

## MTUltra<sup>®</sup>线粒体提取试剂盒 (细胞)

货号: LYMT1003

01/产品概述	<b>01/产品概述</b>
02/产品组分	MTUltra <sup>®</sup> 线粒体提取试剂盒 (细胞) 是专为细胞系线粒体分离设计的高性能科研试剂, 适用于分子生物学研究场景, 不用于疾病诊断、预防或治疗。产品依托荔园生物优化的试剂配方与标准化流程, 可从新鲜或冻存的细胞系样本中高效获取高活性和高完整性的线粒体, 为线粒体相关机制研究提供可靠的样本制备解决方案。核心技术优势如下:
03/适用范围	
04/准备材料	
05/实验流程	1. 高完整性与高活性: 通过温和的样本处理流程与等渗缓冲体系, 最大限度维持线粒体膜结构完整及天然构象, 确保其生物活性与功能稳定性。
06/示例展示	2. 高效与可重复: 采用改良型差速离心技术与特异性裂解体系, 仅需实验室常规离心设备, 全程大约需 45-60 分钟。标准化试剂配方与操作步骤, 有效降低实验误差, 确保不同批次、不同操作者间的实验结果一致性。
07/参考文献	

### 02/产品组分

产品组分	LYMT1003-8RXNS	LYMT1003-24RXNS	保存条件
细胞裂解缓冲液 (Lysis Buffer)	16mL	48mL	2-8°C
细胞分离缓冲液 (Isolation Buffer)	16mL	48mL	2-8°C
细胞洗涤缓冲液 (Wash Buffer)	16mL	48mL	2-8°C
储存缓冲液 (Storage Buffer)	2mLx2	2mLx4	2-8°C
无脂肪酸的牛血清白蛋白晶体 (Fatty Acid Free BSA)	80mgx2	240mgx2	2-8°C
0.2%詹纳斯绿 B 染色液 (Janus green B)	500μL	500μL	2-8°C

### 03/适用范围

1. 样本类型与用量: 原代细胞、3D 细胞、贴壁细胞、悬浮细胞等多种细胞系样本, 10-20mg。
2. 应用场景: 本品所提取的线粒体可用于线粒体的功能检测(如检测线粒体膜电位)、线粒体蛋白质组学分析(如 2D-PAGE、Western Blot)、线粒体 qPCR 等实验。

### 04/准备材料

1. 试剂准备: 将 BSA 分别加入裂解缓冲液和分离缓冲液中 (80mg/16mL), 充分溶解后备用。根据后续实验类型, 可在上述四种缓冲液中加入适量的蛋白酶抑制剂和 RNA 酶抑制剂。
2. 其他材料: 1.5mL 或 15mL 低吸附离心管等实验耗材。

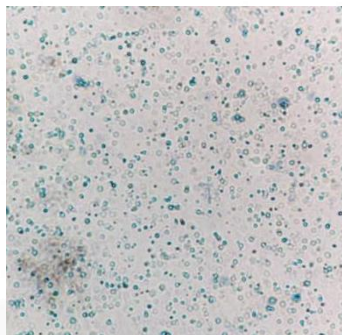
### 05/实验流程

1. 去除细胞中的培养基, 用 5-10mL 的室温 1xPBS 洗涤一次。
2. 去除 PBS, 使用细胞刮刀 (或胰酶消化贴壁细胞) 收集细胞到管中, 注意全程在冰上进行 (下同)。
3. 在 4°C 下 800×g 离心 5 分钟, 弃上清, 将细胞称重。(冰冻细胞在 37°C 快速复苏后离心)
4. 按照 1mL/10mg 细胞的比例加入裂解缓冲液, 在冰浴中将细胞充分重悬并吹打 15 分钟, 避免产生气泡。此时可取 100μL 细胞裂解液做 Western Blot (如需), 代表全细胞。
5. 在 4°C 下 800×g 离心 10 分钟。转移上清到新离心管中, 注意不要吸取到沉淀。此时可以保留沉淀做 Western Blot (如需), 代表细胞核组分。

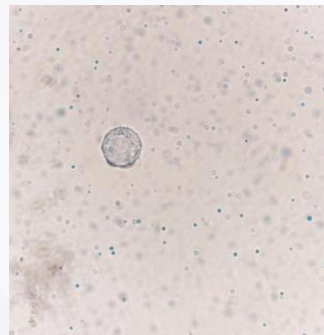


6. 在 4°C 下 8000×g 离心 10 分钟。保存沉淀（线粒体部分）。此时可保留 500μL 上清做 Western Blot（如需），表示细胞质组分。
7. 沉淀中加入与裂解缓冲液同等体积的分离缓冲液，并轻轻吹匀，充分重悬沉淀，避免产生气泡。
8. 在 4°C 下 8000×g 离心 10 分钟。
9. 弃上清，沉淀中加入与分离缓冲液等体积的洗涤缓冲液，并轻轻吹匀，充分重悬沉淀，避免产生气泡。
10. 在 4°C 下 8000×g 离心 10 分钟。
11. 弃上清，用 50-200μL 的储存缓冲液重悬沉淀（用剪掉尖头的 200μL 枪头轻轻吹匀），避免产生气泡。
12. 镜检：取适量线粒体稀释 500-2000 倍，与 0.2% 詹纳斯绿 B 染色后，于光学显微镜下观察检验。
13. 线粒体样本于 -80°C 保存，后续可用于分子检测实验（如 PCR、Western blot 等）。若用于线粒体完整性与功能检测等实验，应使用新鲜线粒体，不应使用冻存的线粒体。

## 06/示例展示



小鼠血管平滑肌贴壁细胞  
(新鲜细胞)  
0.2% 詹纳斯绿 B 染色  
目镜 x 物镜: 10x100



人 293T 贴壁细胞  
(冻存 2 天)  
0.2% 詹纳斯绿 B 染色  
目镜 x 物镜: 10x100

## 07/参考文献

1. Perocchi F, Gohil VM, Girgis HS, Bao XR, McCombs JE, Palmer AE, Mootha VK (2010) MICU1 encodes a mitochondrial EF hand protein required for Ca(2+) uptake. *Nature* 467 (7313):291–296. doi:10.1038/nature09358
2. De Stefani D, Raffaello A, Teardo E, Szabo I, Rizzuto R (2011) A forty-kilodalton protein of the inner membrane is the mitochondrial calcium uniporter. *Nature* 476 (7360):336–340. doi:10.1038/nature10230
3. Smith AC, Robinson AJ (2011) A metabolic model of the mitochondrion and its use in modelling diseases of the tricarboxylic acid cycle. *BMC Syst Biol* 5:102. doi:10.1186/1752-0509-5-102
4. Baughman JM, Perocchi F, Girgis HS, Plovanich M, Belcher-Timme CA, Sancak Y, Bao XR, Strittmatter L, Goldberger O, Bogorad RL, Kotliansky V, Mootha VK (2011) Integrative genomics identifies MCU as an essential component of the mitochondrial calcium uniporter. *Nature* 476 (7360):341–345. doi: 10.1038/nature10234
5. Gage GJ, Kipke DR, Shain W (2012) Whole animal perfusion fixation for rodents. *J Vis Exp* 65. doi:10.3791/3564
6. Labbe K, Murley A, Nunnari J (2014) Determinants and functions of mitochondrial behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 30:357–391. doi:10.1146/annurev-cellbio-101011-155756
7. Liao, P. C., Bergamini, C., Fato, R., Pon, L. A., and Pallotti, F. (2020). Isolation of mitochondria from cells and tissues. *Methods Cell Biol.* 155, 3–31. doi:10.1016/bs.mcb.2019.10.002

