

## 核蛋白和胞质蛋白提取

### 1. 样品准备



- 1.1 每20  $\mu\text{L}$ 细胞沉淀加入200  $\mu\text{L}$ 预冷的低渗透压缓冲液（含蛋白酶抑制剂）
- 1.2 冰上裂解 30 min

### 2. 细胞质提取



2. 4 $^{\circ}\text{C}$ ，12000  $\text{g} \times 10 \text{ min}$  离心，收集上清即胞浆蛋白

### 3. 细胞核提取



- 3.1 对离心后的沉淀（细胞核），加入50  $\mu\text{L}$ 预冷的核蛋白提取缓冲液（含蛋白酶抑制剂），冰上裂解30-60 min
- 3.2 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12000  $\text{g} \times 15 \text{ min}$  离心，收集上清即核蛋白

### 4. 蛋白检测

4. 按照 BCA 蛋白定量试剂盒的说明书操作，分别对提取的胞质蛋白和核蛋白进行定量

## 常见问题解析

### 1. 蛋白浓度过低怎么办？

可能是细胞数量过少，可适当增加细胞数量；也可能是裂解不充分，需检查裂解液的用量和裂解时间是否足够，或涡旋等操作是否到位，可以加入超声步骤，但要注意冰上操作。

### 2. 蛋白降解怎么办？

可能是蛋白酶抑制剂未加或失效，应确保蛋白酶抑制剂现用现加且在有效期内；也可能是操作温度过高，需严格控制在冰上操作。

### 3. 核蛋白和胞质蛋白交叉污染怎么办？

若胞质蛋白中混入核蛋白，可能是细胞裂解时细胞核破裂，需注意低渗裂解的时间和力度，或离心不彻底，需提高离心速度或时间；若核蛋白中混入胞质蛋白，可能是细胞核洗涤不充分，应增加洗涤次数，或是在转移细胞核沉淀的过程中，若不小心吸入了部分胞质蛋白上清液，一定要完全吸尽残余的上清液。

### 4. 提取的蛋白有沉淀怎么办？

可能是蛋白浓度过高，可适当稀释；也可能是裂解液中的成分未完全溶解，使用前应确保裂解液充分混匀。

## 参考文献

- [1] Kuster DW, Merkus D, Jorna HJ, et al. Nuclear protein extraction from frozen porcine myocardium [J]. J Physiol Biochem, 2011, 67(2): 165-173.