

线粒体分离试剂盒

Mitochondrial Isolation Kit

1kit [M3527]

M3527可用于从培养的哺乳动物细胞和组织中容易地分离得到线粒体。分离的线粒体可用于下游分析，如蛋白质印迹。

试剂盒组分

- Mitochondrial Isolation Reagent A
for approx. 30 samples
- Mitochondrial Isolation Reagent B
for approx. 30 samples
- Mitochondrial Isolation Reagent C
for approx. 30 samples



应用：从小鼠细胞中分离

1. 通过离心收集细胞，并在不干扰细胞沉淀的情况下去除上清液。使用细胞刮刀分离粘附的细胞。
2. 将细胞重新悬浮在线粒体分离试剂A中并涡旋5秒。每 1×10^7 个细胞添加400 μL 。
3. 在冰上培育2分钟。
4. 将线粒体分离试剂B加入细胞悬浮液中并涡旋5秒。每400 μL 步骤2中的悬浮液添加5 μL 。
5. 在冰上培育5分钟，每分钟涡旋一次。
6. 加入线粒体分离试剂C，倒置数次（不要涡旋）。使用与步骤2中使用的试剂A相等的体积。
7. 在4°C下，以700 x g离心10分钟。
8. 将上清液转移到新的试管中，并在4°C下以12000 x g离心15分钟。
9. 收集上清液（细胞质部分），并加入300 μL 线粒体分离试剂C到颗粒（线粒体）中。
10. 在4°C下以12000 x g离心5分钟，并去除上清液。
11. 使用线粒体（颗粒）进行下游实验。

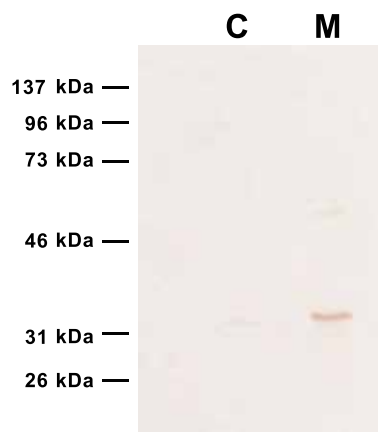


图1:

M3527分离的细胞质部分（C）和线粒体（M）的蛋白质印迹，用VDAC1/2抗体检测。使用RIPA缓冲液提取线粒体蛋白质。

M3527可以高效纯化线粒体。

线粒体分离试剂盒

应用：从小鼠肝脏中分离

1. 称取50-100 mg小鼠肝脏，用PBS(-)洗涤。
2. 加入400 μ L线粒体分离试剂A并匀浆。
3. 在冰上培育2分钟。
4. 加入5 μ L线粒体分离试剂B，涡旋5秒。
5. 在冰上培育5分钟，每分钟涡旋一次。
6. 加入400 μ L线粒体分离试剂C，倒置数次（不要涡旋）。
7. 在4 $^{\circ}$ C下以700 x g离心10分钟。
8. 将上清液转移到新的试管中，并在4 $^{\circ}$ C下以12000 x g离心15分钟。
9. 收集上清液（细胞质部分），并加入300 μ L线粒体分离试剂C到颗粒（线粒体）中。
10. 在4 $^{\circ}$ C下以12000 x g离心5分钟，并去除上清液。
11. 使用线粒体（颗粒）进行下游实验。

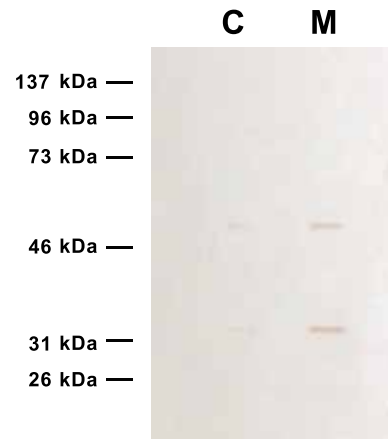


图2:

M3527分离的细胞质部分（C）和线粒体（M）的蛋白质印迹，用VDAC1/2抗体检测。

使用RIPA缓冲液提取线粒体蛋白质。

M3527可以高效纯化来自小鼠肝脏的线粒体。