



Immunoprecipitate the Easy Way with Millipore's Catch and Release® Kit!

前述兩項技術皆屬於 *in vivo* 實驗，而用 *in vitro* 方式來研究蛋白質間交互作用的也不在少數，其中最多人使用的方法為Co-immunoprecipitation (IP) 及 Pull down。

■ Co-Immunoprecipitation

IP 故名意義是利用固定在 Solid phase beads 上的抗體將抗原 ” 沈澱 ” 下來。步驟流程相當簡單，將 Cell lysate 加入固定好的抗體中，經過 wash 步驟將其他非專一性蛋白洗掉，在 Elution 後得到所需的蛋白。而 Co-IP 同樣利用 IP 的方法，只不過現在所研究的對象不是目標抗原，而是隨之 ” 一起沈澱 ” 下來的未知蛋白。然而，這都只是假設狀況，實際上是否有交互作用仍需進一步分析。

Features

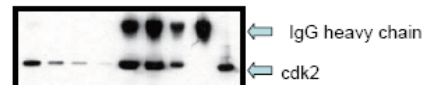
- 操作方便、快速：一小時內完成實驗 (Binding, Wash, Elute)
- 減少流失：減少您在wash步驟中樣品的流失
- 減少非專一性的鍵結：不同於protein A/G beads, 使用antibody capture affinity ligand (ACAL), 減少非專一性的鍵結
- 選擇性多的Elution buffer：選擇不同的Elution Buffer,可獲得 Native 或Denature protein
- 整組kit包含進行IP所有的溶液
- 另有專門針對Phosphotyrosine 的IP kit,利用高靈敏性的4G10 抗體來進行IP實驗
- 此外Millipore還提供一系列進行IP的Negative control (包含 Mouse IgG. Mouse serum. Rabbit IgG. Rabbit serum)

■ 效果優: 結果優於傳統IP方法

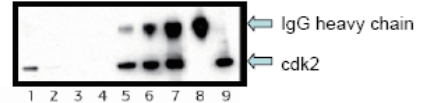
Catch and Release®, non-denaturing



Catch and Release®, denaturing

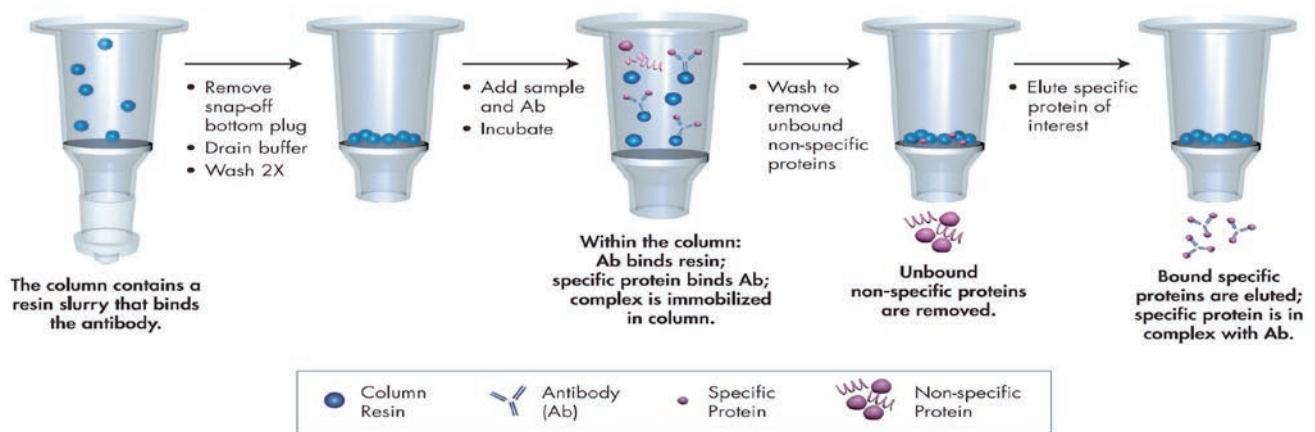


Traditional IP



Lane 1: flow through Lane 6: elution 2
Lane 2: wash 1 Lane 7: elution 3
Lane 3: wash 2 Lane 8: anti-CDK2
Lane 4: wash 3 Lane 9: HeLa nuclear
Lane 5: elution 1 extract

■ Easy to use: 只需進行①Binding ②Wash ③Elute 的步驟



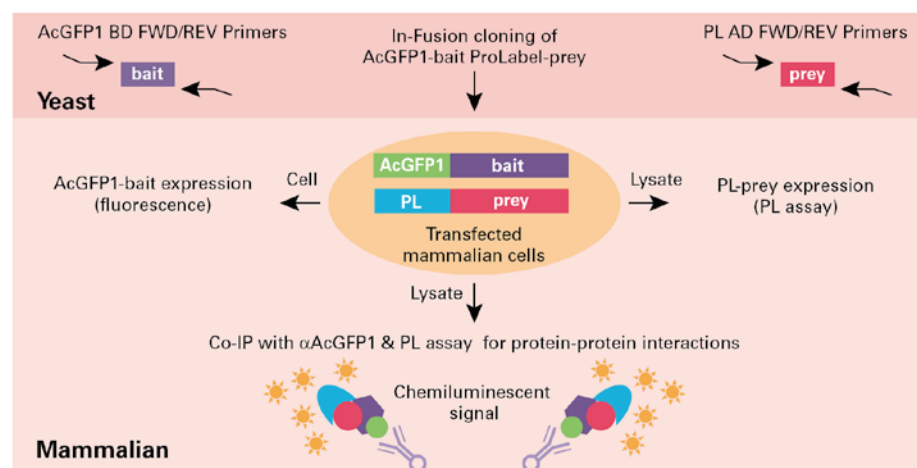
Item Number	Item Description	Package
17-500A	Catch and Release® v2.0 Reversible Immunoprecipitation System	1 kit/ 5 assays
17-500	Catch and Release® v2.0 Reversible Immunoprecipitation System	1 kit/ 50 assays
17-501	Catch and Release® v2.0 High Throughput (HT) Immunoprecipitation Assay Kit- 96 well	1 kit/ 96 assays
17-502A	Catch and Release® Phosphotyrosine, clone 4G10®	1 kit/ 5 assays
17-502	Catch and Release® Phosphotyrosine, clone 4G10®	1 kit/ 50 assays

Matchmaker™ Chemiluminescent Co-IP System

“Mammalian” Two-Hybrid Assay

雖然 Yeast 也有蛋白質後修飾作用，但畢竟與 mammal 的系統略有不同。為了確認在 Yeast Two Hybrid 裡的結果，Clontech 推出 Mammalian two hybrid assay。利用 Clontech 獨家 In-Fusion Cloning 的技術，把 Prey 及 Bait 分別與綠色螢光蛋白及 Pro-Label 作融合基因，再利用綠色螢光蛋白的抗體把 Interaction complex 抓下來後，進行 Pro-Label 冷光定量的分析。這個方式不但簡單快速且具高專一性，大大改善傳統利用 Western blotting 不易定量且雜蛋白多的現象，以及 Radio-label 的安全性考量。那實驗是如何進行的呢？

1. 分別 Clone Bait/ Prey 到帶有綠色螢光 (AcGFP1)/ 冷光基因 (ProLabel) 的載體上。
2. 送入 mammalian 細胞中表現。
3. 把細胞打破，以 AcGFP1 的抗體進行 IP (immunoprecipitation)。
4. Bait 與 Prey 若真的有的有 interaction，IP 抓下來的部份再進行冷光測定即可定量出 interaction 的強弱。



■ 可以用 AcGFP 確認 Bait 在細胞內的表現是否達到需求 (位置及強度)

■ 利用 IP 下來後的產物再進行冷光測定，可用以確認其交互作用。

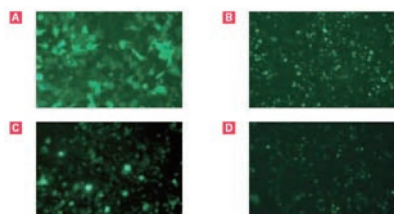


Figure 4. Fluorescent expression and nuclear localization of AcGFP1-bait fusion constructs.

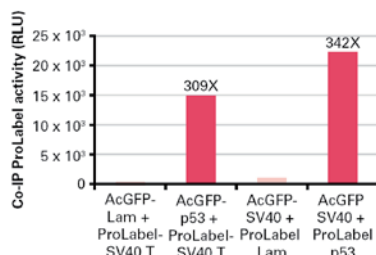


Figure 5. The ProLabel tag provides a sensitive method for measuring ProLabel prey expression and its interaction with the AcGFP1-bait.

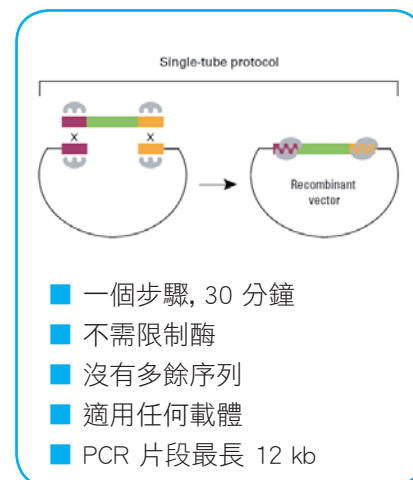
Ordering information

Catalog No	Product Description	Package
630458	MATCHMAKER CHEMILUMINESCENT Co-IP VECTOR	24 rxn
630459	MATCHMAKER CHEMILUMINESCENT Co-IP ASSAY	24 rxn
631629	PROLABEL CHEMILUM DETECTION KIT	70 rxn

Features

- True “Mammalian” Two-hybrid, 在細胞內生成，擁有正常的 post-translational modification，最接近 nature condition
- Bait 可用 AcGFP1 定位，是否在核內、胞器內，是否擁有正常的 Function
- 以 AcGFP1 的抗體進行 IP，背景值及專一性均較一般 HA 或 His tag 的抗體佳

About In-Fusion cloning



歡慶新品上市~

6月底前創意集點

狂飆6倍

2009 創意集點 100點

Have Fun