

## Gao antibody 武汉纽斯特生物公司

产品名称	Gao antibody 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

### 检测步骤

#### 。活性Cdc42 Pull-Down实验

1. 等分0.5-1 mL的细胞裂解物至微量离心管中。
2. 向管中加入1mL的1X Assay/Lysis 缓冲液。
3. 向管中加入1ul的活性Cdc42单克隆抗体。
4. 用涡旋振荡仪将protein A/G凝胶柱充分混匀，然后快速的吸出20ul悬浮珠浆液加入离心管中。
5. 将管置于4 ° C条件下孵育1H，并轻轻的进行摇动。
6. 5000g，离心1分钟。
7. 弃上清，这一步要非常小心以避免珠子的损失。
8. 用0.5 mL的1X Assay/Lysis缓冲液洗涤珠子三次，离心并弃去上清。
9. 后一次洗涤后，小心的移去所有的上清。
10. 用20ul的2X SDS-PAGE样品缓冲液重悬样品。
11. 样品煮沸5min。

12. 5000g，离心10s。

武汉纽斯特生物科技有限公司（WuhanNewEastBiotechnologyCo.Ltd），系美国生命科学试剂供应商美国NewEastBio在中国的子公司。美国NewEastBio专注于生命科学和生物技术领域，主要产品有小分子、ELISA试剂盒、蛋白等。

### 悬浮细胞

- 1.培养细胞并根据需要用活化剂或抑制剂刺激。
- 2.进行细胞计数，然后通过离心沉淀细胞。
- 3.吸出培养基，并用冰冷的PBS洗涤两次。
- 4.完全除去PBS洗涤液，然后向细胞沉淀中加入冰冷的1X分析/裂解缓冲液（每 $1 \times 10^7$ 池0.5 – 1 mL）。
- 5.通过重复移液裂解细胞。
- 6.将裂解物转移至适当大小的试管中，加Gao antibody，并置于冰上。
- 7.如果发生核裂解，则细胞裂解液可能变得非常粘稠，难以移液。如果这发生时，裂解液可通过27号注射器针头3-4次以剪切基因组DNA。
- 8.通过离心10分钟（在 $4^\circ\text{C}$ 下为 $12,000 \times g$ ）清除裂解物。
- 9.收集上清液并将样品保存在冰上以备立即使用，或速冻并保存在 $-70^\circ\text{C}$ 以备将来使用。

### 阳性和阴性对照的体外GTP S/ GDP蛋白质上样量

注意：体内刺激细胞会激活大约10%的可用Rab35，而体外GTP S蛋白负载将激活近90%的Rab35。

- 1.将0.5 ml每种细胞提取物等分到两个微量离心管中（或使用 $1 \mu\text{g}$ 纯化的Rab35蛋白）。
- 2.向每个试管中加入 $20 \mu\text{l}$  0.5 M EDTA（至20 mM终浓度）。
- 3.将 $5 \mu\text{l}$  100 X GTP S（至 $100 \mu\text{M}$ ，终浓度）加到一个试管中（阳性对照）。
- 4.在第二个试管中加入 $5 \mu\text{l}$  100 X GDP（至1 mM，终浓度）（阴性对照）。
- 5.在搅拌下将试管在 $30^\circ\text{C}$ 孵育30分钟。

6. 通过将试管放在冰上并添加32.5  $\mu$ l 1 M MgCl<sub>2</sub> (至60 mM)。

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  $\mu$ l GTP S GTP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  $\mu$ g/mL亮肽素和10  $\mu$ g/mL抑肽酶。

Gao antibody-武汉纽斯特生物公司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。