



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110333346 A

(43)申请公布日 2019.10.15

(21)申请号 201910633999.6

(22)申请日 2019.07.12

(71)申请人 陈彩丽

地址 462047 河南省漯河市郾城区商桥镇  
小杨村6组107号

(72)发明人 陈彩丽

(74)专利代理机构 北京科亿知识产权代理事务  
所(普通合伙) 11350

代理人 汤东风

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006.01)

权利要求书1页 说明书2页

(54)发明名称

一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法

(57)摘要

本发明公开了一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法,属于生物技术领域,包括以下步骤:细胞涂片通过0.2% TritonX-100处理10-15min,用0.01MPBS洗3-5min,洗3-5次,用0.01胰蛋白酶37-40℃下,消化12-15min,用0.01MPBS洗3-5min,洗3-5次,正常兔血清作封闭,加入FITC-羊抗鼠 IgG,37-40℃下孵育30-40min,用0.01MPBS洗3-5min,用BrdU作为蛋白质标记物,交联固定液固定后荧光显微镜观察。本发明能对活细胞的形态结构、分子和离子编号进行实时动态的观察和检测,可同时在一个标本上进行多个目的蛋白的研究,适合推广应用。

1. 一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法,其特征在于,细胞涂片通过0.2% TritonX-100处理10-15min,用0.01MPBS洗3-5min,洗3-5次,用0.01胰蛋白液37-40℃下,消化12-15min,用0.01MPBS洗3-5min,洗3-5次,正常兔血清作封闭,加入FITC-羊抗鼠IgG,37-40℃下孵育30-40min,用0.01MPBS洗3-5min,用BrdU作为蛋白质标记物,交联固定液固定后荧光显微镜观察。

2. 如权利要求1所述的一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法,其特征在于,所述交联固定液含有:丙酮、多聚甲醛和PBS缓冲液。

3. 如权利要求1所述的一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法,其特征在于,所述荧光显微镜观察采用激光扫描共聚显微镜。

## 一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物技术领域,涉及一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法。

### 背景技术

[0002] 免疫荧光技术(Immunofluorescence technique)又称荧光抗体技术,是标记免疫技术中发展最早的一种。它是在免疫学、生物化学和显微镜技术的基础上建立起来的一项技术。很早以来就有一些学者试图将抗体分子与一些示踪物质结合,利用抗原抗体反应进行组织或细胞内抗原物质的定位。

[0003] 该技术的主要特点是:特异性强、敏感性高、速度快。主要缺点是:非特异性染色问题尚未完全解决,结果判定的客观性不足,技术程序也还比较复杂。

[0004] 荧光免疫法按反应体系及定量方法不同,还可进一步分做若干种。与放射免疫法相比,荧光免疫法无放射性污染,并且大多操作简便,便于推广。国外生产的TDM用试剂盒,有相当一部分即属于此类,并且还有专供TDM荧光偏振免疫分析用的自动分析仪生产。

[0005] 由于一般荧光测定中的本底较高等问题,荧光免疫技术用于定量测定有一定困难。新发展了几种特殊的荧光免疫测定,与酶免疫测定和放射免疫分析一样,在临床检验中应用。

[0006] 现有技术中的免疫荧光标记方法只能对固定的细胞进行标记(先将活细胞损坏再进行标记),不能标记活细胞中的蛋白质,因而无法采用这种方法观察活细胞的动态变化,用于进一步的生物学研究。现有技术中,急需一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法。

### 发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法。

[0008] 为实现上述技术目的,达到上述技术效果,其技术方案具体为:

[0009] 一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法,包括以下步骤:

[0010] 细胞涂片通过0.2%TritonX-100处理10-15min,用0.01MPBS洗3-5min,洗3-5次,用0.01胰蛋白酶37-40℃下,消化12-15min,用0.01MPBS洗3-5min,洗3-5次,正常兔血清作封闭,加入FITC-羊抗鼠IgG,37-40℃下孵育30-40min,用0.01MPBS洗3-5min,用BrdU作为蛋白质标记物,交联固定液固定后荧光显微镜观察。

[0011] 进一步,所述交联固定液含有:丙酮、多聚甲醛和PBS缓冲液。

[0012] 进一步,所述荧光显微镜观察采用激光扫描共聚显微镜。

[0013] 本发明具有以下有益效果:

[0014] 本发明不仅可观察组织细胞切片而且还能对活细胞的形态结构、分子和离子编号进行实时动态的观察和检测,可同时在一个标本上进行多个目的蛋白的研究,适合推广应用。

## 具体实施方式

[0015] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,以下结合实施例,对本发明进行进一步详细说明。

### [0016] 实施例1

[0017] 一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法,包括以下步骤;

[0018] 细胞涂片通过0.2%TritonX-100处理10min,用0.01MPBS洗3min,洗3次,用0.01胰蛋白酶37℃下,消化12min,用0.01MPBS洗3min,洗3次,正常兔血清作封闭,加入FITC-羊抗鼠IgG,37℃下孵育30min,用0.01MPBS洗3min,用BrdU作为蛋白质标记物,交联固定液固定后荧光显微镜观察。

[0019] 所述交联固定液含有:丙酮、多聚甲醛和PBS缓冲液。

[0020] 所述荧光显微镜观察采用激光扫描共聚显微镜。

### [0021] 实施例2

[0022] 一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法,包括以下步骤;

[0023] 细胞涂片通过0.2%TritonX-100处理12min,用0.01MPBS洗4min,洗4次,用0.01胰蛋白酶38℃下,消化13min,用0.01MPBS洗4min,洗4次,正常兔血清作封闭,加入FITC-羊抗鼠IgG,38℃下孵育35min,用0.01MPBS洗4min,用BrdU作为蛋白质标记物,交联固定液固定后荧光显微镜观察。

[0024] 所述交联固定液含有:丙酮、多聚甲醛和PBS缓冲液。

[0025] 所述荧光显微镜观察采用激光扫描共聚显微镜。

### [0026] 实施例3

[0027] 一种活细胞内蛋白质的免疫荧光标记方法,包括以下步骤;

[0028] 细胞涂片通过0.2%TritonX-100处理15min,用0.01MPBS洗5min,洗5次,用0.01胰蛋白酶40℃下,消化15min,用0.01MPBS洗5min,洗5次,正常兔血清作封闭,加入FITC-羊抗鼠IgG,40℃下孵育40min,用0.01MPBS洗5min,用BrdU作为蛋白质标记物,交联固定液固定后荧光显微镜观察。

[0029] 所述交联固定液含有:丙酮、多聚甲醛和PBS缓冲液。

[0030] 所述荧光显微镜观察采用激光扫描共聚显微镜。

[0031] 以上所述,仅为本发明较佳的具体实施方式,本发明的保护范围不限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明披露的技术范围内,可显而易见地得到的技术方案的简单变化或等效替换均落入本发明的保护范围内。