

免疫沈降法 (Immuno-precipitation)

試薬

1. TNE 緩衝液 :
10 mM Tris-HCl (pH7.8), 1% NP-40, 0.15 M NaCl, 1 mM EDTA, 10 µg/mL aprotinin
2. Protein G-Sepharose 4 Fast Flow (GE Healthcare #17-0618-01) :
TNE 緩衝液で洗浄しておく

方法

1. 調製したサンプル(抽出物上清など)に Protein G-Sepharose を加える
: 50 µL/サンプル 1 mL
2. 転倒混和 : 4 °C 一昼夜
3. 遠心分離 : 4 °C 14,000 rpm 20 分
4. 上清に抗体を加える : 約 3 µg/サンプル 100 - 400 µL
5. 転倒混和 : 4 °C 1 時間
6. Protein G-Sepharose を加える : 20 µL/サンプル 100 - 400 µL
7. 転倒混和 : 4 °C 1 時間
8. TNE 緩衝液で洗浄 : 4 °C 5,000 rpm 1 分 X 5 回
9. 沈殿物 (immunoprecipitate)
10. WB などで確認する