-20°C 保存6个月

注：试剂严格按上表中的保存条件保存，不同批次试剂不能混用。

所需自备物品

仪器：高速低温冷冻离心机、5 mL玻璃匀浆器

试剂：双蒸水、PBS(0.01 M，pH=7.4)

试剂准备

使用前，试剂盒中的试剂全部恢复至溶液状态，然后放置在冰水中预冷至少15 min。

操作步骤

① 样本处理：称取0.05 g~0.1 g新鲜组织样本，预冷的PBS冲洗，洗净血水，用滤纸吸干水分，用剪刀剪为碎块放入5 mL预冷的玻璃匀浆器内，加入0.5 mL预冷的试剂一，在冰浴条件下，上下研磨组织30~40次。

② 将组织匀浆液转移至2 mL 预冷的EP管，4°C，500 × g离心5 min。

③ 取上清转移至新的2 mL预冷的EP管，4°C，500 × g离心5 min。

④ 取上清转移至新的2 mL 预冷的EP管，4°C，15000 × g离心15 min。

⑤ 弃上清，添加0.2 mL试剂二，重悬线粒体沉淀，4°C，11000 × g离心10 min。

⑥ 弃上清，加入50~100 μL试剂三重悬，立即使用或-70°C 分装保存，避免反复冻融。