Waals™ Cytoplasmic and Nuclear Protein Extraction Kit

操作说明

- **描　述：**Waals™ Cytoplasmic and Nuclear Protein Extraction Kit，包含 Cytoplasmic Lysis Buffer 和 Nuclear Lysis Buffer。
- **试剂盒储存：**4 ℃保存。
- **自备试剂：**蛋白酶抑制剂 Cocktail、磷酸酶抑制剂（按需）。
- **介　绍**

Waals™ Cytoplasmic, and Nuclear Protein Extraction Kit 是一款综合性的蛋白质提取工具，专为研究人员提供从细胞中提取细胞质蛋白和细胞核蛋白的全面解决方案。本试剂盒通过独特的配方和技术，能够分步且高效地裂解细胞，确保从同一细胞样本中分离得到纯净的细胞质蛋白和细胞核蛋白。这种多层次的蛋白提取方法不仅简化了实验流程，还大大提高了蛋白提取的效率和纯度，非常适合进行复杂的蛋白质组学研究。

操作步骤

- **准备工作**

1. 准备足够的冰，以保持细胞在处理过程中的低温状态。
2. 准备好细胞样本，确保细胞数量足够且状态良好。

- **细胞收集与洗涤**

1. 收集 5 × 10^6 细胞于 1.5 mL 的离心管中，用预冷的 PBS 洗涤两次，去除培养基和血清中的杂质。
2. 离心收集细胞，去除 PBS。

- **细胞质蛋白提取**

1. 加入 250 μL Cytoplasmic Lysis Buffer（已加入蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂）重悬细胞，轻轻吹打混匀。
2. 在冰上孵育 10 分钟，期间每隔 2-3 分钟轻轻吹打混匀一次，以确保细胞充分裂解。
3. 1000 g 离心 10 分钟，收集上清至新离心管中（勿吸到沉淀，可适当保留部分液体），同时保留**沉淀**（此部分包含细胞核蛋白），置于冰上。

版本号：CNPE0120240703

4. 将步骤 3 中的上清 16000 g 离心 15 分钟，收集上清至新离心管中（勿吸到沉淀，可适当保留部分液体），该上清为细胞质蛋白。

■ **细胞核蛋白提取**

1. 将沉淀 12000 g 离心 1 分钟，尽量吸去上清（可接触到沉淀）。
2. 加入 100 μL Nuclear Lysis Buffer（同样需加入蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂）。
3. 在冰上孵育 30 分钟，期间每隔 5 分钟涡旋振荡一次，以充分裂解细胞核。
4. 12000 g 离心 10 分钟，取上清至新的离心管中，该上清为细胞核蛋白。

■ **蛋白浓度测定与保存**

1. 使用 BCA 法或其他蛋白浓度测定方法，对提取的细胞质和细胞核蛋白进行浓度测定。
2. 根据实验需求，将蛋白分装并保存于-80 ℃冰箱中备用。

■ **注意事项**

1. 所有操作均在冰上进行，以保持蛋白的活性。
2. 提取过程中要避免剧烈振荡，以防止蛋白降解。
3. 蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的用量按试剂说明进行准确添加。
4. 提取完成后，应尽快进行蛋白浓度测定并保存样品，以避免蛋白降解。

■ **常见问题与解决方案**

1. 提取的蛋白浓度过低：可能是细胞数量不足或提取过程中蛋白损失过多。建议增加细胞数量并优化提取条件。
2. 提取的蛋白质中含有其他成分：可能在吸液过程中接触到了其他成分或离心速度不够。建议严格按照操作步骤并调整离心条件。
3. 蛋白活性降低：可能是操作过程中温度过高或处理时间过长。建议严格在冰上操作并控制处理时间。