

## Gaz 蛋白 武汉纽斯特生物公司

产品名称	Gaz 蛋白 武汉纽斯特生物公司
公司名称	武汉纽斯特生物技术有限公司
价格	面议
规格参数	
公司地址	湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号 光谷生物城B3-3栋3楼
联系电话	15002729010 15002729010

## 产品详情

1. 抗活性的Arl1，小鼠单克隆抗体（货号26924）：一小瓶 – 溶于pH 7.4的PBS中的22  $\mu$ L（1mg/ml），含有50%甘油和0.05%叠氮化钠。该抗体特异性识别所有脊椎动物的Arl1-GTP。

2. 蛋白A / G琼脂糖（目录号30301）：一小瓶 – 400  $\mu$ L 50%浆液。

3. 5X测定/裂解缓冲液（目录号30302）：一瓶 – 30 mL的250 mM Tris-HCl，pH 8，750mM NaCl，50 mM MgCl<sub>2</sub>，5 mM EDTA，5% Triton X-100。

4. 抗Arl1，小鼠单克隆抗体（目录号26056）：一小瓶 – 100  $\mu$ L（1 mg/ml）

pH 7.4的PBS中含有50%的甘油。

5. 100 XGTP S（货号30303）：1瓶 – 100  $\mu$ l，10 mM，使用5  $\mu$ LGTP SGTP标记的0.5 mL细胞裂解物。

6. 100 X GDP（产品目录号30304）：一个样品瓶 – 100  $\mu$ l，100 mM，使用5  $\mu$ L GDP

GDP标记的0.5 mL细胞裂解物。

1. 刺激的和非刺激的细胞裂解液

2. 蛋白酶抑制剂

3. 4 ° C管摇杆或摇床

4. 0.5 M EDTA , pH8.0

5. 1 M氯化镁

6. 2倍还原SDS-PAGE样品缓冲液

7. 电泳和免疫印迹系统

8. 免疫印迹洗涤缓冲液 , 例如TBST ( 10 mM Tris-HCl , pH 7.4 , 0.15 M NaCl , 0.05% Tween-20 )

9. 免疫印迹封闭缓冲液 ( TBST包含5%脱脂奶粉或3%BSA )

10. PVDF或硝酸纤维素膜

11. 二抗

12. ECL检测试剂

1X测定/裂解缓冲液 : 短暂混合5X储备液 , 并在去离子水中稀释至1X。

在使用前 , 添加蛋白酶抑制剂 , 例如1 mM PMSF , 10 μ g / mL亮肽素和10 μ g / mL抑肽酶。

## 试剂制备

1X Assay/Lysis

Buffer : 实验前用去离子水将5X的Assay/Lysis缓冲液稀释成1X的缓冲液 , 并在使用前加入蛋白酶抑制剂如1 mM PMSF , 10 μ g / mL leupeptin ( 亮肽素 ) , 或 10 μ g / mL aprotinin ( 抑肽酶 ) 。

## 样品处理

### 贴壁细胞

1. 培养细胞密度达到大约80%-90%之间 ( 直径10 cm培养皿 , ~10<sup>7</sup>个细胞 ) , 并用活性剂或抑制剂进行处理。

2. 吸去培养基并用冰冷的PBS洗涤两次。

3. 向细胞中加入1X Assay/Lysis缓冲液 ( 每个直径10cm的组织培养皿中加入0.5-1mL ) 。

4. 将培养皿放置于冰上处理10-20分钟。

5. 用细胞刮棒把细胞从培养皿下分离下来。
6. 将细胞裂解物转入合适的管中并放置于冰上。
7. 如果核发生裂解，细胞裂解物可能会变得非常的粘稠并且难以吸取。当这种情况出现时，将细胞裂解物用27 $\mu$ L的注射器针头来回吸取3-4次，以破坏基因组DNA，从而避免上述情况的出现。
8. 4 ° C 12000 g，离心10 min。
9. 收集上清（~1-2 mg总蛋白）并放置于冰上使用。如果样品不立即使用，请将处理后的样品存放于-70 ° C条件下。

## 电泳和转移

1向聚丙烯酰胺凝胶（17%）中加入15  $\mu$  L/孔的下拉上清液。而且建议包括预染色MW标准（作为成功转入的指标步骤3）。

2按照制造商的说明进行SDS-PAGE。

3按照制造商的说明，将凝胶蛋白转移到PVDF或硝化纤维膜上说明。

## 免疫印迹检测（所有步骤均在室温下搅拌）

1在电印迹步骤之后，将PVDF膜浸入100%甲醇中15次

然后在室温下干燥5分钟。

如果使用硝基纤维素，则应跳过此步骤。

2室温下用5%脱脂奶粉或3%牛血清白蛋白在TBST中封闭1小时

不断地搅动。

用抗Arl1单克隆抗体孵育，新鲜稀释1:50~1000

（取决于样品中Arl1蛋白质的含量）5%脱脂奶粉或3%

BSA/TBST，室温下持续搅拌1-2小时或4o

过夜。

3用TBST清洗吸水膜三次，每次5分钟。

4用二级抗体（例如山羊抗鼠IgG，HRP结合物）培养膜，

在室温下，Gaz 蛋白，在5%脱脂奶粉或3%BSA/TBST中新鲜稀释1:1000，1小时不断地搅动。

5用TBST清洗吸水膜三次，每次5分钟。

6使用您选择的检测方法，如ECL。

Gaz 蛋白-武汉纽斯特生物公司(图)由武汉纽斯特生物技术有限公司提供。武汉纽斯特生物技术有限公司为客户提供“G蛋白活性,cAMP和cGMP ELISA试剂盒,蛋白点突变”等业务，公司拥有“纽斯特”等品牌，专注于生物化工等行业。，在湖北省武汉市东湖新技术开发区高新大道666号光谷生物城B3-3栋3楼的名声不错。欢迎来电垂询，联系人：黄经理。