

# 新赛美生物产品相关问题集

## 一、 冻存液

### 1. 冻存液的保质期？

答：4 度冰箱放一年， -20 度冰箱放三年。

### 2. 冻存液常温放一天还能用吗？

答：室温放个 3-5 天没问题， 只要没有污染可以正常使用。

### 3. 冻存液可以用于原代细胞吗？ 相比于自己配的冻存液优势在哪里？

答：可以用于原代细胞， 相比传统的冻存液优势在于：

- (1) 不用自己配冻存液， 直接用；
- (2) 我们的冻存液直接冻于-80 度冰箱， 不需要梯度降温；
- (3) 活率较传统高。

### 4. 没开封的冻存液 4 度保存一年了， 可以用吗？

答：只要没开封不污染就没问题的。

### 5. 用无血清细胞冻存液冻存的细胞可以放在液氮保存吗？

答：可以放液氮， 但是需要先在-80 度冻存至少 24 个小时， 其实长期放-80 度就行， 没有必要放液氮。

### 6. 无血清细胞冻存液复苏细胞的话需要弃掉冻存液吗？

答：要弃掉的， 说明书有详细的复苏步骤。

冻存细胞复苏步骤：

1. 从冰箱中取出冻存的细胞， 立即放入 37℃水浴槽中快速解冻。

2. 待冻存管中细胞混合液完全融化后，立即加入 1ml 细胞培养基于冷冻管中与细胞混合，将其中的混合液移至含有约 5ml 该细胞培养基的离心管中，1000rpm，5 分钟离心收集冻存细胞沉淀，移去上清液（操作时小心，切勿将细胞沉淀移去）。

3. 加入适量的新鲜细胞培养基，使用移液管缓缓加入到细胞沉淀，轻柔地混匀，将细胞混合液移至事先准备好的培养容器中。

4. 镜检细胞后，可根据各自研究的需要和方法进行细胞常规培养。

**7. 新赛美的冻存液是针对所有细胞系吗？有的细胞系是不行？**

答：是通用于所有细胞系的，不过曾有客户反馈胚胎干细胞效果不是很好，其他都挺好的。

**8. 新赛美的冻存液可以冻存人 ips 细胞吗？**

答：这个是诱导多功能干细胞的，用我们的冻存液应该不行的。

**9. 客户冻存了一批小鼠肿瘤组织，分别冻在-80 和液氮中，下周准备复苏组织，直接用肿瘤组织做移植瘤，快速复苏以后，离心后的组织是不是就直接移植到小鼠身上，还是需要用 PBS 或别的溶液洗一下，以清除冻存液的影响？**

答：建议：PBS 洗涤（或者是您之前的实验操作），因为我们的冻存液本身也是含有 DMSO 的。

客户反馈，上次的冻存液冻组织分别冻在-80 度和液氮里，一个月后复苏做移植瘤都长出来了。

得出结论：新赛美冻存液也可以推荐冻存组织了。

10. 想问一下用新赛美的冻存液冻的细胞，化冻了没复苏，对细胞影响大吗？

答：具体情况具体分析，如果只是停电一会儿，问题不大，如果是化了好几天了，肯定就不行了。有客户案例：周末实验室冰箱突然跳闸，导致-80 冰箱断电，隔天发现冰箱化了一滴水，转移样品时想着前几天刚冻存的单克隆细胞估计是要凉了，还是抱着一丝希望复苏了，细胞活的好好的。

11. 冻存液的比例是多少呢？

答：新赛美的冻存液是直接使用的，不需要配所以不存在比例，如果是问冻存液中 DMSO 的比例，那就是 10%。

12. 昆虫细胞冻存用哪一款冻存液比较好呢？

答：新赛美的冻存液 C40100,我们就这一款，冻存昆虫细胞 H5,SF9 效果都是很好的。

13. 用过的冻存液一直放 4 度保存可以吗？

答：只要封口膜处理好，避免污染就行。

14. 细胞冻存液可以代替 dmsO 吗？比 dmsO 好在哪儿呢？

答：要看客户是不是用 dmsO 冻存细胞了，dmsO 只是细胞冻存其中的一个成分，但是常规的 dmsO 还要加血清，加培养基之类的。新赛美的冻存液也含有 dmsO 的，直接使用就可以，跟 dmsO 冻细胞相比，优势在于：

- ① 不含血清，配方明确，操作简单，不存在批次差异。
- ② 无需配置，即用型。
- ③ 不需要梯度降温，不需要放液氮，-80℃保存（>5 年）。

④ 效果跟常规血清冻存的效果是相当的。

15. 用无血清冻存液梯度冻存了对细胞的影响大吗，才发现注意事项有尽快放进-80℃冰箱？

答：梯度冻存不影响的，一般建议直接放-80℃的，是要尽快放回的，不宜在室温超过 10 分钟。

16. 新赛美细胞冻存液可以冻存人 ips 细胞吗？

答：这个是诱导多功能干细胞，用我们的冻存液应该不行的。

17. 新赛美冻存液放-80℃之后多久可以转入液氮？

答：至少 24 小时以上的，建议可以 5-7 天再转入液氮。

18. 新赛美无血清细胞冻存液含抗生素吗？

答：我们的冻存液含抗生素的，青霉素是 25ug/ml;链霉素是 25ug/ml。

19. 请问一下，客户没有-80 冰箱，只有-40 用我们冻存液，再转移液氮，影响大不？

答：建议客户直接放在液氮中，实在没有条件就直接放在液氮中，尽量避免转移过程中带来的影响，如果是原代细胞的话，建议客户在保种前做个预实验对照一下，避免损失。

20. 新赛美无血清细胞冻存液含抗生素吗？

答：我们的冻存液含抗生素的，青霉素是 25ug/ml;链霉素是 25ug/ml。

## 二、三抗 青霉素-链霉素-两性霉素 B (100X), 液体

### 1. 咱们的三抗可以抗细胞真菌么？

答：可以的，两性霉素就是抑制真菌的，三抗只是预防作用的。

### 哦，就是如果被感染了加三抗也不好使了么？

答：如果就是说污染已经起来的话，一般加抗生素是没用的。抗生素一般就是预防吧，提前加进去的，从源头上抑制细菌或者真菌生长的。如果已经长起来的话，那特别像细菌啊、真菌啊都有芽孢的，很难清除掉的。

如果客户硬要做的话，只能说啊，就是增加浓度，要经常清洗，经常换液，看看试试有没有效果吧。

### 2. 客户之前用双抗养细胞，现在改为三抗养，会对对测序有影响么？

答：这个应该没有影响的，我们那个三抗只是多了个两性霉素，和双抗里面的一样都是抗生素，而且含量不高的。

### 3. 客户反馈我们的三抗有沉淀，订购日期是去年 5 月份的，距离现在已有 1 年零 4 个月，这种可能是什么原因？

答：三抗和双抗保质期都是 1 年的，超过一年以上，里面有效成分青霉素钠等容易降解，会产生沉淀的，抗菌效果会下降，建议客户不要再用的。细胞污染还是要从源头抓起的，操作等都要注意的；抗生素只是预防作用的，如果本身污染严重，抗生素也不能抑制的

## 三、快速转膜液 (20X)

### 1. 快速转膜液转膜，最大的 110Kd 最小的 14Kd，跑 30 分

钟 marker 70Kd 以上都有残留，最近一般跑 35min，但是时间长了怕小分子又转过来了。客户是 300mA 转的，没敢用 400mA。这个可以用 400mA 放一块胶上转么，大概要转多久？

答：300mA 比我们推荐要小不少的，这种推荐时间在 40-60 分钟的，14kd 的蛋白，用 0.22um 的膜的，一般是不会转过的。

2. 快速转膜液含 SDS 么？

答：不含。

3. 快速转膜液转 37Kd、82Kd、212Kd 的蛋白，需要分 2 块胶跑么？另外，212Kd 的蛋白大概要跑多久呀？

答：212KD 的话，可能建议用 7.5%的胶吧，一般转 40 到 45 分钟，就 40 分钟一般也可以的。最小的 37Kd，其实分子量还算可以，一般用 7.5%的胶也可以的，就是转 40 分钟的话，一般也很少会转过掉的。

4. 快速转膜液跑一块胶和两块胶的时候，设置的电流一样么？

答：是的，一个转膜槽设置一样即可。

## 四、快速封闭液

1. 快速封闭液可以反复使用吗？

答：可以短时间内反复使用 2-3 次，但是后面效果会降低，要延长 10 分钟时间，不建议重复使用。生物素抗体不适合，因为产品含有蛋白，会和生物素起反应。

## 2、封闭液背景很深？

答：背景深有很多原因，封闭液不一定所有抗体都合适，如果遇到这种情况，建议可以换成奶粉，或者 BSA 封闭看看效果；如果效果都不好，可能是抗体质量不是很好导致背景深的。

如果连续做几次都说背景深：可能我们封闭液不怎么适合这个抗体，要换另一种类型封闭液的；封闭液种类多，有时候不同抗体适应性会有所差异。

注：快速封闭液和抗体稀释液最好不要一起用，容易过曝。

3、用快速封闭液封闭后，再用 BSA 稀释过的抗体没问题吧？（客户现在用的 BSA 稀释的抗体，也是用 BSA 封闭的。现在想试用咱们的封闭液，不太确定影不影响。）

答：这个不影响的。

## 五、蛋白印迹膜再生液/抗体剥离液

1. 问抗体剥离液可不可以板孵，不用摇床那种？

答：可以的，这种建议延长时间到 30 分钟的。

2. 1. 如果客户用抗体剥离液洗干净的话，去曝光，是不是曝出来是全黑的呀？

答：曝光之前还要用 TBST 清洗的，才能曝光的；

2. 2. 检测到信号就需要重新洗，那曝光出来条带就算是有信号么？信号是什么？

答：是的，曝光出来条带就是有信号的。如果这个曝光的话，它有一点就是说像那种，嗯，就是背景深吧，就是正常的话，一般也是偏白色的，它这印象都是黑色的嘛，不知道是曝光导致还是什么，正常的话一般是那种白色嘛，平时一般都是那种白膜黑条带嘛，一条一条的，如果是剥干净的话，就相当于曝光那个条带没有了，但是膜一般还是白色的。信号的话就是那个条带嘛，就是曝光的一条一条的条带。

### 3. 抗体剥离液的原理？

答：通过酸性条件下，还有表面活性剂等，使得抗体变性适合，从抗原解离下来的。

### 4. 抗体剥离液去除效果不好，抗体剥不下来的解决方案？

答：1、常规室温，温度太低的情况下建议温度高一点 37 度。

2、时间久一点，多剥几次。一定要从弱的条带开始剥，不要从强的开始。

### 5. 抗体剥离液是否可以回收利用？

答：可以回收利用，但是因为会残留杂质 不建议客户回收利用、容易将杂质带入到下一步中。

### 6. 请问一抗二抗去除液会不会影响二次显影的蛋白？

答：我们是温和中性去除，一般不会导致膜上抗原丢失，这种一般用于初步看结果的，最终还是全新做的结果比较好。

## 六、蛋白酶抑制剂混合液

1. 客户想问之前买的咱们的蛋白酶抑制剂一支在-20℃会冻住，而另一支不会，这是什么情况？？

答：可能跟那个放冰箱里的位置可能会有点影响。

还有一个就是那个结冰那个点可能会有点差异吧，就是一般不影响的。

我们的蛋白酶抑制剂加了异丙醇，就很容易化开的，即使冻住的话，很容易化开。正常的话一般在-20℃，时间不是特别久的话，一般是就是不凝固的，即使冻住的话也是稍微化一下就开了。

2. 蛋白酶抑制剂长时间在 RIPA 里会不会失效呀？需不需要现用现加？

答：一般 30 分钟就会失效的，要现配现用的。

## 七、蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合液

1. 这个蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合液是可以先按照 1:100 加到 r ipa 中么？

答：是的，但是这个现配现用的，不能保存的；根据实验需求多少，就配多少量的。

2. 蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合液含 EDTA 么？？

答：不含。

## 八、细胞/组织总 RNA 快速提取试剂盒

1. 细胞 RNA 提取试剂盒步骤一原理是什么呀？为啥一开始柱子 RNA 可以下去，后面还是一样的柱子，后面下不去了

呀？

答：这个是没有加乙醇的，会吸附大部分基因组 dna，而不会吸附 RNA，加了特定量的乙醇，就会吸附了 RNA，就是后续那一步。

## 九、彩色凝胶快速试剂盒

### 1. 彩胶为什么用无水乙醇压线，还是有东西析出来？

答：我们里面有某个试剂和乙醇接触的时候产生的部分互溶，可能密度差距有点大，等压完线凝固后可以直接倒掉那个就没有了，挂在壁上的杂质用水冲洗一下就好了。建议客户下次直接用水压线就不会有的。

### 2. 彩胶产生裂纹？

答：玻璃板干燥或者没洗干净导致跑的时候产生裂纹。建议客户暂时不用的话加水放在袋子里 4 度保存，不要放在室温太久了。（由于与凝胶聚合有关的硅橡胶称、玻璃板表面不光滑洁净，在电泳时会造成凝胶板与玻璃板或硅橡胶条剥离，产生气泡或滑胶；剥胶时凝胶板易断裂，为防止引现象，所用器材均应严格地清洗。硅橡胶条的凹槽、样品槽模板及电泳槽用泡沫海绵蘸取“洗洁净”仔细清洗。）

### 3. 1. 彩胶产生胶有气泡？

答：需要加 SDS。

### 3. 2. 加 SDS 后有大量泡沫？

答：不要剧烈晃动，就用枪打几下就好了，加了 SDS 剧烈晃动就会产生很多泡沫的。

### 4. 客户跑 2kd 的小分子蛋白推荐百分之多少的胶啊？

答：这种要用专门跑多肽的胶。

#### 5. 彩胶里的浓缩胶有浓度吗？是多少？

答：有浓度的，固定浓度 5%。

#### 6. 新赛美的彩胶，可以用 200v 跑电泳嘛？

答：可以的。

### 十、通用型抗体稀释液

#### 1. 稀释液容易沉淀是为什么呢？

答：抗体用久了，这个可能每次会带入上一次的杂质，久了就容易沉淀的。

#### 2. 通用型抗体稀释液应该放 4°C 保存的，客户放在室温 20 多度保存了 14 个小时，请问还能用吗？

答：室温放了 14 个小时，这个时间不长的，不影响的。

### 十一、预染蛋白分子量标准（P9006）

#### 1. marker 能曝光跟目的蛋白一起曝出来吗？

答：正常是不能曝出来的，但有时候遇到难曝光的，曝光时间久，是能曝出来 marker 那种条带的。

#### 2. marker 有标签不？

答：我们有 his, s-tag, Nusa 标签的，有些可能是非特异性结合的，这种情况曝光时候可以裁掉，或者用锡箔盖住曝光的。

#### 3. 1. 客户做 WB，转膜环节出现 marker 只转过去一部分，这

## 种问题的原因是？

答：这种一般就是滤纸不干净，有残留的盐离子结晶干扰，每次做完实验用清水把滤纸洗干净就好了。

## 3.2. 还有出现跑胶时候 marker 很清楚，转膜时候 marker 就变浅或在消失了，这是什么原因呢？

答：这个一般就是三明治结构没夹紧。海绵用的时间长了变得松垮了，需要及时更换新的。

## 十二、NcmDH5a 感受态

### 1. NcmDH5a 感受态快转的原理

答：感受态细胞，其实是经过理化处理，使大肠杆菌的细胞膜通透性变大，处于最适摄取和容纳外来 DNA 的一种生理状态。咱们的快转 DH5a，经过咱们的特殊技术处理，相比常规氯化钙处理的感受态，转化效率高很多，不用热激冰浴也可以达到常规的转化水平，所以没必要热激冰浴。当然，热激冰浴的话，转化效率会更高。

### 2. 客户问她需要多少目的 dna 加到多少 DH5a 感受态里？这种该怎么跟客户建议。

答：连接产物一般建议 10ul 体积加到 100ul 感受态细胞的，连接方法要参考连接酶公司给的量及做法，质粒一般 1 纳克就可以。

## 十三、BCA 蛋白定量试剂盒

### 1. 新赛美 BCA 检测的最大浓度是 2ug/ul 吗？

答：新赛美 BCA 检测的浓度是 0.02-2mg, 2mg 是 2000ug。

#### 十四、RIPA 裂解液

1. 新赛美的 RIPA 是还原性的还是非还原性的？

答：还原性的。

#### 十五、双抗 青霉素-链霉素

1. 客户把双抗放 4 度两个月时间，这样还可以用吗？

答：不建议，一般不超一个月。

#### 十六、快速蛋白染色液

1. 新赛美的快速蛋白染色液可以替代考马斯亮蓝 R-250 吗？

答：咱们快染属于考马斯亮蓝的 G 型，就是 G250，传统染色用的 R250。作用都是用来蛋白染色的，G 型可以快染，R 型是慢染。是可以替换的。

#### 十七、水浴锅抑菌剂

1. 新赛美的水浴锅抑菌剂可以用在细胞培养箱上面吗？

答：这个不太建议。可以在细胞房里的水浴锅用。

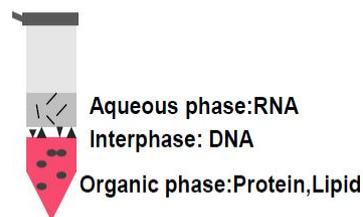
#### 十八、RNA 柱式提取试剂盒

## 1.1 客户反映我们的 RNA 柱式提取试剂盒提取的 RNA 质量 OD 值不太行，这个有可能是什么原因？

答：客户提的什么组织，OD 值多少？客户是用于细胞系，OD 值没回。不知道是 OD 值高还是低，造成的原因不一样的：偏低，应该是有蛋白质污染，rna 纯度低。如果细胞数量太多裂解液不足，会造成这种情况。还有就是操作过程中，比如枪头，手套等也有可能引入污染。裂解后加入氯仿后震荡要充分。

4. 12,000rpm, 4-25℃离心 1 分钟，此时样品会分为三层：红色有机相、中间层和上层无色水相。其中 RNA 主要在水相中，将水相（约 500 $\mu$ l）转移至一个新的 RNase-Free 的离心管中。

客户在吸取 RNA 水相的时候要注意，最好不要吸太多，太多有可能把中间相的杂质也吸进去。



这一步很关键。

## 十九、RNAfollow All (组织 RNA、蛋白质、DNA 保存液)

### 1. 新赛美的水浴锅抑菌剂可以用在细胞培养箱上面吗？

答：我们的主要是保存组织中的 DNA，RNA，蛋白质。看客户需求，如果要求组织是新鲜的肯定不行，如果只是为了后面提取 DNA，RNA，蛋白质，应该没问题。