

超滤管浓缩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
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
无水乙醇	国药	10009218

3. 耗材

名称	厂商	货号
超滤管	Millipore	UFC810008/UFC903024

4. 实验准备

- （1）配置试剂：100 mM NaOH，20%乙醇。
- （2）离心机预冷到4℃；
- （3）根据待处理的样品体积选择Ultra-15（最大样品容量为12 ml，最小截留体积150-300 μl）或者Ultra-4（最大样品容量为3.5 ml截留体积50-100 μl），再依据待处理样品蛋白分子量大小选择不同截留分子量的超滤管，选择的标准为，截留分子量要小于被浓缩蛋白分子量的一半，超滤管的上层为截流层，下层为滤出层；
- （4）待处理的样品需经过高速离心后，取上清，样品无可见沉淀，方能使用超滤管浓缩。

5. 实验流程

- （1）新超滤管上层加入纯化水后，5000g离心10min。离心完成后将纯化水倒掉；
- （2）将样品加入超滤管上层截流层，用电子天平配平后，5000g离心10min；
- （3）离心完成后，取滤出层的液体使用酶标仪检测，检测是否有蛋白漏出，取出超滤管上层截流层，将用移液枪将超滤管内剩余的蛋白样品吹均匀，如果蛋白浓度较高应当及时取出以防蛋白浓度过高造成沉淀。如若浓度不够，则继续以上操作，但每次超滤都应该检测下面的滤出液中是否有蛋白样品漏出，如果有样品漏出应该及时更换超滤管并回收漏出样品；
- （4）浓缩完成回收样品时应该用移液枪将样品吹均匀再吸出，为获得最大的回收率，浓缩完的样品应该及时取出；
- （5）为避免样品交叉染污，重复使用旧超滤管之前应该用100 mM NaOH吹洗三遍。

6. 实验清场

- (1) 使用过后的超滤管将截流层和滤出层用纯化水吹洗三遍。
- (2) 将超滤管的截流层和滤出层都加入20%乙醇保存，放入4℃冰箱。
- (3) 重复使用的超滤管每次使用前都必须用100 mM NaOH吹洗三遍。

7. 注意事项

- (1) Ultra-4超滤管承受的最大离心力为7500 g；
- (2) Ultra-15超滤管承受的最大离心力为5000 g；
- (3) 超滤管不可超出其承受最大离心力使用。

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 ——