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

Ⅰ。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l隆抗l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（WuhanNewEastBiotechonologyCo.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l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 x 107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，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l器针头3-4次以剪切

基因组DNA。

8.通过离心10分钟（在4 ° C下为12，000 x 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 ° C以备将来使用。

阳性和阴性对照的体外GTP γ S/ GDP蛋白质上样量

注意：体内刺激细胞会激l活大约10%的可用Rab35，而

体外GTP γ S蛋白负载将激l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 μ g纯化的Rab35蛋白）。

2.向每个试管中加入20 μ l 0.5 M EDTA（至20 mM终浓度）。

3.将5 μ l 100 XGTP γ S（至100 μ 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 μ l 100 X GDP（至1 mM，终浓度）（阴性对照）。

5.在搅拌下将试管在30 ° C孵育30分钟。

6.通过将试管放在冰上并添加32.5 μl 1 M MgCl2（至60 mM）。

1.抗活性的Arl1，小鼠单克l隆抗l体（货号26924）：一小瓶 – 溶于pH 7.4的PBS中的22 μL（1mg / ml），含有50％甘油和0.05％叠氮l化钠。该抗l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 μL 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 MgCl2，5 mM EDTA，5％Triton X-100。

4.抗Arl1，小鼠单克l隆抗l体（目录号26056）：一小瓶 – 100 μL（1 mg / ml）

pH 7.4的PBS中含有50％的甘油。

5. 100 XGTPγS（货号30303）：1瓶 – 100 μl，10 mM，使用5 μLGTPγSGTP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 μl，100 mM，使用5 μL 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l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l疫印迹系统

8.免l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l疫印迹封闭缓冲液（TBST包含5％脱脂奶粉或3％BSA）

10. PVDF或硝l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 μg / mL亮肽素和10 μg / 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。