

# SDS法提取蛋白（细胞样本）

## 1.清洗

1.1 弃培养基，用4°C PBS轻柔冲洗2次，吸净残留



## 2.裂解

2.1 按50-100  $\mu$ L裂解液/ $10^6$ 细胞比例加入1 $\times$ SDS-PAGE上样缓冲液，RT裂解30 min  
2.2 用细胞刮刀刮下细胞，转移至EP管。



## 3.变性

3.1 95 °C，金属浴10 min



## 4.超声 (可选)

4.1 冰上超声（30%功率，10秒脉冲 $\times$ 3次，间隔30秒）



## 5.离心

5.1 12000 rpm，4°C，离心10分钟，取上清至新EP管

## SDS法提取蛋白（组织样本）

### 1. 预处理

1.1 取50-100 mg组织，液氮速冻后研磨成粉末或剪碎成 $<1 \text{ mm}^3$ 小块



### 2. 裂解

2.1 按1:10 (w/v) 加裂解液（如100 mg组织加1 mL），匀浆器冰上匀浆30秒



### 3. 加热

3.1 5°C加热10分钟，冰浴冷却



### 4. 离心

4.1 12000 rpm, 4 °C, 离心15分钟，取中间清液

## 常见问题解析

出现样品粘稠或有肉眼可见颗粒，电泳时条带堆积在凝胶顶部时，怎么办？

①SDS浓度不足：难溶蛋白（如膜蛋白）需提高SDS至4%，可添加辅助变性剂：8 M尿素或2 M硫脲；②加热不充分：确保95-100°C加热5-10 min，对极端难溶蛋白可延长至15 min（需补加DTT防氧化）；③样本未充分破碎：组织样本需液氮研磨至粉末，细胞样本可配合超声处理（冰上，3×10秒脉冲）。

## 参考文献

- [1] Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 [J]. *Nature*, 1970,.227(5259):680-685.
- [2] Gallagher S.R. One-dimensional SDS gel electrophoresis of proteins [J]. *Current Protocols in Molecular Biology*, 2012, Chapter 10, Unit 10.1.