

植物线粒体提取试剂盒（酶法）

Plant Mitochondrial Extraction Assay Kit (Enzyme Method)

货号: E-BC-E005

规格: 50 Assays/100 Assays

- 注意事项:**
1. 离心机升降速度调至1档以减少线粒体的损失。
 2. 增加样本质量不会等比例提高线粒体的产量，建议提取时一次处理多个小质量植物样本。
 3. 快速操作，并及时使用纯化的线粒体样本。

基本信息

用途 本试剂盒适用于提取植物组织样本中的线粒体。

检测原理 第一步通过酶制备原生质体，第二步通过破膜液释放线粒体细胞器，第三步通过差速离心法获得纯化线粒体。

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)	提取液A (Extraction Solution A)	55 mL×1瓶	55 mL×2瓶	2-8°C 保存6个月
试剂二 (Reagent 2)	提取液B (Extraction Solution B)	30 mL×1瓶	60 mL×1瓶	2-8°C避光 保存6个月
试剂三 (Reagent 3)	提取液C (Extraction Solution C)	55 mL×1瓶	55 mL×2瓶	2-8°C 保存6个月
试剂四 (Reagent 4)	储存液 (Stock Solution)	5 mL×1瓶	10 mL×1瓶	2-8°C 保存6个月

注: 试剂盒试剂量规格以单次提取200 -500 mg植物样本的试剂使用量计算。试剂严格按上表中的保存条件保存，不同批次试剂盒中的试剂不能混用。

所需自备物品

仪器: 匀浆机，高速低温冷冻离心机，37°C恒温摇床

试剂: PBS(0.01 M, pH 7.4)

耗材: 细胞筛(100 μm)

For Research Use Only

Tel: 400-999-2100

Web: www.elabscience.cnEmail: techsupport@elabscience.cn

试剂准备

使用过程中，试剂盒中的试剂应全部置于冰盒上待用。

操作步骤

① 植物收集：取200 mg-500 mg新鲜植物叶片样本，洗净擦干后去除叶梗和粗脉。用手术剪刀尽可能剪碎，剪碎后装入2mL预冷的EP管中。

② 加入1 ml试剂一，使用匀浆机，50 Hz匀浆1 min。

注：主要目的是将植物组织尽可能研碎，但需要保持植物细胞结构完整。

③ 匀浆完成后，4°C，10000 × g离心10 min，去除上清液，保留沉淀。

④ 取步骤③沉淀，加入0.5 mL试剂二，置37°C恒温摇床中孵育12-72小时得到反应液。

注：孵育时间根据样本种类、生长情况及新鲜程度决定，鲜嫩叶片较易处理，例如鲜嫩绿萝叶处理15小时即可。

⑤ 取步骤④孵育后的反应液，用100 μm细胞筛过滤后，用1 mL PBS(0.01 M, pH 7.4)润洗滤渣并过滤，将滤液于离心机中4°C，10000 × g离心10 min，去除上清，保留沉淀。

⑥ 取步骤⑤沉淀，加入1 mL试剂三，使用移液枪缓慢吹打重悬，至37°C摇床孵育20 min得到反应液。

⑦ 低速离心：取步骤⑥孵育后的反应液，4°C，300 × g离心3 min，取上清液于新的预冷的EP管中。

⑧ 低速离心：取步骤⑦上清液，4°C，1000 × g离心3 min，取上清液于新的EP管中。

注：如需获得纯度更高的线粒体，可以将此步骤的上清液继续于离心机上4°C，3000 × g离心3 min，取上清液用于下一步操作，同时需要注意的是相同质量植物组织的线粒体提取率会下降。

⑨ 高速离心：取步骤⑧上清液，4°C，10000 × g离心15 min，去除上清液，保留沉淀。

⑩ 线粒体洗涤：取步骤⑨沉淀，加入0.5 mL预冷的PBS(0.01 M, pH 7.4)，用移液枪缓慢吹打重悬，4°C，10000 × g离心15 min。

⑪ 线粒体收集：小心地去除上清，沉淀即为提取得到的植物线粒体。

⑫ 线粒体使用：如用于完整线粒体的功能或活性研究，请立刻使用；如用于线粒体的蛋白分析，请用合适的裂解液处理线粒体样本；如不能及时使用，可加入50-100 μL试剂四重悬线粒体，液氮速冻后-80°C可保存1个月。

注：冻存后的线粒体样品不推荐用于膜电位的检测，但可以用于线粒体蛋白或核酸的相关检测。

For Research Use Only