

重组人 PTP1B 蛋白(His)

Recombinant Human PTP1B Protein(His)

Code No. AG61001

包装量:	120 μ g (3 mg/ml)
保存温度:	Package 2-1 -20°C Package 2-2 4°C

产品概述

本产品是由 *E. coli* 表达的重组人 PTP1B 蛋白截短体 (1-322 位氨基酸残基)，包含催化结构域，带有 N-His 标签，分子量约为 38 kDa。本产品具有良好的酶活力，可作为药物靶点，建立体系筛选治疗肥胖、II 型糖尿病、癌症等疾病的药物分子。

蛋白酪氨酸磷酸酶 1B (Protein Tyrosine Phosphatase-1 B, PTP1B) 是 PTP 家族的典型成员，它能够抑制多种膜受体酪氨酸激酶，例如表皮生长因子受体 (EGFR)、血小板衍生生长因子受体、胰岛素受体 (IR) 等；还能抑制脑源性神经营养因子 (BDNF) /肌球蛋白受体激酶 B (TrkB) 的级联反应，并通过激活 ERK 和减少 Smad2/ Smad3 磷酸化参与调节细胞凋亡过程。它参与多种疾病的病理生理学，包括癌症、代谢性疾病、自身免疫性疾病、心血管疾病和神经系统疾病。目前，大多数靶向 PTP1B 的临床研究仍集中在肥胖和 II 型糖尿病领域展开。

产品组成^{*1}

Recombinant Human PTP1B Protein(His)(3 mg/ml)	40 μ l
P-Exchange Buffer ^{*2}	10 ml
G-25 Desalting Column	1 pc

*1 : Recombinant Human PTP1B Protein(His) (3 mg/ml) 与 P-Exchange Buffer 包装于 Package 2-1 中，需放置于 -20°C 保存；G-25 Desalting Column 包装于 Package 2-2 中，需放置于 4°C 保存。

*2 : 本产品中配备的 P-Exchange Buffer 仅供脱盐及活性测定体系用量。如需进行其他测定体系，此试剂需自行配制。试剂组成为：50 mM Bis-Tris, 50 mM Tris, 100 mM NaOAc, 10 mM DTPA, 0.5% Tween 80, 0.05% IGEPAL CA-630, 于 25°C 调节 pH 至 7.0。

保存及运输

保存温度: Package 2-1 -20°C保存

Package 2-2 4°C保存

运输温度: Package 2-1 干冰运输或-20°C冰袋运输

Package 2-2 冰袋运输

注意事项

1. 由于 PTP1B 重组蛋白原储存液含有 DTT 组分，DTT 是一种小分子有机还原剂，对活性测试底物 pNPP 也具有还原作用，需先进行脱盐步骤，更换 PTP1B 的储存液后，才能进行活性测试。
2. 所有含有 PTP1B 蛋白的溶液，均推荐使用适配溶液体积的移液器吹打混匀或低档振荡混匀，避免产生气泡。
3. 本产品中配备的 P-Exchange Buffer 仅供脱盐及活性测定体系用量。如需进行其他测定体系，此试剂需自行配制。试剂组成为：50 mM Bis-Tris, 50 mM Tris, 100 mM NaOAc, 10 mM DTPA, 0.5% Tween 80, 0.05% IGEPAL CA-630, 于 25°C 调节 pH 至 7.0。

➤ 操作流程

脱盐步骤

1. 实验前准备：G-25 Desalting Column 一支，P-Exchange Buffer，ddH₂O。
2. 实验条件：脱盐步骤均需在 4°C 或冰上进行，所需 ddH₂O 也需提前预冷。
3. 取出 G-25 Desalting Column，打开底端透明塞头和上部红色塞头，依靠重力使柱内的保存液流尽。
4. 柱清洗：向柱内加入 4ml ddH₂O，依靠重力将柱内残留保存液洗净。
5. 柱平衡：向柱内加入 4ml P-Exchange Buffer，依靠重力使柱内的液体流尽。
6. 上样：取 60 μl P-Exchange Buffer 加入 PTP1B 蛋白管内，使用移液器轻柔吹打混匀（避免产生气泡），将混匀后的液体全部加入至 G-25 Desalting Column，依靠重力使柱内的液体流尽。
7. Wash：向柱内加入 100 μl P-Exchange Buffer，依靠重力使柱内的液体流尽。
8. 洗脱：向柱内加入 300 μl P-Exchange Buffer，使用干净的 1.5 ml 离心管收集 PTP1B 蛋白液。
9. 浓度测定：经过脱盐处理后的 PTP1B 蛋白液推荐使用微量 BCA 法测定（浓度范围约为 290-350 ng/μl）。

【注：经过脱盐处理后的 PTP1B 蛋白推荐立即使用，若不能一次性使用完全，请分管保存于 -20°C，避免反复冻融，可保存一个月。】

活性测定体系（以下仅为产品推荐体系，如需其他测定体系，请自行研讨。）

1. 基于 96 孔板体系，分组进行反应配制。（若采取其它体积，请等比例换算各组分加入量。）
2. 实验前准备：（4°C 或冰上）

脱盐后的 PTP1B 蛋白液	进行活性测定前使用 P-Exchange Buffer 稀释至 20 ng/μl
反应液	50 mM Bis-Tris, 100 mM NaCl, 10 mM DTPA, 0.8 mM pNPP (25°C 调节 pH 至 6.0)
停止液	2 M NaOH

【注：反应液与停止液本产品未提供，需自行配制。】

3. 组别设置：

空白对照组	100 μl 反应液 + 2 μl P-Exchange Buffer
阴性对照组	100 μl 反应液 + 2 μl 稀释后的 PTP1B + 抑制剂溶剂
实验组	100 μl 反应液 + 2 μl 稀释后的 PTP1B + 抑制剂

【注：以上组别设置为药物筛选推荐组别。】

4. 加液顺序：先加入反应液，再加抑制剂，最后加 PTP1B。（4°C 或冰上）
5. 混匀后，将 96 孔板静置于 30°C，反应 10 分钟。
6. 将 96 孔板立即转移到冰上，每孔加入 100 μl 2 M NaOH 停止酶反应。
7. 混匀后，测定每孔在 410 nm 处的吸光度。
8. 数据处理时，将阴性对照组与实验组均可扣除空白对照组的背景值，然后进行数据分析。