

**上海生物样本库**  
**最佳实践规范及标准操作流程**  
**文件汇编**  
**(第二版)**

2010年5月

<b>上海生物样本库</b>				
质量管理体系文件				
文件名称	细胞蛋白质提取操作规程		编号	SOP-SC-060-01
批准人		批准日期	实施日期	

## 细胞蛋白质提取操作规程

### 1. 目的

规定从细胞中提取蛋白质实验应遵守的操作。

### 2. 适用范围

使用与从细胞中提取蛋白质的操作。

### 3. 定义和术语

无

### 4. 职责

4.1 样本库实验技术员负责从细胞中提取总RNA。

### 5. 设备和器材

见正文内容

### 6. 正文

#### 6.1 标准裂解法

6.1.1 离心收集细胞后，用预冷的 PBS 洗细胞 2 次。

6.1.2 每  $1 \times 10^7$  细胞加 1ml 裂解液 (8mol/L 尿素, 4% CHAPS, 现加 65mmol/L DTT 和 0.2% (W/V) Bio-Lyte, pH $3 \sim 10$ ), 放于冰上静置裂解 30min, 再超声 (180~200W, 每次工作 10s, 间隔 10s, 共 20 次)。

6.1.3 在 4℃ 下 20000rpm 离心 1 小时, 取上清储存于 -80℃。

#### 6.2 硫脲裂解法

6.2.1 离心收集细胞后，用预冷的 PBS 洗细胞 2 次。

6.2.2 每  $1 \times 10^7$  细胞加加含硫脲裂解液 (7mol/L 尿素, 2mol/L 硫脲, 4% CHAPS, 现加 65mmol/L DTT 和 0.2% (W/V) Bio-Lyte, pH $3 \sim 10$ ) 约 1ml, 放于冰上

静置裂解 30min, 再超声(180~200W, 每次工作 10s, 间隔 10s, 共 20 次)。

6.2.3 在 4℃下 20000rpm 离心 1 小时, 取上清储存于-80℃。

## 7. 相关文件

《蛋白质提取控制程序》 SOP-SC-031-01

## 8. 参考标准与文献

双向凝胶电泳比较三种常用蛋白质提取方法, Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 21 (5) :691~694, 2005。

