

M5 HiPer 线粒体提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer 线粒体提取试剂盒	50T	MF839-01

【储存条件】

-20°C

【产品组分】

Lysis Buffer	50 mL
Mito-Wash Buffer	25 mL
Store Buffer	5 mL

【产品简介】

线粒体提取试剂盒用于从动物细胞或组织中分离出完整而纯化的线粒体。适合于动物软组织（肝或脑组织）和硬组织（肌肉）以及培养细胞的线粒体的制备。其制备物产量高，可以被用于细胞凋亡、信号传递、代谢和蛋白组学等的研究。

【操作步骤】

1. 样本处理 a. 组织匀浆：称取 100~200 mg 新鲜组织如肝脏、脑、心肌等，PBS 或生理盐水冲洗，洗净血水，滤纸吸干，用剪刀剪为碎块放入小容量玻璃匀浆器内。加入 1.0 mL 冰预冷的 Lysis Buffer，0°C 冰浴上下研磨组织 20 次； b. 培养细胞匀浆：消化细胞，PBS 洗涤，800g 离心 5~10 min 收集细胞，计数。每次提取需要 5×10^7 个细胞，加入 1.0 mL 冰预冷的 Lysis Buffer 重悬细胞，将细胞悬液转移到小容量玻璃匀浆器内，0°C 冰浴研磨 30~40 次。
2. 将组织或细胞匀浆物转移到离心管，4°C，1000g 离心 5 min。
3. 取上清，转移至新的离心管中，4°C，1000g 再次离心 5 min。
4. 取上清，转移至新的离心管中，4°C，12,000 g 离心 10 min。离心后的上清含胞浆成分，可从中提取胞浆蛋白。将上清转移到新离心管，线粒体沉淀在管底。
5. 往线粒体沉淀中加入 0.5 mL Wash Buffer 重悬线粒体沉淀，4°C，1000 g 离心 5 min。
6. 取上清，转移至新的离心管中，4°C，12,000 g 离心 10 min。弃上清，高纯度的线粒体沉淀在管底。
7. 用 50 -100 μ L Store Buffer 或合适的反应缓冲液重悬线粒体沉淀，立即使用或-70°C 保存。

【注意事项】

1. 为保证获得完整的线粒体，务必做到：第一，全程低温操作；第二，快速；第三，在不破坏亚细胞器的情况下破碎细胞，这是制备线粒体的最关键环节。与组织块相比，培养细胞特别是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。
2. 以离心力 g 计算正确的离心速度，不同的离心机可据此精确计算离心速度。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。转速与离心力换算： $G = 1.11 \times (10^{-5}) \times R \times [rpm]^2$ G 为离心力，一般以 g（重力加速度）的倍数来表示；[rpm]² 即：转速的平方；R 为半径，单位为厘米。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。