

## Mitochondria Protein Extraction Kit

### 线粒体蛋白提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1587A	线粒体蛋白提取试剂盒	50T

#### 产品简介:

本线粒体蛋白提取试剂盒首先从动物细胞或组织中分离出完整而纯化的线粒体，然后用含有蛋白酶抑制剂及磷酸酶抑制剂的裂解缓冲液裂解线粒体得到纯度高的线粒体蛋白。

本试剂盒适合于动物软组织（肝或脑组织）和硬组织（肌肉）以及培养细胞的线粒体蛋白的制备。其中线粒体的分离原理基本上采用：第一，通过机械方法破裂细胞；第二，通过低速差速离心去除残渣碎屑和巨大细胞器；第三，通过高速差速离心获得线粒体。获得的线粒体蛋白可用于 Western Blot、免疫共沉淀等后续研究。

#### 产品组分:

产品编号	产品名称	规格	保存条件
BL1587A-1	Lysis Buffer1	100ml	2-8°C
BL1587A-2	Medium Buffer	25ml	2-8°C
BL1587A-3	Wash Buffer	10ml	2-8°C
BL1587A-4	Lysis Buffer2	50ml	2-8°C
BL1587A-5	100×磷酸酶抑制剂	250μl	-20°C
BL1587A-6	1000×蛋白酶抑制剂	50μl	-20°C
BL1587A-7	PMSF (100mM)	500μl	-20°C

#### 使用方法（仅供参考）:

##### 一、线粒体的提取

###### 1、样本处理

(1) 组织匀浆：称取 100~200mg 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 1.5ml 冰预冷的 Lysis Buffer1，0°C 冰浴上下研磨组织 20 次；

(2) 培养细胞匀浆：消化细胞，PBS 洗涤，800×g 5~10min 离心收集细胞。计数。每次提取需要  $5 \times 10^7$  个细胞，加入 1.5ml 冰预冷的 Lysis Buffer1 重悬细胞，将细胞悬液转移到小容量玻璃匀浆器内，0~4°C 冰浴，用间隙严密的研杵研磨细胞 30~40 次；

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。



2、将组织或细胞匀浆物转移到离心管，4℃，800×g 离心 5min。细胞核、大的膜碎片、未裂解细胞等在管底；

3、在另一个新的预冷的离心管中预先加入 0.5ml Medium Buffer，将匀浆后的上清液 0.5ml（Medium Buffer：上清液体积=1：1）沿管壁小心地加入该离心管中，覆盖于 Medium Buffer 的上层。

4、4℃，15,000×g 离心 10min。离心后的上清含胞浆成分，将上清转移到新离心管，分装保存于-70℃；

5、在线粒体沉淀中加入 0.2ml Wash Buffer 重悬线粒体沉淀，即为分离出的线粒体。如需进行 WB 实验，提取线粒体蛋白，可接着 4℃，15,000×g 离心 10min，弃上清，取线粒体沉淀裂解蛋白。

## 二、蛋白的提取

1、1ml 冷 Lysis Buffer2 加入 5μl 磷酸酶抑制剂，1μl 蛋白酶抑制剂和 5μl 100mM PMSF，混匀。冰上保存数分钟待用。

2、每 20μl 线粒体压积中，加入 200μl 上述配制好的冷 Lysis Buffer2；

3、置于 4℃摇床平台上，温和振荡 15min；

4、14,000rpm，4℃离心 15min，取上清为线粒体蛋白提取物，蛋白定量（Bradford 法、BCA 法）；

5、分装保存于-70℃，避免反复冻融。

## 注意事项：

1、为保证获得完整的线粒体，第一是全程低温操作，将样品管放在冰水浴而不是碎冰块中。第二是快速。微量制备比大规模制备操作更方便和快速，因而更容易获得完整的线粒体。第三，在不破坏亚细胞器的情况下破碎细胞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。在相差显微镜下检查未裂解细胞应在 50%左右即可。过度研磨将破坏线粒体，研磨不足将降低得率。

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，可直接加入样品缓冲液裂解线粒体。

4、所有接触样品的用具及试剂均需预冷。

5、本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。

6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 保存条件：

-20℃保存，1 年有效。

