

Test de la nouvelle coupe anti mousse pour broyeur cellulaire One Shot.

Laboratoire de Physiologie Cellulaire Végétale/iRTSV/CEA Grenoble

Micro-organisme utilisé : *Lactococcus lactis*
Pression : 2300 bars

Protocole

- Après expression, centrifugation des cultures cellulaires pendant 20 minutes à 5.000 x g 4°C. Elimination du surnageant et congélation du culot de bactéries à -20°C.
- Resuspension du culot bactérien dans 25 mL de Tris 20 mM pH 7.9 avec sonication jusqu'à homogénéisation du milieu. Séparation en deux parts égales : une moitié avec l'ancienne coupe et l'autre moitié avec la nouvelle coupe.
- Lyse des bactéries dans le broyeur cellulaire One Shot, 2300 bars. Récupération du lysat dans un tube SS34 et conservation sur glace.
- Centrifugation du lysat pendant 12 minutes à 10.000 x g afin de séparer les bactéries non lysées et les débris cellulaires des protéines. Transfert du surnageant contenant les protéines dans un tube à ultracentrifugation.
- Resuspension du culot dans 6 mL de tampon Tris 20 mM pH 7.9. Broyage de la suspension dans le broyeur cellulaire
- Centrifugation du lysat pendant 12 minutes à 10.000 x g afin de séparer les bactéries non lysées et les débris cellulaires des protéines. Transfert du surnageant contenant les protéines dans un tube à ultracentrifugation.

Données :

3,3 grammes de bactéries (poids frais) reprises dans 25 mL de tampon soit 1,65 g de bactéries par condition

Pesage des débris cellulaires après deux passages dans le disrupteur

* Nouvelle coupe : 0,35g

* Ancienne coupe : 0,66g

Attention, ces deux pesées ne sont peut être pas très précises (pas sur d'avoir éliminé tout le liquide)

Vue de l'ancienne coupe : dessus (gauche) et avec le couvercle (droite)
après cassage de 8 mL de suspension bactérienne



Vue de la nouvelle coupe anti-mousse avec le couvercle



Comparaison de la présence de mousse issue du cassage des bactéries
entre ancienne (gauche) et nouvelle coupe (droite)

