

CO-IP免疫共沉淀实验原理及步骤？免疫共沉淀技术服务介绍

产品名称	CO-IP免疫共沉淀实验原理及步骤？免疫共沉淀技术服务介绍
公司名称	北京义翘神州科技股份有限公司
价格	.00/件
规格参数	
公司地址	北京市北京经济技术开发区科创十街18号院9号楼
联系电话	400-8909989 15101180634

产品详情

免疫共沉淀是一种以抗体和抗原识别专一性为基础，用于研究蛋白质相互作用的经典方法。

从原理示意图可见，免疫共沉淀利用抗原(红三角)与蛋白(蓝圆柱)的特异性结合，再通过连接着树脂的抗体(紫圆球)去识别抗原，从细胞裂解液或者蛋白混合物中捕获与抗原相作的蛋白。

之后通过进一步洗脱，获取抗原-蛋白复合物，再对蛋白进行检测（WesternBlot或者Massspectra），即可获得蛋白间相互作用的信息。

实验步骤：

了解了原理，再来看看操作，简单来说，可以总结为以下四个部分：

- 1、制备蛋白样品
- 2、制备Beads抗体复合物
- 3、Beads偶联抗体和蛋白结合
- 4、分离洗脱Beads蛋白复合物

一：样品制备

首先进行样品制备，以提取出想要研究的蛋白，由于不同类型的细胞裂解条件有所差异，这里不展开介绍。

注意事项：

细胞裂解要采用温和的裂解条件，避免破坏细胞内存在的蛋白间相互作用，裂解、洗涤时需使用非变性裂解液，如NP-40和TritonX-100。

此外，由于不同细胞裂解条件不一样，建议通过预实验来确定条件。

第二步：固定抗体

在共沉淀之前，先将固相基质与抗体共同孵育，从而使两者结合，常用的固相基质有琼脂糖Agarose和磁珠Magneticbeads。

琼脂糖Agarose具有简单易用，直径大，结合力强，多孔易吸附的特点；磁珠具有直径小，背景低，抗体消耗少的特点，但操作时需借助磁力架。

抗体的选择十分重要，选经过IP验证的抗体，可以减少假阳性概率。

同时，要注意抗体/缓冲液的比例，抗体稀释过度不利于后续抗原抗体结合；而抗体过多就不能完全沉降在固相基质上，残存于上清。

操作时，为了避免损伤beads，使用大口径或截短枪头进行加样。

第三步：免疫共沉淀

根据不同的抗体结合方式，这里的免疫共沉淀步骤会稍有不同，但是本质是一样的，都是为了形成抗原-蛋白复合物。

如果直接使用ProteinA/G结合的beads，先进行细胞裂解液/蛋白混合物与抗体的孵育，再加入beads将蛋白-抗体复合物拉下来。

如果使用了交联剂将抗体与ProteinA/G固定，或者直接将抗体固定在beads，则将固定抗体的beads与细胞裂解液或则蛋白混合物一起孵育。

增加在洗脱之前的洗涤次数或在免疫共沉淀缓冲液中加入TritonX-100，可以降低非特异性结合，以防止蛋白在阴性对照树脂实验样品中被检测到。

第四步：洗脱与检测

使用洗脱缓冲液将互作蛋白复合物洗脱，并通过WesternBlot或者Massspectra检测鉴定蛋白。当蛋白或抗体对低pH的缓冲液敏感，可使用中性pH值的洗脱缓冲液。

如后续需进行酶活或功能性分析，则需使用兼容下游检测的Elutionbuffer进行洗脱。

对于交联剂结合的beads，为了保持抗体偶联树脂的活性，应立即再生和存储树脂，保证抗体可以重复利用。

结果解读

Co-IP结果如何看？

首先需要说明的是，熟悉了解免疫共沉淀实验的原理及实验的操作流程是进行Co-IP结果图分析

的前提。在清楚知道Co-IP操作流程的前提下，弄清楚图中各个部分所代表的实验步骤，结合图中展示的结果进行分析，便可以看懂Co-IP的实验结果图。

义翘神州 [免疫共沉淀 \(Co-IP\) /免疫沉淀 \(IP\) 技术服务](#)

免疫沉淀 (Immunoprecipitation, IP) 是利用抗体特异性反应纯化富集目的蛋白的一种方法，主要是用于抗原或抗体的定性检测，以及纯化目的蛋白质的常规方法。

免疫共沉淀 (Co-Immunoprecipitation, Co-IP) 是以抗体和抗原之间的专一性作用为基础的用于研究两种蛋白质在完整细胞内生理性相互作用的有效方法。这种方法常用于测定两种目标蛋白质是否在体内结合；也可用于确定一种特定蛋白质的新的作用搭档，已成为研究蛋白质相互作用的经典方法。

免疫沉淀 (IP) 技术服务 (1-2周)

免疫共沉淀 (Co-IP) 技术服务 (3-6周)

如有需要，可以去义翘官方查看：<https://cn.sinobiological.com/services/ip-co-ip-service>