

线粒体核糖体提取试剂盒

产品货号：26358

产品规格：50T/100T

产品简介：

高等植物中有两类核糖体：一类存在于细胞质中，沉降系数为 80S；另一类存在于线粒体中。沉降系数为 55S。不同生物的线粒体核糖体在组成与物理化学性质等方面的差异均比细胞质核糖体的大。核糖体是细胞进行蛋白质生物合成的部位，同时又与生物体的若干性状，如抗性突变有关。

本试剂盒用简便快速的方法即可快速提取得到线粒体核糖体。

本试剂盒适用于提取新鲜细胞和组织样本的线粒体核糖体，用于冻存样本的提取时由于冻存过程中大部分线粒体可能会被破坏，线粒体核糖体回收率较低。

本试剂盒提取的线粒体核糖体具有生物活性，可以用于线粒体核糖体功能研究、蛋白提取等各种下游应用。本试剂盒需要使用 $170000\times g$ 的离心力，没有相应离心机的话可以选择低速离心法的试剂盒，低速离心法试剂盒只需要达到 $20000\times g$ 以内的离心力即可提取内质网，一般的常规台式离心机均可以满足使用要求。低速离心法试剂盒提取得到的线粒体核糖体纯度相对于高速离心法的较低，回收率相当。

试剂组成：

产品名称	50T	100T	保持条件
线粒体核糖体提取液 A	50ml	100ml	2-8℃
线粒体核糖体提取液 B	25ml	50ml	2-8℃
线粒体核糖体提取液 C	25ml	50ml	2-8℃
核糖体保存液 D	20ml	40ml	2-8℃

注：

1. 试剂盒 2-8℃ 保存，开盖后组份按要求条件保存。
2. 试剂拆封后请尽快使用完！

自备试剂和仪器：

离心机、振荡器、涡旋混匀器、匀浆器、移液器、冰箱、冰盒，PBS 缓冲液、离心管、吸头、一次性手套。

使用方法：

一、使用注意事项：

1. 旋帽离心管装的试剂在开盖前请短暂离心，将盖内壁上的液体甩至管底，避免开盖时液体洒落。
2. 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。

二、操作步骤

1. 取 $1-2\times 10^7$ 个细胞，在 4℃， $500\times g$ 条件下离心 2-3min，小心吸取培养基，尽可能吸干，收集细胞。

【注】：

- ①组织样本，取 50-100mg 新鲜动物组织样本，用 PBS 洗涤干净，用手术剪刀尽可能剪碎。

2. 用冷 PBS 洗涤两次，每次洗涤后尽可能吸干上清。

【注】：

- ①在 $1000\times g$ 条件下离心 5 分钟。
3. 在沉淀中加入 500 μ l-1ml 冷的试剂 A 重悬，置冰上 5min。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

4. 将 Dounce 匀浆液匀浆 30-40 下, 然后在 4℃, 500×g 条件下离心 5min。

【注】:

①先用 Dounce 匀浆液的松型槌初步匀浆 10-20 次, 再用紧型槌匀浆 20-30 次。

②每上下一个来回为一次。

5. 将上清液在 1000×g 条件下离心 5 分钟, 弃沉淀, 收集上清。

6. 将上清液在 2000×g 条件下离心 5 分钟, 弃上清, 收集沉淀。

7. 将上清液在 11000×g 条件下离心 15 分钟, 弃上清, 收集沉淀。

8. 在沉淀中加入 0.5ml 提取液 B, 充分混匀。

9. 置振荡器振荡 20min。

【注】:

①使用振荡器/摇床的较低转速, 提取液能轻微晃动即可。

②没有振荡条件也可以不振荡, 稍微延长提取液的处理时间, 中间每隔几小时用移液器吹打混匀即可。

10. 在 200×g 条件下离心 2 分钟, 弃沉淀, 收集上清。

11. 在 1000×g 条件下离心 2 分钟, 弃沉淀, 收集上清。

12. 将上清液在 11000×g 条件下离心 15 分钟, 弃上清, 收集沉淀。

13. 在沉淀中加入 500 μl 提取液 C, 充分混匀。

14. 在 2-8℃振荡 15 分钟。

【注】:

①使用振荡器/摇床的较低转速, 提取液能轻微晃动即可。

②没有振荡条件也可以不振荡, 置 2-8℃静置, 稍微延长提取液的处理时间, 中间每隔几小时用移液器吹打混匀即可。

15. 在 3000×g 力离心 5 分钟。弃沉淀, 取上清。

16. 在 10000×g 力离心 10 分钟。弃沉淀, 取上清。

17. 将上清在 4℃, 170000×g 力条件下离心 60 分钟。弃上清, 沉淀即为线粒体核糖体。

【注】:

①如果条件允许, 可将离心时间延长到 2-24 小时。

②液体量较少没有合适转头时, 可以将小离心管套入大离心管进行离心; 或者用 PBS 补充液体量后用合适的离心管离心。

18. 用 100-400 μl 线粒体核糖体保存液或其他相应的缓冲液重悬沉淀, 置冰箱备用或直接用于下游实验。

【注】:

①可以不使用试剂盒中的保存液, 根据需要使用下游试验的缓冲液置-80℃保存。

②保存液中保存的样本需要重新回收的话, 可以采用 170000×g 条件下离心 60min 收集沉淀。

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. 禁止与其他品牌的试剂混用, 否则会影响使用效果。
4. 样品或试剂被细菌或真菌污染或试剂交叉污染可能会导致错误的结果。
5. 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。
6. 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。

保存: 2-8℃保存, 有效期一年。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com