

大体积培养基样品预处理SOP

1. 仪器设备

名称	厂商	型号
落地式冷冻离心机	力新仪器（上海）有限公司	力康Neofuge 1600R
大容量冷冻离心机	日立	CR21GIII / CR22GIII
微量移液器	Eppendorf	Biomaster 4830
超净工作台	苏州安泰空气技术有限公司	A12010423
电子天平	上海浦春计量仪器有限公司	JY202

2. 试剂

名称	厂商	货号
NaOH	国药	10019762

3. 耗材

名称	厂商	货号
50 ml离心管	康宁	430829

4. 实验准备

- 离心机预冷：打开离心机电源开关和压缩机制冷开关，将温度设定为4℃，盖离心机盖，使离心机内腔温度降到设定温度；
- 准备离心管和离心杯，做好标记，标记应包含订单号，蛋白名和实验日期；
- 超净工作台处理（低内毒素纯化需要用到）：用消毒酒精擦拭超净工作台后，拉下玻璃，打开紫外灯照射10 min灭菌；

5. 实验流程

- 将细胞组转交的培养物小心掉到做好标记的离心杯中，用电子天平配平，采用800 g低速离心10 min分离细胞和培养基，小心倒出培养基至洁净且做好标记的离心杯中；
- 用PBS pH 7.5缓慢将细胞吹起，将同一样品的所有细胞收集到一起，用电子天平配平，再次低速离心，丢弃上清，将收集的细胞冻存在-20℃冰箱备用；
- 收集的培养基，用电子天平配平，采用8500 rpm高速离心10 min进一步澄清，然后将上清液缓慢转移到做好标记的洁净离心管中备用；
- 用预处理好的中空纤维过滤装置将高速离心好的培养基再次过滤澄清；
- 用预处理好的切向流浓缩装置将过滤好的培养基浓缩备用；
- 如果待纯化的样品低内毒素纯化，则上述五步中培养基转移和中空纤维过滤应在超净工作台内完成。

6. 实验清场

- (1) 使用过的中空纤维过滤装置和切向流浓缩装置按对应的标准操作规程清洗干净保存；
- (2) 实验台面收拾整洁。

7. 注意事项

- (1) 离心时务必用电子天平将所有离心管两两配平；
- (2) 中空纤维过滤装置和切向流浓缩装置的使用应严格按照相应的标准操作规程进行；
- (3) 中空纤维过滤和切向流浓缩时培养基样品应置于冰上。
- (4) 低内毒素纯化样品必须在超净工作台处理。

The end



• 一站式蛋白抗体发现服务

重组蛋白 · 抗体 · 噬菌体文库 · 诊断原料

—— 武汉国家生物产业基地 · 光谷抗体发现与筛选公共服务平台 ——