

PeproTech 细胞因子溶解稀释方法

一、查看说明书

1. 确定合适的溶解液

收到产品后，首先应查看说明书中细胞因子储存和处理的方法。见下图：

Storage & Handling:																				
Reconstitution:	Centrifuge vial prior to opening. Reconstitute in 100mM Acetic Acid to 0.1-1.0 mg/ml. Do not vortex. Store at 2°C to 8°C for 1 week, or prepare for extended storage.																			
Extended Storage:	Follow reconstitution with further dilution in a buffer containing a carrier protein (example 0.1% BSA). Store working aliquots at -20°C to -80°C. Avoid repeated freeze-thaw cycles.																			
Storage/Stability:	<table><tr><th>Product Form</th><th>Temperature</th><th>Storage Time</th></tr><tr><td>Lyophilized</td><td>-20° to -80°C</td><td>December 2020</td></tr><tr><td>Lyophilized</td><td>4°C</td><td>12 months</td></tr><tr><td>Lyophilized</td><td>Room Temperature</td><td>1 month</td></tr><tr><td>Reconstituted</td><td>2°C to 8°C</td><td>1 week</td></tr><tr><td>Extended Storage</td><td>-20° to -80°C</td><td>12 months</td></tr></table>		Product Form	Temperature	Storage Time	Lyophilized	-20° to -80°C	December 2020	Lyophilized	4°C	12 months	Lyophilized	Room Temperature	1 month	Reconstituted	2°C to 8°C	1 week	Extended Storage	-20° to -80°C	12 months
Product Form	Temperature	Storage Time																		
Lyophilized	-20° to -80°C	December 2020																		
Lyophilized	4°C	12 months																		
Lyophilized	Room Temperature	1 month																		
Reconstituted	2°C to 8°C	1 week																		
Extended Storage	-20° to -80°C	12 months																		

2. 确定合适的温度

图中的表格给出了细胞因子在冻干粉 (lyophilized) 状态下的溶解 (reconstituted) 和稀释 (extended storage) 的储存温度以及时间，您可以根据自己的实际需要选择。

Extended Storage: Follow reconstitution with further dilution in a buffer containing a carrier protein (Store working aliquots at -20°C to -80°C. Avoid repeated freeze-thaw cycles.

Storage/Stability:	Product Form	Temperature	Storage Time
	Lyophilized	-20° to -80°C	December 2020
	Lyophilized	4°C	12 months
	Lyophilized	Room Temperature	1 month
	Reconstituted	2°C to 8°C	1 week
	Extended Storage	-20° to -80°C	12 months

二、溶解

1. 离心

收到的管子内为冻干粉，开盖前要快速离心 10000-12000rpm x 30s。

2. 溶解

根据说明书红色标识地方的描述，选择合适的溶解液，溶解到后边的浓度范围内。如此可以确保蛋白充分溶解复性，保证产品质量。请不要使用非建议溶液溶解。

目的：使细胞因子从无活性的冻干粉状态充分溶解复性成为有活性的蛋白溶液。

注意：不要用涡旋振荡仪剧烈涡旋，可以用枪头轻轻吹打几次助溶。有的细胞因子溶解比较慢，需要在室温静置或者摇床低速摇一段时间使充分溶解。

3. 短期储存

溶解后的蛋白溶液可以在 2-8 度储存 1 周。

4. 长期储存

如果您的实验，一周内不能用完。必须将第 2 步中获得的溶液用含载体蛋白的溶液进一步稀

释。(详见：三、稀释)

目的：对溶解一步的蛋白溶液进行稀释冻存。加入载体蛋白可以封闭掉管壁上的蛋白结合位点，且可以在低温下维持细胞因子的稳定。

三、稀释

1. 配制

配制 0.1%BSA 或者 10%FBS 或者 5%海藻糖备用(确保无菌)，这三种稀释液的配制的 Buffer 可以用 PBS 或者细胞基础培养基。使用以上三种稀释液的任意一种稀释重悬的蛋白溶液，稀释浓度根据您的使用浓度确定，不要低于 10ug/ml。即可分装成小管，冻存在-20--80 度。

2.使用方法

使用时取用一支冻存的细胞因子，加入到您的培养基中至使用浓度。细胞因子应避免反复冻融。

四、你问我答

Q: 为什么会有这么多种溶解方法？

A: 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。PeproTech 的细胞因子或重组蛋白在出厂前均经严格测试，说明书上所标明的溶解液是能够将该细胞因子或重组蛋白完全溶解的液体。如果您所用的溶解液的 pH 值和离子强度与说明书中所标明的不符，很多时候会造成细胞因子或重组蛋白不能完全溶解或者根本无法溶解，这样所配得的细胞因子或重组蛋白必然活性不够或丧失。

Q: 没有看说明书的习惯，直接用 PBS 或培养液(1640 或 DMEM 等)等溶解细胞因子或蛋白的冻干粉。这样做可以吗？

A: 有时可以，要看具体情况。PeproTech 的大多数细胞因子或蛋白冻干粉的溶解液不是 PBS，此时千万不能用 PBS 或培养液直接来溶解，具体原因在上面已经叙述过。而有部分细胞因子，如重组人 KGF(产品编号：100-19)和重组人 FGF-23(产品编号：100-52)等，说明书上的溶解液即为 1x PBS，此时用 PBS 溶解完全没问题，那么用培养液溶解也是可以的，不过最好还是用先用 PBS 溶解，然后再用培养液稀释。

Q: 高于或低于该浓度范围会有什么问题呢？

A: 首先，细胞因子或蛋白会不稳定，即很容易出现活性下降的现象。其次，高于这个浓度范围，可能会超过该蛋白的最大溶解浓度，即蛋白无法完全溶解。再者，高于或低于该浓度范围，蛋白可能会出现聚集(agggregation)，最终结果还是部分蛋白未溶解，导致蛋白活性的减弱。

Q: 若想保证溶解液与冻干粉充分混匀，以实现细胞因子或重组蛋白的完全溶解，该怎么办呢？

A: 多数细胞因子或重组蛋白的冻干粉是很容易溶解的，一般我们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。对于不易溶解的细胞因子或蛋白，PeproTech 会在说明书中进行备注(Note)。如在重组人 IL-13(产品编号：200-13)的说明书中您会看到：Slow to dissolve (缓慢溶解)，在重组人 IL-11(产品编号：200-11)的说明中会看到：This solution is slow to dissolve(该溶液溶解缓慢)。这种情况下，您最好能将要溶解的细胞因子或重组蛋白放在水

平摇床(shaker)上低速摇一段时间，促使细胞因子或重组蛋白完全溶解。有些蛋白，如重组人 IL-13 Variant (产品编号：200-13A)虽然难溶，但却不需用摇床来加速溶解。其说明书上的备注为：Allow the reconstituted vial to sit at 4 度 for at > 2 hours before use. (将重悬液在 4 度静置 2 小时以上)。

五、注意事项

1. 一定要用推荐的溶液溶解(或溶解)冻干粉;
2. 一定要溶解到指定的浓度;
3. 一定不能振荡(vortex)。