



线粒体提取试剂盒说明书（简化版）

（货号：G006-1-1）

一、测定原理

本试剂盒用于快速从动物细胞或组织中分离出完整、纯化的线粒体。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。

二、试剂盒组份：

试剂	G006-1-1: 50T	保存条件
裂解液	100ml	-20℃ 保存
溶液 A	25ml	-20℃ 保存
漂洗液	10ml	-20℃ 保存
储存液	5ml	-20℃ 保存

三、自备仪器和试剂：

低温高速离心机、剪刀、微量移液器、1.5ml 离心管、涡旋振荡器、相差显微镜下、PBS

四、保存条件：-20℃ 保存。

五、操作规程：

1、样品的处理：

A、培养细胞裂解匀浆：

- 按照常规方法收集细胞。用PBS洗涤一次细胞并计数，离心（2000rpm，5min）收集细胞，吸尽上清。每次提取需要 5×10^7 个细胞。
- 加入1.5ml预冷的裂解液重悬细胞，冰浴放置10~15min。
- 将细胞悬液转移到小容量玻璃匀浆器内，冰浴的过程中用间隙严密的研杵研磨细胞30~40次。（相差显微镜下检查未裂解细胞应在50%左右即可）
- 转入第2步进行操作。

B、组织裂解匀浆：

- 称取100~200 mg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。
- 把组织放在一个置于冰上的离心管或培养皿中，用剪刀或刀片把组织剪切成非常



细小的组织碎片。

c、加入1.5ml冰预冷的裂解液，冰浴的过程中用间隙严密的研杵研磨细胞20次。

（相差显微镜下检查未裂解细胞应在50%左右即可）

d、转入第2步进行操作。

2、将细胞或组织匀浆物转移到预冷的离心管中，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溶液A，将匀浆后离心得到的上清液0.5ml（溶液A：上清液体积=1：1）沿管壁小心地加入含有溶液A的离心管中，覆盖于溶液A的上层。

4、4℃离心（15,000×g 10 min）。离心后的上清为胞浆成分，将上清转移到新离心管，沉淀则为线粒体。

5、往沉淀中加入0.2 mL漂洗液重悬线粒体沉淀，4℃离心（15,000×g 10 min），弃上清。

6、用50~100μl储存液或合适的缓冲液重悬线粒体沉淀，立即使用或-70 °C保存。

（加入储存液体积的估算：50μl/每100 mg组织，100μl/5×10⁷个细胞）