

## Active Rac 武汉纽斯特

产品名称	Active Rac 武汉纽斯特
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

体外用GTP S/GDP处理蛋白以用作阳性和阴性的对照

注意：在细胞体内环境条件下大约有10%的Cdc42被激活，而在体外用GTP S处理大约有90%的Cdc42被激活。

1. 准备两个离心管，每个管中各加入0.5 mL的细胞提取物（如果是纯的Cdc42蛋白则每个管中加入的蛋白量为1ug）。
2. 每个管中加入20ul 0.5M EDTA(终浓度即为20 mM)。
3. 一个管中加入5ul的100X GTP S（终浓度即为100 uM）作为阳性对照。另一个管中加入5ul的100X GDP（终浓度即为1 mM）作为阴性对照。
4. 将离心管置于30 ° C条件下反应30min并不断搅动。
5. 终止反应：将管置于冰上并加入32.5ul 1M MgCl<sub>2</sub>(终浓度即为60mM)。

1. VASP通过调节Rab11依赖性TGF- $\beta$ 受体的质膜靶向来促进肝星状细胞的TGF- $\beta$ 活化

肝病学第61卷，首1期，第361-374页，2015年1月

2. Rab5活性调节GLUT4分类为胰岛素反应性和非胰岛素反应性内体室：胰岛素抵抗发展的潜在机制。  
内分泌学。2014年9月; 155 ( 9 ) : 3315-28

将裂解液转移到适当大小的试管中，并置于冰上。

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。

如果发生这种情况，可将裂解液通过27号注射器针头3-4次以剪切基因组DNA。

通过离心10分钟（在4 ° C下为12,000 x g）清除裂解物。

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以便将来使用。

## 电泳和转膜

1. 取15ul样品/孔上样17%配体胶。
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到PVDF或硝化纤维素膜。

免疫印迹反应和检测（所有步骤都是在室温下进行，Active Rac，并不断搅拌）

1. 将PVDF膜浸入100%甲醇15s，然后在室温放置5 min晾干。

注意：如果使用的是硝化纤维素膜，此步省略。

2. 封闭：用TBST缓冲液配制5%的脱脂牛奶或者3%BSA在室温下孵育1H进行封闭，并需要恒定振荡。
3. 孵育一抗：用TBST缓冲液配制的5%脱脂牛奶或3%BSA稀释特异性识别Cdc42活性构象的兔多克隆抗体（稀释比例为1:50-1:1000，主要根据样品中含有的Cdc42蛋白的量），室温下孵育1-2小时，或者4 ° C条件下过夜孵育。
4. 用TBST缓冲液洗涤膜三次/5min。
5. 孵育二抗：（例如羊抗兔IgG-HRP），用TBST缓冲液配制的5%脱脂牛奶或3%BSA按1:1000稀释比例稀释后使用，室温下孵育1小时并恒定振荡。
6. 用TBST缓冲液洗涤膜三次/5min。
7. 使用实验者所选择的检测方法进行显色如ECL显色法。

Active Rac-武汉纽斯特(推荐商家)由武汉纽斯特生物技术有限公司提供。“G蛋白活性,cAMP和cGMP ELISA试剂盒,蛋白点突变”选择武汉纽斯特生物技术有限公司，公司位于：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，多年来，武汉纽斯特坚持为客户提供好的服务，联系人：黄经理。欢迎广大新老客户来电，来函，亲临指导，洽谈业务。武汉纽斯特期待成为您的长期合作伙伴！