

## 细胞裂解及裂解液澄清标准操作规程

### 1. 仪器设备

名称	厂商	型号
超声波细胞粉碎机	宁波新芝科技股份有限公司	JY92-IIN
纯水仪	Heal Force	SMARTPLUS-N
落地式冷冻离心机	力新仪器（上海）有限公司	Neofuge 1600R
大容量冷冻离心机	日立	CR21GIII / CR22GIII

### 2. 试剂

名称	厂商	货号
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O	国药	10020318
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	国药	10017618
KCl	国药	10016318
NaCl	国药	10019318
HCl	国药	53100278
NaOH	国药	10019762
Tris	国药	30188360
甘油	国药	10011018
PMSF	阿拉丁	P105539

### 3. 实验准备

- （1）配制裂解缓冲液PBS pH 7.5, 10%甘油, 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 10%甘油;
- （2）超声波细胞粉碎机变幅杆清洗;
- （3）离心机预冷至4°C;
- （4）高压细胞破碎仪预冷。

### 4. 实验流程

- （1）根据项目决定选择合适的裂解缓冲液将细胞重悬，一般细胞浓度为5%-20% (w/v)，即1 g细胞用5-20 ml裂解缓冲液重悬;
- （2）根据重悬液体积加入PMSF;
- （3）重悬液体积不超过100 ml的选择超声波细胞粉碎机裂解，选择6#变幅杆，功率20%，工作3s，停止3s；裂解10-30 min，样品应置于冰水浴中；
- （4）大体积发酵要选择高压细胞破碎仪裂解，大肠杆菌裂解压力为900 bar，裂解2次，酵母菌裂解压力为1200 bar，裂解3次；
- （5）小体积裂解液用落地式冷冻离心机9000 g离心10 min澄清，离心前样品用电子天平配平；
- （6）大体积发酵液用大容量冷冻离心机8500 rpm离心30 min，离心前样品用电子天平配平，小心倒出上清液再重复离心一次，第二次离心的上清液用抽滤瓶抽滤澄清；

## 5.实验清场

- (1) 离心后的上清液置于4°C冰箱中或冰盒内；
- (2) 离心后的沉淀保留备用；
- (3) 收拾实验台。

## 6.注意事项

- (1) 超声波破碎时会放出大量的热，样品应置于冰水浴中，不可单独用碎冰或水代替；
- (2) 高压细胞破碎会释放大量的热，冷却水循环切不要忘记打开，否则样品会被烧糊。

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 ——