植物线粒体提取试剂盒

产品简介:

线粒体是植物细胞的重要细胞器，是植物进行呼吸代谢的场所，细胞活动所需的能量主要由在线粒体内进行的氧化所产生的能量来供应，要研究线粒体的结构和功能必须将其从细胞质中分离出来。植物线粒体直径一般为 0.5~1.0um、长 3um，沉降系数(S)为 1×10^4~1.7×10^4。制备线粒体的关键是保持线粒体的完整性和纯度，通常可通过差速离心法将线粒体与其他细胞内含物分开，即先低速离心去除细胞核以及细胞碎片，再高速离心分离线粒体。

植物线粒体提取试剂盒(Plant Mitochondria Extraction Kit)是快速便捷地从植物组织(如黄化幼苗、块状组织、绿色叶片)中提取线粒体的试剂盒。所有高等植物的组织都有可能用来制备线粒体，但应避免那些组织坚实、细胞壁老化及含大量叶绿体的材料，最好采用黄化的幼苗和幼嫩的根部组织，植物组织中常含有多种次生物质(如多酚类)，本产品提取液中含有 PVP 等高分子化合物，可有效去除酚类干扰，大部分获得的线粒体都含有完整的内膜和外膜，并具有线粒体的生理功能(如检测线粒体膜电位)。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

编号 / 名称	GCCS0211 50T	Storage
试剂(A): Mitochondria Lysis Buffer	2×250ml	4℃
试剂(B): Mitochondria Wash Buffer	250ml	4℃
试剂(C): Suspension Buffer	250ml	4℃
试剂(D): Janus Green B Stain	10ml	4℃ 避光
使用说明书	1 份	

自备材料:

1、冰冻高速离心机、冰箱、组织捣碎机或研钵或匀浆器、漏斗、烧杯、滴管、纱布

2、去离子水、样品

操作步骤(仅供参考):

(一)黄化幼苗线粒体的提取:

1、清洗：种子萌发 2~3d，去子叶后得下胚轴，用去离子水冲洗并吸干水分后，称取 10g 放在 4℃冰箱饥饿约 1h。

2、匀浆：冰上剪成约 5mm×5mm 大小的组织碎片，加入 5ml Lysis Buffer，然后迅速在

冰浴中研磨，再加 5ml Lysis Buffer，再次研磨匀浆。

3、离心：匀浆液在 4℃ 1000g 离心 10min，弃残渣，上清液 4℃ 11000g 离心 20min，弃上清，所得沉淀颗粒即为线粒体粗品。

4、洗涤悬浮：向线粒体粗品沉淀中加入 5ml Wash Buffer，4℃ 11000g 离心 20min，弃上清，收集沉淀。再加入 5ml Suspension Buffer 悬浮沉淀，即得线粒体悬浮液。

5、染色观察(备选)：将新鲜提取的线粒体悬浮液与 Janus Green B Stain 等量混合，染色 2min。用光学显微镜高倍镜观察，线粒体一般呈绿色，也可用磷钨酸复染，电子显微镜观察线粒体结构的完整性和其他污染物的多少。

(二)块状组织线粒体的提取：

1、清洗：土豆、苹果、白薯等块状组织，用水清洗干净，削皮切块备用。

2、匀浆：称取 10~20g 组织块，加入 5~10 ml Lysis Buffer，用组织捣碎机或果汁压榨机低速挡处理 10s 左右即可完成匀浆。

3、离心、洗涤悬浮、染色观察同上。

(三)绿色组织线粒体的提取：

1、清洗：菠菜的绿色叶片等材料，用水清洗干净，冰箱饥饿处理 1~2h。

2、匀浆：称取 50g 预冷叶片放入预冷的研钵或匀浆器中，加入 10 ml Lysis Buffer 制成匀浆，也可用组织捣碎机或果汁压榨机低速挡处理 3~10s，4 层纱布过滤，滤液备用。

3、离心：纱布过滤后的滤液用 4℃ 1000g 离心 10min，收集上清液 3000g 离心 10min，弃沉淀，再收集上清液 4℃ 11000g 离心 20min，弃上清，所得沉淀为线粒体粗品。

4、洗涤悬浮：向线粒体粗品中加入 5ml Wash Buffer，1500g 离心 5min，除去多余的叶绿体和过氧化体。再次收集上清液，4℃ 11000g 离心 20min，弃上清，向沉淀中加入 5ml Suspension Buffer 悬浮沉淀，即得线粒体悬浮液。

5、染色观察同上。

注意事项：

1、 分离线粒体的所有步骤均需在冰上或 4℃进行，所用溶液或器材需冰浴或 4℃预冷，全部操作时间尽量控制在 1.5h 以内。

2、 通常在分离线粒体时前后两次离心速度选取 1000g 和 11000g，如果希望纯度更高，但对线粒体的得率要求不高，前后两次离心速度可用 2000g 和 6000g。

3、 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

4、 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期： 12 个月有效。低温运输，4℃保存。

相关产品:

产品编号	产品名称
GCDC0032	Masson 三色染色液
GCDF0135	组织细胞固定液(4% PFA)
GCDG0005	糖原 PAS 染色液
GCDM0007	瑞氏-姬姆萨复合染色液
GCNH0043	SSC 缓冲液(20×,pH7.0)
GCPW0040	Western blot 一抗稀释液
GCTE0002	碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒(PNP 微板法)