



线粒体蛋白提取试剂盒（蛋白组实验、质谱适用）

货号：EX2590

规格：50T/100T

有效期：2-8℃保存，有效期一年。

产品内容：

名称	50T	100T	储存条件
组分 A：线粒体提取液 A	25ml	50ml	2-8℃保存
组分 B：线粒体提取液 B	20ml	40ml	2-8℃保存
组分 C1：蛋白提取液 C1	22.5ml	45ml	2-8℃保存
组分 C2：蛋白提取液 C2	2.5ml	5ml	2-8℃保存
组分 D：蛋白酶抑制剂混合物 D	100ul	200ul	-20℃保存

注：

1. 蛋白酶抑制剂未开盖使用前也可以2-8℃储存。开盖使用后-20℃储存。
2. 蛋白酶抑制剂在2-8℃低温时是固体状态，从冰箱取出后恢复至室温或37℃短时间水浴，变成液体状态后离心至管底部再开盖。
3. 试剂拆封后请尽快使用完！

产品简介：

线粒体蛋白提取试剂盒提供全套试剂，适用于从各种原代或传代细胞和各种实体组织，如脑、脊髓、神经结或纤维、脂肪、肝脏、消化道、肾脏、心脏、肌肉、血管、结缔组织等哺乳动物组织中提取线粒体蛋白。提取过程简单方便。制备的线粒体蛋白不仅纯度高，保持天然活性，而且绝少交叉污染。

本试剂盒含有的独特配方能够有效溶解线粒体膜组份。本试剂盒含有的蛋白酶抑制剂混合物，阻止了蛋白酶对蛋白的降解，为提取高纯度的蛋白提供了保证。

本试剂盒的蛋白提取组份中不含有不可透析除去的去垢剂组份，不含SDS、TritonX-100、chaps等可能影响质谱实验的组份，最后得到的蛋白质样品经过透析或者脱盐处理后将不含有去垢剂、高浓度盐等影响，基本可以满足下游任意的蛋白质组学相关实验研究。

本产品的蛋白酶抑制剂混合物中不含 AEBSF，可以避免由于 AEBSF 导致的质谱峰漂移，因此使用本产品提取的蛋白样品可以用于质谱(Mass Spectrometry, MS)检测和分析，蛋白质组学(proteomics)等相关研究。

本试剂盒提取的蛋白为具有天然蛋白构象的活性蛋白。

本试剂盒中不含有EDTA，与金属螯和层析等下游应用兼容。

本试剂盒提取的线粒体蛋白可用于Western Blotting、蛋白质电泳、免疫沉淀、ELISA、转录活性分析、Gel shift凝胶阻滞实验、酶活性测定等下游蛋白研究实验。

自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、Dounce匀浆器/匀浆机、涡旋混匀器、移液器、冰箱、冰盒、PBS缓冲液、蛋白定量试剂盒、离心管、吸头、一次性手套

使用方法：

一、使用注意事项：

1. 正式实验前请选取几个样本做预实验，以优化实验条件，取得最佳实验效果。
2. 螺旋盖微量试剂管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖和管内壁上的液体离心至管底，避免开盖时试剂损失。
3. 实验过程中的所有试剂须预冷；所有器具须放-20℃冰箱预冷。整个过程须保持样品处于低温。
4. 蛋白酶抑制剂储存期间溶液如果出现沉淀，不影响使用，溶解后正常使用。
5. 最好使用Dounce匀浆器匀浆，如果没有Dounce匀浆器，用普通国产0.5ml 或1ml玻璃匀浆器匀浆也可，但是线粒体回收率会下降。
6. 组织样品每50-100 mg用剪刀尽可能剪碎后按下面步骤操作。

二、细胞线粒体蛋白提取：

1. 提取液制备：

将试剂 C1 和试剂 C2 混合，配成蛋白提取液 C，充分混匀备用

每 500μl 蛋白提取液 C 中加入 2μl 蛋白酶抑制剂混合物，混匀后置冰上备用。

2. 取 2×10^7 个细胞，在 4℃，500×g 条件下离心 5 分钟，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞。
3. 用 PBS 洗涤细胞两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。
4. 在细胞沉淀中加入 500μl 冷的试剂 A，置冰上 5 分钟。
5. 用 Dounce 匀浆器匀浆 30-40 下。
6. 在 4℃，500×g 条件下离心 5 分钟。弃沉淀，将上清吸入另一预冷的干净离心管。
7. 将上清在 4℃，1000×g 条件下离心 10 分钟。弃沉淀，收集上清。
8. 将上清在 4℃，10000×g 条件下离心 20 分钟。弃上清，收集沉淀。
9. 在沉淀中加入 200μl 冷的试剂 B，充分混匀。
10. 在 4℃，10000×g 条件下离心 20 分钟。弃上清，收集沉淀。
11. 在沉淀中加入 80μl-150μl 蛋白提取液 C，充分混匀。置 4℃振荡 20-40 分钟。
12. 在 4℃，10000×g 条件下离心 10 分钟。
13. 将上清吸入另一预冷的干净离心管，即得线粒体蛋白。
14. 将上述蛋白提取物定量后分装于-80℃冰箱保存备用或直接用于下游实验。
15. 将蛋白样品透析处理或者脱盐柱脱盐处理后用于下游实验。

常见问题分析：

1. 蛋白浓度低？

处理部分线粒体样本时可能没有裂解完全，导致蛋白浓度低。只要适当延长试剂C的处理时间即可。最好在持续振荡的条件下处理，没有振荡器也可间隔几分钟用吸头吹打混匀。需要足够的细胞或组织样品的上样量。

2. 用什么方法定量蛋白？

建议用BC法。不适合用Bradford法，因为试剂A中含有干扰Bradford法的组份，导致定量不准。如果已经进行过透析处理或者用脱盐柱改换过缓冲体系，则可以用Bradford法定量。

3. 提取的蛋白具有活性吗？

本试剂盒不含有离子型去垢剂组份，不破坏蛋白的结构，没有对蛋白质之间原有的相互作用的破坏，蛋白均保持其天然构象和活性。

注意事项：

1. 本试剂盒仅供科学研究使用，不可用于诊断或治疗。
2. 最好使用一次性吸头、管、瓶或玻璃器皿，可重复使用的玻璃器皿必须在使用前清洗并彻底清除残留清洁剂。
3. 实验后完成后所有样品及接触过的器皿应按照规定程序处理。
4. 避免皮肤或粘膜与试剂接触。
5. 如果试剂不小心接触皮肤或眼睛，应立即用水冲洗。