

Mitochondria Isolation Kit (Cultured Cells)

产品描述

线粒体是一种存在于大多数真核细胞中具有双层膜结构的细胞器，是细胞的动力工厂，细胞进行有氧呼吸的主要场所。分离线粒体进行线粒体生理功能及其他线粒体蛋白性能分析具有重要意义。分离时确保线粒体的完整性和纯度很关键，Mitochondria Isolation Kit (Cultured Cells)可以快速便捷从细胞中分离线粒体，且绝大部分获得的线粒体都具有完整的内膜和外膜。分离获得的线粒体可以用于后续细胞凋亡、信号传递、代谢和蛋白组学等研究。

组分和储存条件

Components	10rxns	20rxns	30rxns
Buffer A	150ml	150ml*2	150ml*3

Store at 4°C.

使用方法

自备材料/试剂：细胞研磨杵

- 取 5 倍细胞体积量的 Buffer A 重悬细胞，冰上静置 15min。
- 将静置后的细胞悬液转移至细胞研磨器中，用细胞研磨杵进行 25 下研磨后转移至 EP 管中。
- 取少量研磨后的细胞悬液观察细胞状态，保证破裂的细胞数达 60%。
- 收集研磨后的细胞悬液，1000g 离心 10min 后取上清。
- 上步上清液 1000g 离心 10min 后取上清。
- 第 5 步获得的上清液 7000g 离心 10min 后取沉淀。
- 将第 6 步获取的沉淀用 5ml Buffer A 重悬，涡旋振荡混匀。
- 重悬液 7000g 离心 10min 后取沉淀。
- 取 1ml Buffer A 重悬第 8 步所得沉淀，最终得到全线粒体蛋白。可保存到-80 或进行直接进行后续实验。
- 可溶性线粒体组分获取（可选）：取第 9 步重悬成分 100,000g 离心 1h 取上清，即为可溶性线粒体组分。可保存到-80 或进行后续实验。

使用说明

- 为保证提取线粒体的完整性需保证：快速操作、全程低温条件和细胞破碎不破坏亚细胞器。

2. 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。
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进行后续实验。
4. 转速与离心力换算： $G=1.11 \times (10^{-5}) \times R \times [\text{rpm}]^2$ ，其中G为离心力，一般以g（重力加速度）的倍数来表示； $[\text{rpm}]^2$ 即：转速的平方；R为半径，单位为cm。
5. 本产品仅限科研使用。

