



# 线粒体/细胞核提取试剂盒说明书 (简化版)

## (G007-1-1 50T)

### 一、试剂组成及成份:

组份	G007-1-1: 50T	储存条件
裂解液	100 ml	-20°C
溶液 A	25 ml	-20°C
溶液 B	50 ml	-20°C
储存液 A	5 ml	-20°C
溶液 C	25 ml	-20°C
漂洗液	10 ml	-20°C
储存液 B	5 ml	-20°C

### 二、检测原理:

利用细胞核与线粒体在一定介质中的沉降速度的差异，可采取分级差速离心的方法，将细胞核与线粒体逐级分离出来。在均匀的悬浮介质中通过离心，各种细胞器及其它内含物由于沉降速度不同将停留在高低不同的位置。依次增加离心力和离心时间，就能够使这些颗粒按其大小、轻重分批沉降在离心管底部，从而分批收集。细胞器沉降先后顺序先是细胞核、线粒体、溶酶体和其他微体、核糖体和大分子。分级分离得到的组分，可用细胞化学和生化方法进行形态和功能鉴定。

### 三、自备仪器和试剂:

低温高速离心机、微量移液器、玻璃匀浆器（组织样本）、1.5mL 离心管、涡旋振荡器、相差显微镜、PBS

### 四、保存条件: -20°C保存。

### 五、操作步骤:

#### 1、样品的处理

##### A、培养细胞裂解匀浆

- a、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 $5\times10^7$ 个细胞。
- b、加入1.5ml预冷的裂解液重悬细胞，冰浴中孵育10~15min。



- c、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20~40次。
- d、转入第2步进行操作。

## B、组织裂解匀浆

- a、称取100~200 mg新鲜组织如肝脏、脑、心肌等，用PBS或生理盐水冲洗，洗净血水，滤纸吸干。
- b、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1.5 ml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。转入第2步进行操作。

2、将组织或细胞匀浆液转移到预冷的离心管中，4°C，1000×g离心3 min，沉淀即为细胞核，线粒体则分布于上清液。

## 3、线粒体的提取

- a、在另一个新的预冷的离心管中预先加入0.5ml溶液C，取第2步得到的上清液0.5ml（溶液C：上清液体积=1: 1）沿管壁小心地加入含有溶液C的离心管中，覆盖于溶液C的上层。
- b、4°C离心（15000×g 10 min）。离心后的上清为胞浆成分，将上清转移到新离心管，沉淀为线粒体。
- c、往沉淀中加入0.2 ml漂洗液重悬线粒体沉淀，4°C离心（15,000×g 10 min），弃上清。
- d、用50~100μl储存液B或合适的缓冲液重悬线粒体沉淀，立即使用或-70 °C保存。

## 4、细胞核的提取

- a、吸尽第2步中多余的上清得沉淀，加入0.5 ml溶液A重悬沉淀制成悬液。
- b、将另一预冷的新离心管内加入1 ml溶液 B，将步骤4a中制备的悬液吸取置于溶液B之上，4°C，1000×g离心10min，弃上清，得较纯的细胞核沉淀。
- c、用适量的储存液A重悬细胞核，进行下一步实验或-70°C保存备用。