

ミトコンドリア単離キット

Mitochondrial Isolation Kit

1kit 35,000円 [M3527]

Mitochondrial Isolation Kit [M3527] は、培養した哺乳類細胞や組織から簡便にミトコンドリアを単離するためのキット製品です。単離したミトコンドリアはウェスタンブロットなどの解析に利用可能です。

キット内容物

- Mitochondrial Isolation Reagent A 約30検体分
- Mitochondrial Isolation Reagent B 約30検体分
- Mitochondrial Isolation Reagent C 約30検体分



利用例: マウス由来細胞からの単離

1. 遠心分離により細胞を回収し、ペレットを傷つけないように上清を除去する。接着細胞はセルスクレイパーを用いて剥離する。
2. Mitochondrial Isolation Reagent A に細胞を懸濁し、ボルテックスで混合する。1 x 10⁷ 細胞あたり Reagent A を 400 μL 加える。
3. 氷上で2分間静置する。
4. 懸濁液に Mitochondrial Isolation Reagent B を加え、5秒間ボルテックスで混合する。懸濁液 400 μL あたり Reagent B を 5 μL 加える。
5. 氷上で5分間静置する。1分おきにボルテックスで混合する。
6. Mitochondrial Isolation Reagent C を加え、数回の転倒混合をする (ボルテックス厳禁)。手順2で使用した Reagent A と同量の Reagent C を使用する。
7. 700 x g, 4°C で10分間遠心分離する。
8. 上清を新しいチューブに移し、12,000 x g, 4°C で15分間遠心分離する。
9. 上清 (細胞質画分) を回収し、ペレットに Reagent C を 300 μL 加える。
10. 12,000 x g, 4°C で5分間遠心分離し、上清を除去する。
11. ミトコンドリア (ペレット) を下流の実験に用いる。

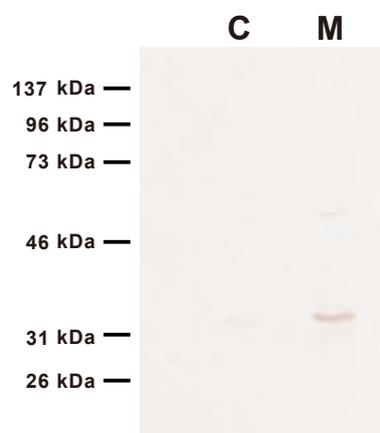


図1.
M3527 を用いて単離した細胞質画分 (C) とミトコンドリア (M) のウェスタンブロット例。ミトコンドリアからは RIPA Buffer を用いてタンパク質を抽出し、VDAC1/2 抗体を用いて検出。マウス由来細胞から高度に濃縮されたミトコンドリアを単離可能。

ミトコンドリア単離キット

利用例：マウス肝臓からの単離

1. マウス肝臓を50-100 mg 秤量し、PBS(-)で洗浄する。
2. Mitochondrial Isolation Reagent A を400 μ L 加え、ホモジナイズ。
3. 氷上で2分間静置する。
4. 懸濁液に Mitochondrial Isolation Reagent B を5 μ L 加え、5秒間ボルテックスで混合する。
5. 氷上で5分間静置する。1分おきにボルテックスで混合する。
6. Mitochondrial Isolation Reagent C を400 μ L 加え、数回転倒混合する(ボルテックス厳禁)。
7. 700 x g, 4°Cで10分間遠心分離する。
8. 上清を新しいチューブに移し、12,000 x g, 4°Cで15分間遠心分離する。
9. 上清(細胞質画分)を回収し、ペレットに Reagent C を300 μ L 加える。
10. 12,000 x g, 4°Cで5分間遠心分離し、上清を除去する。
11. ミトコンドリア(ペレット)を下流の実験に用いる。

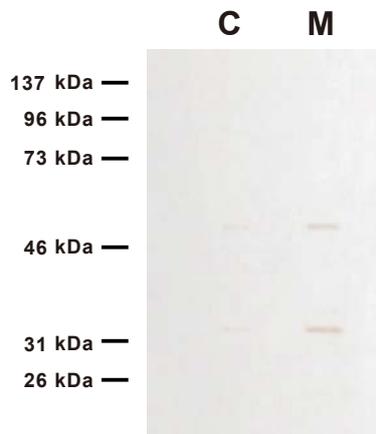


図2.
M3527 を用いて単離した細胞質画分 (C) とミトコンドリア (M) のウェスタンブロット例。ミトコンドリアからは RIPA Buffer を用いてタンパク質を抽出し、VDAC1/2 抗体を用いて検出。マウス肝臓から高度に濃縮されたミトコンドリアを単離可能。

東京化成工業株式会社

試薬製品について

■本社営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
Tel: 03-3668-0489 Fax: 03-3668-0520 E-mail: Sales-JP@TCIchemicals.com

■大阪営業部 〒541-0041 大阪府大阪市中央区北浜 1-1-21 第2中井ビル1階
Tel: 06-6228-1155 Fax: 06-6228-1158 E-mail: osaka-s@TCIchemicals.com

スケールアップ、受託サービス(合成・開発・製造)について

□化成品営業部 〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町 16-12 T-PLUS 日本橋小伝馬町8階
Tel: 03-5651-5171 Fax: 03-5640-8021 E-mail: finechemicals@TCIchemicals.com

弊社製品取扱店

本誌掲載の化学品は試験・研究用のみ使用するものです。化学知識のある専門家以外の方のご使用はお避けください。品目や製品情報等、掲載内容の変更を予告なく行う場合があります。内容の一部または全部の無断転載・複製はご遠慮ください。