

RIP 结果解读

| 专注 | 品质 | 诚信 |

提供核酸和蛋白的整体研究方案

>>>

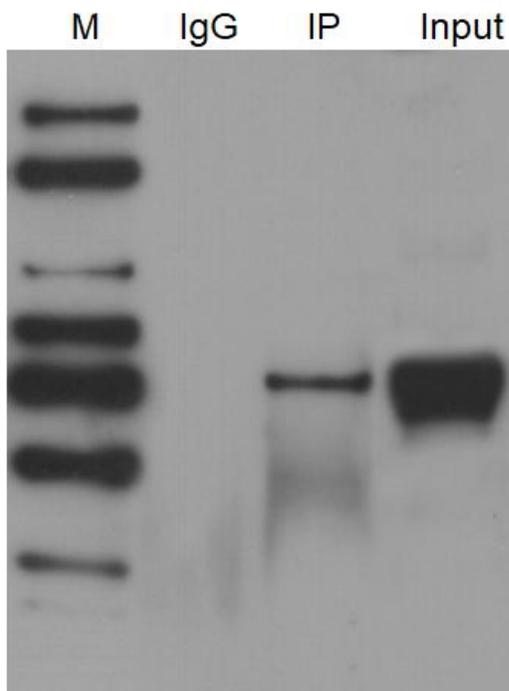
实验前的准备



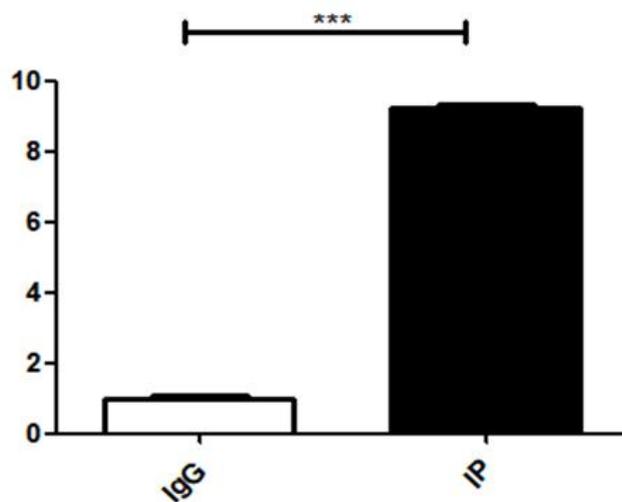
- 1、在正式实验前，务必要对样品做WB质控；
- 2、IP前WB检测的指标应包括诱饵蛋白以及内参蛋白；
- 3、内参蛋白条带必须清晰无拖带，如果内参条带不正常，说明样本内蛋白已经发生降解，需要重新备样；
- 4、诱饵蛋白条带最好是强信号的单带，如果信号比较弱，IP后可能实验失败，建议在样本中过表达目的蛋白后再做尝试；
- 5、诱饵蛋白WB如果杂带较多，可能是该批次抗体在该样本中的特异性不够好，如果实在没有合适的抗体，也至少应当在目的条带的信号相较于杂带足够强的前提下，再进行后续实验，否则无法保证最终结果的可靠性；
- 6、IP前也应通过qPCR检测猎物RNA的本底表达水平，若表达水平太低，IP后可能检测不到导致假阴性结果。

RIP后WB和qPCR

RIP后WB



qPCR检测蛋白-RNA富集情况



1、一次完整严谨的RIP实验，应当包含IgG对照组、IP实验组以及Input组；

2、Input泳道所点样本与IP前WB一致，作为阳性对照；

3、判定RIP实验成功的标准，是能够在IP泳道检测到**诱饵**蛋白信号，且IgG泳道检测不到；如果IgG泳道也检测到诱饵蛋白，说明该蛋白能够与所有IgG类的抗体结合，只能换别的实验如RNA pull down来验证。

4、通过qPCR检测猎物RNA，若IP组相比于IgG组有显著富集效果，说明诱饵蛋白和猎物RNA有互作。

感谢聆听

提供核酸和蛋白的整体研究方案

