

ULTRARIPA® Kit

产品编号: **F015 for Lipid Raft**

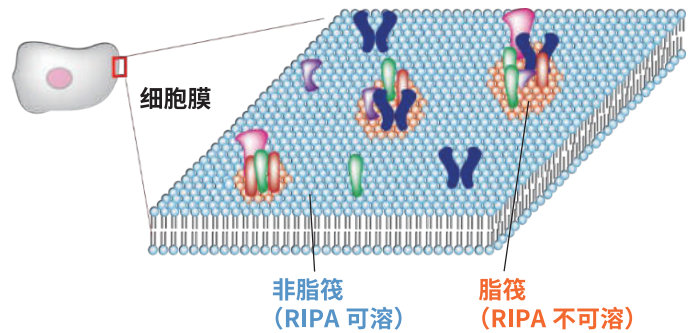
MEMO

何谓脂筏

脂筏 (Lipid Raft) 是由胆固醇 (cholesterol) 和鞘磷脂 (sphingomyelin), GPI 锚定蛋白 (GPI anchor protein) 和棕榈酰化 (palmitoylation) 蛋白组成的细胞膜构造, 是整合各种功能蛋白的功能域。

代表性例子:

- ✓ 神经突触
- ✓ 免疫突触



脂筏分析的难点

脂筏又被称为 Detergent Resistant Membrane (DRM)。

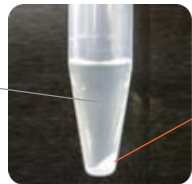
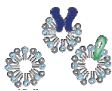
脂筏在蛋白变性作用小的表面活性剂 (如 1% Triton X-100 等) 或 RIPA buffer 中难以溶解。脂筏在 SDS 中虽然可溶, 但由于在 SDS buffer 中发生了强烈变性, 故无法应用于蛋白功能分析。

在RIPA buffer中溶解细胞、组织等

约95%

RIPA可溶组分

代表性蛋白:
细胞质蛋白
膜蛋白



约5%

RIPA不可溶组分

代表性蛋白:
脂筏膜蛋白



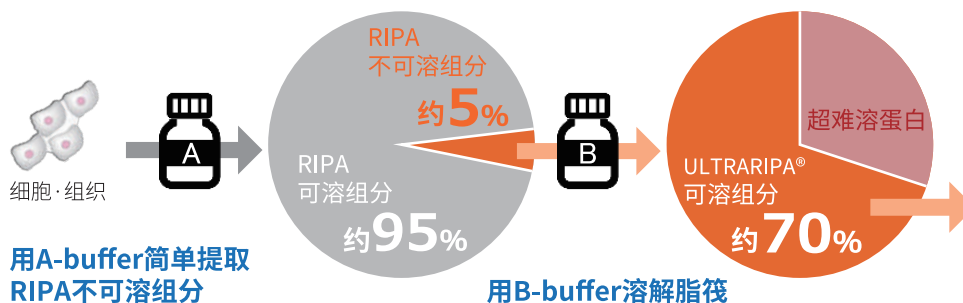
这些组分中所含的蛋白

- ✓ 不可溶于RIPA
- ✓ 可溶于SDS, 但发生变性

在传统的可溶性缓冲液中
不能进行蛋白功能分析。



ULTRARIPA® Kit的应用



用A-buffer简单提取
RIPA不可溶组分

用B-buffer溶解脂筏

由于可以提取到**非变性蛋白**,
因此可用于**蛋白功能分析**。

- ✓ 蛋白复合体分析
⇒ 免疫沉淀
- ✓ 酶活性检测
⇒ 各种酶活检测

✓ 两种提取buffer, 可浓缩、溶解脂筏

✓ 蛋白变性作用小, 可稳定提取

✓ 只需添加buffer&离心, 操作简单

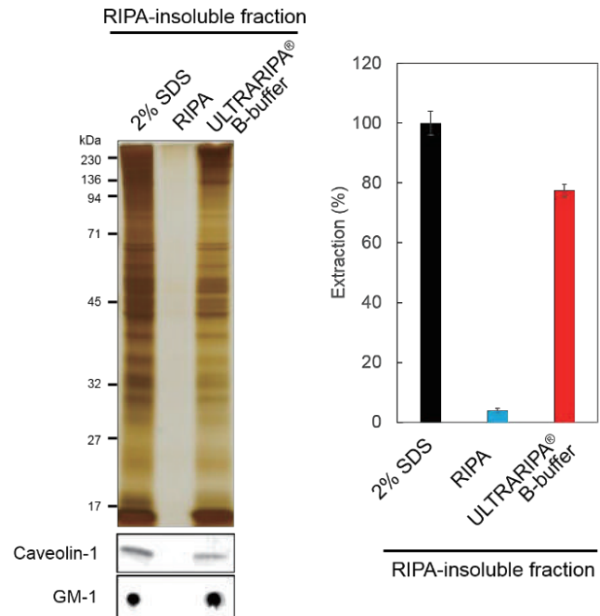
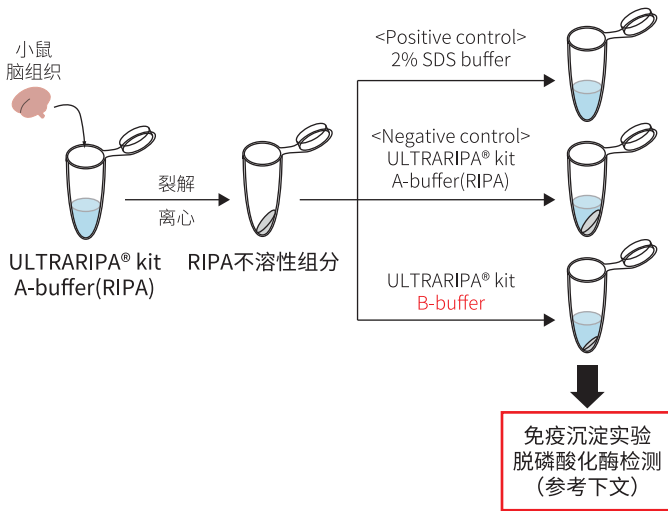
ULTRARIPA® Kit帮您实现

1. 从RIPA不溶性组分中，与SDS Buffer相比，可增溶70%以上的蛋白质
2. 保持酶活性条件下，可成功检测到目前为止都无法分析的RIPA不溶性组分（≈脂筏蛋白）的酶群活性
3. 由于不受免疫沉淀的影响，可成功检测到目前为止都无法分析的RIPA不溶性组分（≈脂筏蛋白）的蛋白复合物
4. 可成功观察到外部刺激依赖性的RIPA不溶性组分的变化

从脑组织来源的脂筏（RIPA不溶性组分）提取蛋白及进行功能分析

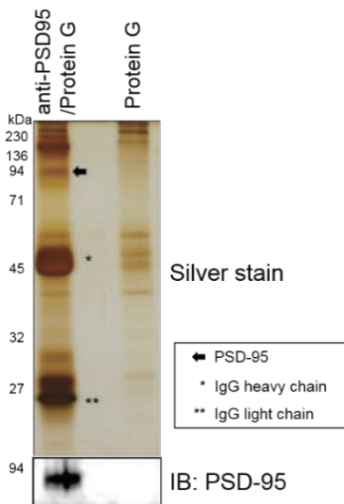
使用样品 小鼠全脑组织

提取方法 回收RIPA不溶性组分后，用各buffer进行溶解



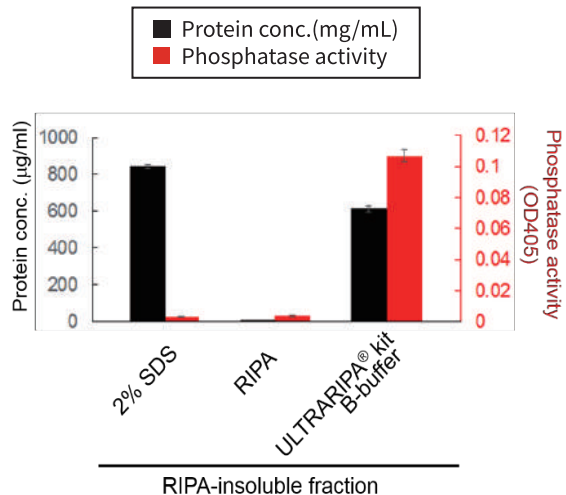
结果 **提取效果:**与用SDS buffer提取相比，可确认从RIPA不溶性组分中可提取到超过70%的蛋白。
脂筏标记蛋白的提取确认:可确认可有效从RIPA不溶性组分中溶解Caveolin-1和GM-1。

脂筏标记蛋白的免疫沉淀



对抗原抗体反应、抗体-Protein A/G无影响
 ⇒可进行免疫沉淀实验

RIPA不溶性组分的磷酸酶活性检测实验

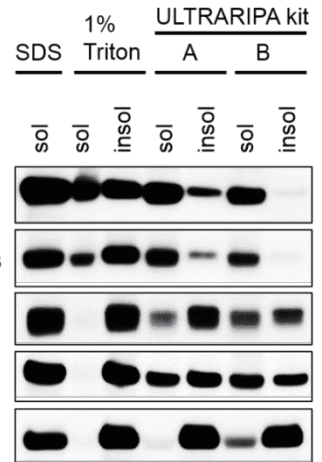
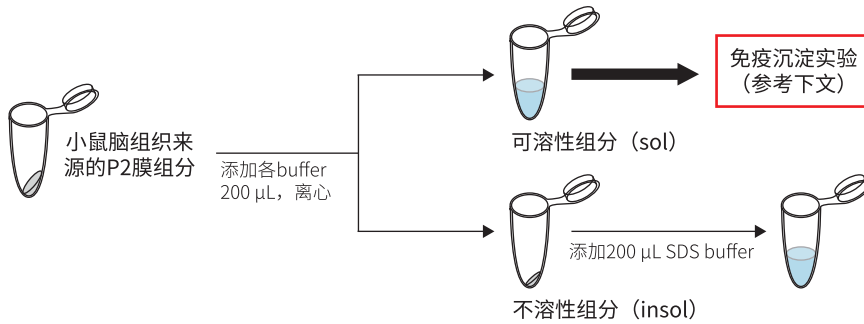


提取效果不及SDS，但可维持酶活性
 ⇒可用于判定RIPA不溶性组分（≈脂筏蛋白）的酶活性

从神经组织膜组分分析神经突触相关蛋白的可溶性和复合体

使用样品 小鼠脑组织（海马+大脑皮质）来源的P2膜组分

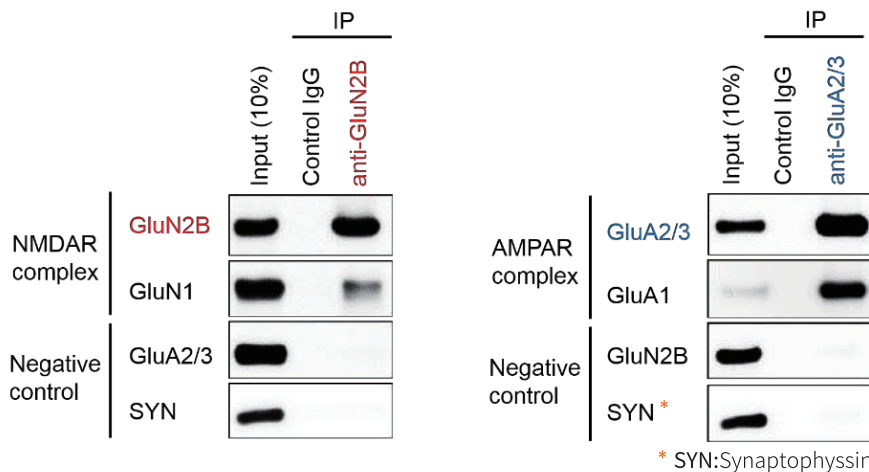
提取方法
1. 直接在各buffer中增溶P2膜组分
2. 在各不溶性组分中添加2% SDS进行增溶



结果 直接在样品中添加B-buffer, 与添加1% Triton X-100或RAPI相比, 增溶效果更佳。

数据提供: 学习院大学理学部神经生物学研究室 高岛教授 住岡助教

神经突触复合体分析 (免疫沉淀)



用B-buffer可溶性组分进行免疫沉淀



- ✓ 可特异性检测生理性蛋白复合体
- ✓ 可用于RIPA不溶性组分的复合体分析

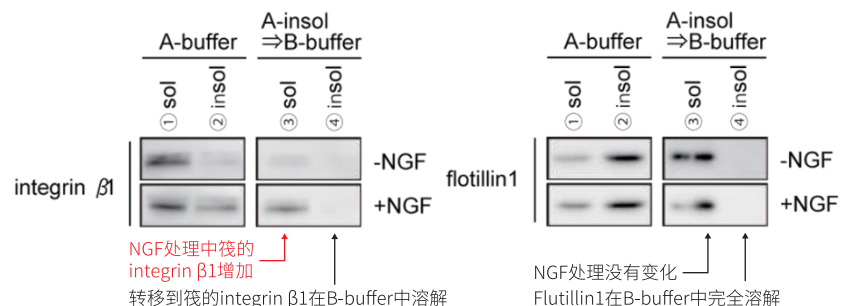
用ULTRARIPA® Kit观察NGF刺激依赖的Integrin的脂筏转移

使用样品 小鼠来源的原代培养DRG神经细胞

提取方法 回收A-buffer不溶性组分后, 用B-buffer增溶

结果 NGF刺激中未看到Flotillin的波动, 但可观察到Integrin β1通过NGF浓缩在RIPA不溶性部分中。

数据提供: 国立精神·神经医疗研究中心神经研究所 疾病研究第五部



使用ULTRARIPA® Kit不仅可以观察到依赖外部刺激的RIPA不溶性组分的变化, 还可以:

- ✓ 通过免疫沉淀法观察到由于刺激引起的刺激依赖性蛋白质复合物的变化可用于RIPA不溶性组分的复合体分析
- ✓ 观察到刺激应答RIPA不溶性组分 (≈脂筏蛋白) 的酶活性变化



试剂盒组成



A-buffer(RIPA)
100 mL



B-buffer
10 mL

产品编号	产品名称	包装
F015	UltraRIPA® kit for Lipid Raft UltraRIPA® 脂筏提取缓冲液套装	1 kit



操作方法概要

30 min内, 可简单浓缩、增溶脂筏蛋白

1. 用A-buffer (RIPA) 增溶样品 (细胞、组织等)
2. 离心 (>10,000×g, 5 min), 回收A-buffer不溶性组分
3. 在A-buffer不溶性中添加B-buffer
4. 离心 (>10,000×g, 5 min) 后回收可溶性组分
5. 用于各种应用实验中



产品特点

项目	SDS buffer	RIPA buffer	ULTRARIPA® Kit
细胞质蛋白	✓ 可提取 (变性)	✓ 可提取 (非变性)	✓ 可提取非变性 (A 缓冲液可溶性组分)
膜蛋白 (非脂筏)	✓ 可提取 (变性)	✓ 可提取 (非变性)	✓ 可提取非变性 (A 缓冲液可溶性组分)
膜蛋白 (脂筏)	✓ 可提取 (变性)	✗ 无法提取	✓ 可提取非变性 (B 缓冲液可溶性组分)
脂筏蛋白免疫沉淀实验	✗ 变性状态难以进行	✗ 无法提取, 难以进行	✓ 非变性状态可实验
脂筏蛋白酶活性检测	✗ 变性状态难以进行	✗ 无法提取, 难以进行	✓ 非变性状态可实验



FAQ

Q 使用ULTRARIPA® Kit是否只可以提取脂筏蛋白?

A 本产品着眼于RIPA不溶性组分富含的脂筏蛋白, 用B-buffer进一步使其溶解, 使得脂筏蛋白在非变性状态下溶解。因此**即使不是脂筏, 只要是不溶于RIPA的样本, 都可以使用本试剂盒进行检测。**

本试剂盒使用溶解能力较高的RIPA buffer作为A-buffer, 但是也可以用1% Triton X-100等裂解buffer代替RIPA buffer。

Q 如果单独使用B-buffer, 溶解效率是否高于RIPA buffer?

A B-buffer的溶解活性比RIPA (A-buffer) 高。

本试剂盒的操作分为两步: 首先将RIPA不溶性组分回收并用B-buffer将其溶解, 并以浓缩和简单提取RIPA不溶性组分中含有的脂筏蛋白为目的而进行第2步的操作。但是, 如果是**直接用B-buffer处理样本的时候, 溶解率的确比RIPA高。**