



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109470850 A

(43)申请公布日 2019.03.15

(21)申请号 201811314422.0

(22)申请日 2018.11.06

(71)申请人 爱必信(上海)生物科技有限公司

地址 200120 上海市浦东新区新场镇古丹
路15弄18号2楼

(72)发明人 丁玮 郭惠芳

(74)专利代理机构 上海申新律师事务所 31272

代理人 俞涤炯

(51)Int.Cl.

G01N 33/539(2006.01)

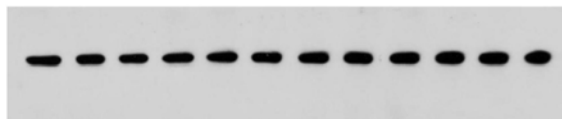
权利要求书2页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

一种免疫共沉淀试剂盒及方法

(57)摘要

本发明涉及一种免疫共沉淀试剂盒,包括:裂解液、洗涤缓冲液、SDS样品缓冲液、蛋白A琼脂糖珠和蛋白G琼脂糖珠。还涉及一种免疫共沉淀方法。其优点在于,通过将试剂和溶液进行合理搭配,得到稳定的免疫共沉淀实验系统,使得实验稳定,实验结果好;与现有的试剂盒相比,去除了SDS和去垢剂,保证了蛋白结构的稳定;使用本发明的试剂盒进行免疫共沉淀操作,操作简单快捷,实验结果准确,效果良好。



1. 一种免疫共沉淀试剂盒,其特征在于,包括:裂解液、洗涤缓冲液、SDS样品缓冲液、蛋白A琼脂糖珠和蛋白G琼脂糖珠。

2. 根据权利要求1所述的免疫共沉淀试剂盒,其特征在于,所述洗涤缓冲液为10*洗涤缓冲液。

3. 根据权利要求1所述的免疫共沉淀试剂盒,其特征在于,所述SDS样品缓冲液为1*SDS样品缓冲液。

4. 根据权利要求1所述的免疫共沉淀试剂盒,其特征在于,各组分的体积如下:

裂解液:30ml;

洗涤缓冲液:50ml;

SDS样品缓冲液:1ml;

蛋白A琼脂糖珠:250 μ l;

蛋白G琼脂糖珠:250 μ l。

5. 根据权利要求1所述的免疫共沉淀试剂盒,其特征在于,所述免疫共沉淀试剂盒的保存温度为4℃。

6. 一种采用权利要求1~5任一所述试剂盒进行免疫共沉淀的方法,其特征在于,包括如下步骤:

步骤1、取一定量的抗体,将所述抗体加入到一定量的裂解液中,在4℃条件下旋转孵育过夜;

步骤2、向孵育过夜的所述裂解液中加入一定量的蛋白A琼脂糖珠和一定量的蛋白G琼脂糖珠,在4℃条件下混合均匀;

步骤3、将步骤2得到的所述裂解液进行离心处理,过滤,保留沉淀物;

步骤4、使用一定量的洗涤缓冲液洗涤所述沉淀物,再次进行离心处理,过滤,保留所述沉淀物;

步骤5、将所述沉淀物加入至一定量的SDS样品缓冲液中,振荡,进行离心处理,保留滤液;

步骤6、加热所述滤液至一定温度并持续一定时间,对所述滤液再次进行离心处理,保留所述滤液;

步骤7、将一定量的滤液上样至SDS-PAGE凝胶,获取检测结果。

7. 根据权利要求6所述的免疫共沉淀的方法,其特征在于,在所述步骤2中,在4℃条件下混合1h~3h或过夜。

8. 根据权利要求6所述的免疫共沉淀的方法,其特征在于,在所述步骤6中,将所述滤液加热至95℃~100℃并持续2min~5min。

9. 根据权利要求6所述的免疫共沉淀的方法,其特征在于,在所述步骤5之前,重复步骤S4至少2次。

10. 根据权利要求6所述的免疫共沉淀的方法,其特征在于,包括:

步骤1、取1~5 μ g抗体,将所述抗体加入到500 μ l裂解液中,在4℃条件下旋转孵育过夜;

步骤2、向孵育过夜的所述裂解液中加入5 μ l蛋白A琼脂糖珠和5 μ l蛋白G琼脂糖珠,在4℃条件下混合均匀;

步骤3、将步骤2得到的所述裂解液进行离心处理,过滤,保留沉淀物,离心处理的条件

为12000g下离心1min;

步骤4、使用0.5ml洗涤缓冲液洗涤所述沉淀物,再次进行离心处理,过滤,保留所述沉淀物,离心处理的条件为12000g下离心1min;

步骤5、将所述沉淀物加入至20 μ l~40 μ l SDS样品缓冲液中,振荡,进行离心处理,保留滤液,离心处理的条件为微量离心30s;

步骤6、加热所述滤液至95 $^{\circ}$ C~100 $^{\circ}$ C并持续2min~5min,对所述滤液再次进行离心处理,保留所述滤液,离心处理的条件为14000g下离心1min;

步骤7、将15 μ l~30 μ l滤液上样至SDS-PAGE凝胶,获取检测结果。

一种免疫共沉淀试剂盒及方法

技术领域

[0001] 本发明涉及分子生物学技术领域,尤其涉及一种免疫共沉淀试剂盒及方法。

背景技术

[0002] 免疫共沉淀是以抗体和抗原之间的转移性作用为基础的,用于研究蛋白质相互作用的方法。其工作原理为当细胞在非变性条件下被裂解时,完整细胞内存在的许多蛋白质-蛋白质间的相互作用被保留下来,当用预先固化在琼脂糖珠上的蛋白质A/G结合1蛋白的抗体,进行免疫沉淀1蛋白,而与1蛋白在体内结合的蛋白质2也能一起沉淀下来,再通过蛋白变形分离,对2蛋白进行检测,以证明两者间的相互作用。

[0003] 但是现有的免疫共沉淀实验中,使用的试剂和溶液种类繁多,但是将试剂和溶液进行配套以得到稳定的实验系统的试剂盒较少,且实验结果不稳定。

[0004] 因此,亟需一种试剂和溶液配套的试剂盒,使得免疫共沉淀实验系统稳定,实验效果好,操作便捷简单,获取实验结果快速。

发明内容

[0005] 本发明的目的是针对现有技术中的不足,提供一种免疫共沉淀试剂盒。

[0006] 为实现上述目的,本发明采取的技术方案是:

[0007] 一种免疫共沉淀试剂盒,包括:裂解液、洗涤缓冲液、SDS样品缓冲液、蛋白A琼脂糖珠和蛋白G琼脂糖珠。

[0008] 优选地,所述洗涤缓冲液为10*洗涤缓冲液。

[0009] 优选地,所述SDS样品缓冲液为1*SDS样品缓冲液。

[0010] 优选地,各组分的体积如下:

[0011] 裂解液:30ml;

[0012] 洗涤缓冲液:50ml;

[0013] SDS样品缓冲液:1ml;

[0014] 蛋白A琼脂糖珠:250 μ l;

[0015] 蛋白G琼脂糖珠:250 μ l。

[0016] 优选地,所述免疫共沉淀试剂盒的保存温度为4℃。

[0017] 本发明的另一个目的是提供一种免疫共沉淀方法,包括如下步骤:

[0018] 步骤1、取一定量的抗体,将所述抗体加入到一定量的裂解液中,在4℃条件下旋转孵育过夜;

[0019] 步骤2、向孵育过夜的所述裂解液中加入一定量的蛋白A琼脂糖珠和一定量的蛋白G琼脂糖珠,在4℃条件下混合均匀;

[0020] 步骤3、将步骤2得到的所述裂解液进行离心处理,过滤,保留沉淀物;

[0021] 步骤4、使用一定量的洗涤缓冲液洗涤所述沉淀物,再次进行离心处理,过滤,保留所述沉淀物;

- [0022] 步骤5、将所述沉淀物加入至一定量的SDS样品缓冲液中,振荡,进行离心处理,保留滤液;
- [0023] 步骤6、加热所述滤液至一定温度并持续一定时间,对所述滤液再次进行离心处理,保留所述滤液;
- [0024] 步骤7、将一定量的滤液上样至SDS-PAGE凝胶,获取检测结果。
- [0025] 优选地,在所述步骤2中,在4℃条件下混合1h~3h或过夜。
- [0026] 优选地,在所述步骤6中,将所述滤液加热至95℃~100℃并持续2min~5min。
- [0027] 优选地,在所述步骤5之前,重复步骤S4至少2次。
- [0028] 优选地,包括:
- [0029] 步骤1、取1~5μg抗体,将所述抗体加入到500μl裂解液中,在4℃条件下旋转孵育过夜;
- [0030] 步骤2、向孵育过夜的所述裂解液中加入5μl蛋白A琼脂糖珠和5μl蛋白G琼脂糖珠,在4℃条件下混合均匀1h~3h;
- [0031] 步骤3、将步骤2得到的所述裂解液进行离心处理,过滤,保留沉淀物,离心处理的条件为12000g下离心1min;
- [0032] 步骤4、使用0.5ml洗涤缓冲液洗涤所述沉淀物,再次进行离心处理,过滤,保留所述沉淀物,离心处理的条件为12000g下离心1min;
- [0033] 步骤5、将所述沉淀物加入至20μl~40μl SDS样品缓冲液中,振荡,进行离心处理,保留滤液,离心处理的条件为微量离心30s;
- [0034] 步骤6、加热所述滤液至95℃~100℃并持续2min~5min,对所述滤液再次进行离心处理,保留所述滤液,离心处理的条件为14000g下离心1min;
- [0035] 步骤7、将15μl~30μl滤液上样至SDS-PAGE凝胶,获取检测结果。
- [0036] 本发明采用以上技术方案,与现有技术相比,具有如下技术效果:
- [0037] 本发明的一种免疫共沉淀试剂盒及方法,通过将试剂和溶液进行合理搭配,得到稳定的免疫共沉淀实验系统,使得实验稳定,实验结果好;与现有的试剂盒相比,去除了SDS和去垢剂,保证了蛋白结构的稳定;使用本发明的试剂盒进行免疫共沉淀操作,操作简单快捷,实验结果准确,效果良好。

附图说明

- [0038] 图1是采用现有的免疫共沉淀试剂盒进行检测的结果。
- [0039] 图2是采用本发明的免疫共沉淀试剂盒进行检测的结果。

具体实施方式

- [0040] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动的前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。
- [0041] 需要说明的是,在不冲突的情况下,本发明中的实施例及实施例中的特征可以相互组合。

[0042] 下面结合附图和具体实施例对本发明作进一步说明,但不作为本发明的限定。

[0043] 实施例1

[0044] 本实施例涉及本发明的免疫共沉淀试剂盒。

[0045] 本发明的免疫共沉淀试剂盒包括裂解液 (Lysis Buffer)、洗涤缓冲液 (Wash Buffer)、SDS样品缓冲液、蛋白A琼脂糖珠和蛋白G琼脂糖珠。

[0046] 在免疫共沉淀试剂盒中,各组分的含量如下:30ml裂解液、50ml洗涤缓冲液、1ml SDS样品缓冲液、250 μ l蛋白A琼脂糖珠和250 μ l蛋白G琼脂糖珠。

[0047] 进一步地,洗涤缓冲液为10 $\times$ 洗涤缓冲液,即在使用时,洗涤缓冲液需要稀释10倍使用。

[0048] 进一步地,SDS样品缓冲液为1 $\times$ SDS样品缓冲液,即在使用时,SDS样品缓冲液无须稀释即可使用。

[0049] 进一步地,免疫共沉淀试剂盒需要在4 $^{\circ}$ C下保存。

[0050] 实施例2

[0051] 本实施例涉及本发明的免疫共沉淀方法。

[0052] 本发明的免疫共沉淀方法的一个示意性实施例,使用实施例1的免疫共沉淀试剂盒,包括以下步骤:

[0053] 步骤1、取一定量的抗体,将抗体加入到一定量的裂解液中,在4 $^{\circ}$ C条件下旋转孵育过夜;

[0054] 步骤2、向孵育过夜的裂解液中加入一定量的蛋白A琼脂糖珠和一定量的蛋白G琼脂糖珠,在4 $^{\circ}$ C条件下混合均匀;

[0055] 步骤3、将步骤2得到的裂解液进行离心处理,过滤,保留沉淀物;

[0056] 步骤4、使用一定量的洗涤缓冲液洗涤沉淀物,再次进行离心处理,过滤,保留沉淀物;

[0057] 步骤5、将沉淀物加入至一定量的SDS样品缓冲液中,振荡,进行离心处理,保留滤液;

[0058] 步骤6、加热滤液至一定温度并持续一定时间,对滤液再次进行离心处理,保留滤液;

[0059] 步骤7、将一定量的滤液上样至SDS-PAGE凝胶,获取检测结果。

[0060] 进一步地,在步骤2中,加入蛋白A琼脂糖珠和蛋白G琼脂糖珠后,将裂解液在4 $^{\circ}$ C下混合1h~3h,或者在4 $^{\circ}$ C下过夜。

[0061] 进一步地,过夜的时间为12h~24h,优选的是12h~20h,更优选的是12h~16h。

[0062] 进一步地,在步骤4中,需要重复步骤4至少两次,即需要使用洗涤缓冲液洗涤沉淀物至少2次。

[0063] 进一步地,在步骤4中,优选的,重复步骤4三次即可达到最优效果。

[0064] 进一步地,在步骤6中,加热滤液至95 $^{\circ}$ C~100 $^{\circ}$ C,并且持续2min~5min。

[0065] 实施例3

[0066] 本实施例为实施例2的一个具体实施例,包括以下步骤:

[0067] 步骤1、取3 μ g抗体,将抗体加入到500 μ l裂解液中,在4 $^{\circ}$ C条件下旋转孵育过夜;

[0068] 步骤2、向孵育过夜的裂解液中加入5 μ l蛋白A琼脂糖珠和5 μ l蛋白G琼脂糖珠,在4

℃条件下混合均匀2h;

[0069] 步骤3、将步骤2得到的裂解液进行离心处理,过滤,保留沉淀物,离心处理的条件为12000g下离心1min;

[0070] 步骤4、使用0.5ml洗涤缓冲液洗涤沉淀物,再次进行离心处理,过滤,保留沉淀物,离心处理的条件为12000g下离心1min;重复步骤4三次;

[0071] 步骤5、将沉淀物加入至30 μ l SDS样品缓冲液中,振荡,进行离心处理,保留滤液,离心处理的条件为微量离心30s;

[0072] 步骤6、加热滤液至98℃并持续4min,对滤液再次进行离心处理,保留所述滤液,离心处理的条件为14000g下离心1min;

[0073] 步骤7、将20 μ l滤液上样至SDS-PAGE凝胶,获取检测结果,并使用蛋白质印迹法分析样品。

[0074] 将本实施例的实验结果与采用现有技术的试剂盒的实验结果进行对比,分析结果如图1和图2所示。

[0075] 如图1所示,采用现有的试剂盒进行免疫共沉淀,实验结果不清晰且不显著。

[0076] 如图2所示,采用本发明的试剂盒以及方法,实验结果清晰且显著。

[0077] 从图1和图2的对比可知,本发明的试剂盒及试剂方法,能够确保蛋白结构稳定,保证蛋白间的相互作用,实验结果清晰明了,便于后续进行分析操作。

[0078] 以上所述仅为本发明较佳的实施例,并非因此限制本发明的实施方式及保护范围,对于本领域技术人员而言,应当能够意识到凡运用本发明说明书及图示内容所作出的等同替换和显而易见的变化所得到的方案,均应当包含在本发明的保护范围内。

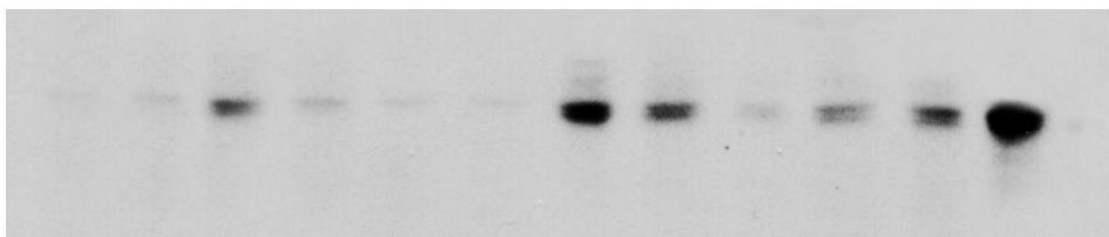


图1

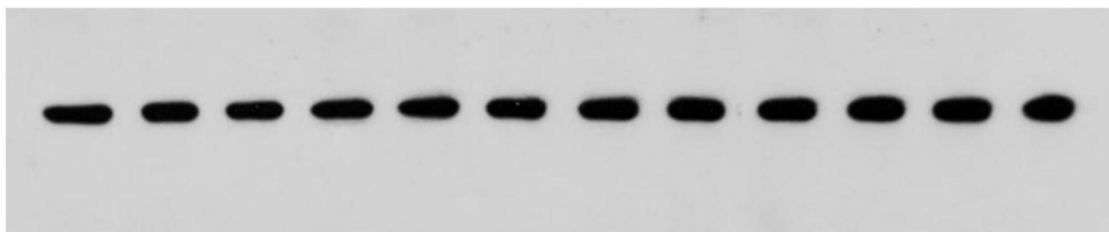


图2

专利名称(译)	一种免疫共沉淀试剂盒及方法		
公开(公告)号	CN109470850A	公开(公告)日	2019-03-15
申请号	CN201811314422.0	申请日	2018-11-06
[标]发明人	丁玮 郭惠芳		
发明人	丁玮 郭惠芳		
IPC分类号	G01N33/539		
CPC分类号	G01N33/539		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种免疫共沉淀试剂盒，包括：裂解液、洗涤缓冲液、SDS样品缓冲液、蛋白A琼脂糖珠和蛋白G琼脂糖珠。还涉及一种免疫共沉淀方法。其优点在于，通过将试剂和溶液进行合理搭配，得到稳定的免疫共沉淀实验系统，使得实验稳定，实验结果好；与现有的试剂盒相比，去除了SDS和去垢剂，保证了蛋白结构的稳定；使用本发明的试剂盒进行免疫共沉淀操作，操作简单快捷，实验结果准确，效果良好。

