

HUMANKINE[®] 系列的重组蛋白溶解注意事项

Proteintech 的 HUMANKINE[®] 系列的细胞因子均为冻干粉（仅个别特殊的重组蛋白为液体），冻干粉运输方便，活性稳定，在 -20℃ 或 -80℃ 条件下可以保存数年。用户在进行科学研究时，需要将冻干粉在使用前进行溶解，然后按照一定的浓度，以液体形式加到培养体系或是注射入动物体内。

溶解步骤非常关键，因溶解不当而导致细胞因子失活或是浓度不准确，将会影响用户的实验结果，给科研工作带来困扰。溶解过程中的注意事项，详述如下：

1、开盖前离心试剂管，10000-12000rpm 离心 30s 或 3000-3500rpm 离心 5min。

HUMANKINE[®] 系列的重组蛋白产品中不含有载体蛋白或其他添加剂（如 HSA、BSA 或蔗糖、甘露醇、海藻糖等），通常以最少量的盐来进行冻干处理，盛放于无菌塑料管内，微量的蛋白在冻干过程中会沉积在管壁内，形成很薄或不可见的蛋白膜，冻干粉在运输过程中可能会因颠簸而飘散并粘贴于管壁或管盖上，所以在打开塑料管盖前，需将冻干粉通过离心收集到管底，以使用很小体积的液体即可将冻干粉完全溶解。

2、用无菌水或合适的溶剂重悬至 0.1-1.0mg/mL，不可振荡（溶解步骤，非常关键）。

①. 务必使用说明书中推荐的溶剂来溶解/重悬冻干粉。

常用溶解液有：无菌水；无菌 1X PBS；无菌 10 mM 醋酸；无菌 20% 乙醇 + 50 mM 醋酸钠 + 75 mM 醋酸；无菌 4 mM 盐酸溶液（新鲜配制）。

②. 蛋白的溶解性与很多因素有关，比如 pH 值和离子强度等，说明书上推荐的溶解液均经过严格测试，是能够将该细胞因子或重组蛋白完全溶解的液体。

③. 蛋白在一定的浓度范围内可以保持良好的活性和稳定性。低于或高于该浓度范围，可能会导致蛋白无法完全溶解，甚至出现蛋白质聚集现象，或是活性减弱甚至丧失。

④. 不能用涡旋仪进行快速振荡，一般用移液枪的枪头轻吹几下，即可使细胞因子或重组蛋白完全溶解。有些不易溶解或是溶解缓慢的蛋白质，可以将其放置于水平摇床上低速摇一段时间，或是将重悬液在 4℃ 静置 2 小时以上。对于不易溶解的细胞因子，请参考说明书的溶解方法。

3、保存条件

重悬后的细胞因子或重组蛋白溶液在 2-8℃ 最长可保存一周，如要长期保存，则需用终浓度为 0.1% HSA 或是 0.1% BSA 的缓冲液来稀释，细胞因子浓度不得低于 10 μg/mL，然后分装冻存于 -20℃ 至 -80℃。分装时每管工作液的体积最好是一次实验的用量，以实现每次实验用完一支工作液，避免反复冻融引起蛋白活性的降低。如果实验中不允许含有 HSA 或是 BSA 等人活动物蛋白成分的，可以使用 5% 海藻糖作为保护剂，稀释分装。