蛋白质的提取

一、 准备工作

异丙醇、含 0.3M 盐酸、95%乙醇、无水乙醇、1%SDS

二、 操作步骤

1. 取沉淀 DNA 后残留的上清，用异丙醇沉淀蛋白质。每一使用 1ml TRIzol 加 1.5ml 异丙醇，室温放置 10min，2-8℃12000×g 离心 10min 弃上清；
2. 用含 0.3M 盐酸胍的 95%乙醇洗涤蛋白质沉淀。每一使用 1ml TRIzol 加 2ml 洗涤液，室温放置 20min，2-8℃7500×g 离心 5min，弃上清，重复两次。用 2ml 无水乙醇同样方法再洗一次；
3. 真空抽干蛋白质沉淀 5-10min，用 1%SDS 溶解蛋白质，反复吸打，50℃温浴使其完全溶解，不溶物 2-8℃10000×g 离心 10min 除去。分离得到的蛋白质样品可用于 Western Blot 或者-5 至-20℃保存备用。

注意：

1) 蛋白质沉淀可保存在含 0.3M 盐酸胍的 95%乙醇或者无水乙醇中 2-8℃一个月以上或者-5 至-20℃一年以上；
2) 用 0.1% SDS 在 2-8℃透析三次，10000×g 离心 10min 取上清即可用于 Western Blot。

三、 常见问题分析

1) 得率低：
   a）样品裂解或者匀浆处理不彻底；
   b）最后得到的蛋白质沉淀未完全溶解。
2) 蛋白质降解：组织取出后没有立即处理或者冷冻；
3) 电泳时条带变型：蛋白质沉淀洗涤不充分。