



重组蛋白的使用和保存方法

Immune tech 的重组蛋白分为冻干粉和溶液态两种保存形式，原核细胞表达的重组蛋白为冻干粉状态，真核细胞表达的重组蛋白为溶液态保存，这样使得重组蛋白非常稳定，在-80℃条件下可保存数年。冻干粉在使用前需进行溶解，其中溶解的方法非常关键，因为溶解不好会降低蛋白的效用。溶液态保存的重组蛋白在冻融稀释使用过程中也需要仔细注意，这些都是用户在实际应用中经常遇到的问题。

1. 原核细胞表达的重组蛋白

大肠杆菌表达的重组蛋白，由于宿主菌缺乏相应的调控机制，细胞内的化学环境与其正常环境有差异，如氧化还原、胞内 pH、以及外源基因的导入，使得表达目的蛋白质的细胞在非正常状态下生长，表达的蛋白质多数以包涵体的形式存在。包涵体的形成是由于范德华力、疏水作用力和二硫键等作用力形成的，破坏这些作用力比较困难，溶解包涵体时最好加入一定的变性剂破坏多肽链之间的作用力，才能增加溶解度。蛋白的溶解性与很多因素有关，其中比较重要的是 pH 值和离子强度。很多时候重组蛋白若不能完全溶解，这样所配得的重组蛋白必然有效浓度不够，并且难以保持良好的活性和稳定性。

Immune tech 大肠杆菌表达的冻干重组蛋白，已经从包涵体中提纯，添加了蛋白保护剂，使用过滤后的无菌水作为复溶剂即可，**复溶原核表达的冻干蛋白 100μg，用 86μl 的超纯水**，轻轻摇晃使蛋白溶解，再用移液枪的枪头轻吹几下即可完全溶解，一定不能使用涡旋仪进行快速振荡或剧烈摇晃。

2. 真核细胞表达的重组蛋白

有活性的蛋白质不仅要转录和翻译，还要进行翻译后的加工，使得蛋白质的空间折叠方式维持正常，所以重组蛋白必须在真核细胞中进行，如哺乳动物细胞能够识别和去除基因中的内含子，对翻译后的蛋白质进行加工，这样表达的蛋白质具有生物活性。我们用溶液态来保存，保持了其良好的活性和稳定性。

3. 收到重组蛋白后的操作

收到重组蛋白后，请务必在 **4℃，12000rpm，离心 3 分钟**，再打开管盖进行分装、溶解和保存（如果重组蛋白体积小于 50μl，请延长离心时间至 5 分钟，以保证全部重组蛋白均离心下来，干粉状态的同样适用）。Immune tech 的重组蛋白使用特制的储存管，只有在 12000rpm 离心 3 分钟，才能将附着在管壁或盖内的重组蛋白全部离心下来（即使是在 10000rpm 离心也会离心不完全，导致出现重组蛋白的量不足的现象）。**请仔细阅读说明书，并按照推荐的保存条件正确保存和使用重组蛋白。**

4. 重组蛋白的长期保存

对于 Immune tech 大部分重组蛋白，比较合适的保存方式是：**分装后保存在-80℃。**

- (1) 对绝大多数重组蛋白来说，都需要保存在-80℃。**融化请务必在冰上操作，以尽量降低对重组蛋白的损害。**
- (2) 分装可以最大程度的降低反复冻融对重组蛋白的损害，同时也降低了由于多次从同一管中吸取蛋白造成的污染可能性。
- (3) 分装的量以一次实验用完为好，最少不能少于 10μl 每份。因为分装体积越小，重组蛋白的浓度越可能会受到蒸发、枪头的沾染以及管壁吸附的影响。
- (4) 复融后的分装重组蛋白如果一次用不完，将剩余母液保存在 4℃，避免再冻起来。重组蛋白工作液应该当天配制当天用完。

5. 重组蛋白的短期保存

大部分重组蛋白收到后 4℃短暂保存 1~2 周对抗体活性没有影响。如果抗体很快会使用（1~2 周内），推荐在 4℃保存，这是为了避免反复冻融对重组蛋白活性的损害，如果要长期保存，则最好是在-80℃。

6. 重组蛋白的运输条件

一般的运输过程需要 1~2 周的时间，所以是在低温 4℃的条件下来完成的。4℃运输最主要的目的是为了



对重组蛋白的损害，Immune tech 的重组蛋白有非常好的稳定性。

7. 重组蛋白的保护剂

在冻干和储存过程中常用的保护剂或稳定剂有糖类，多元醇，聚合物，表面活性剂，某些蛋白和氨基酸等。我们通常加 8%（质量比体积）的海藻糖和甘露醇作为冻干保护剂。海藻糖可明显阻止蛋白质二级结构改变以及冻干过程中蛋白质的伸展和聚集，甘露醇也是一种普遍应用的冻干保护剂和填充剂。

为保证重组蛋白能保持良好的结构状态，请务必按照说明书中的方法严格操作。

Immune tech 优质抗体和重组蛋白，轻轻松松 Western blot, Elisa

欢迎登陆 Immune tech 中文官方网站: www.immune-tech.com.cn

检索您所需要的抗体、重组蛋白产品和技术资料，以及 Immune tech 在中国各区域分销商的联系方式来咨询。

Immune Technology (China) Corp.

地址：江苏苏州工业园区生物纳米科技园 A3 楼 423 室

订购电话：0512-62956282-802

产品和技术咨询 QQ：1315156847