

G 蛋白偶联受体 (GPCR) 提取和稳定试剂盒使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-6020	G蛋白偶联受体 (GPCR) 提取和稳定试剂盒	50T/100T
EK-6020-1	GPCR蛋白提取及稳定剂	50ml/100ml
EK-6020-2	蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物 (All-in-one,50×)	1ml/2ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

GPCR 蛋白提取及稳定剂保存于 2-8℃；蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物-20℃保存一年

【产品概述】

GPCR 属于多次跨膜蛋白，提取后极易因失去磷脂双分子层的支撑而发生构象坍塌或聚集失活。本试剂盒采用尖端的去垢剂胶束 (Micelle) 封装技术，模拟天然脂质环境，在 1-2 小时内高效提取功能性受体。

高稳定性：提取后的受体在 4℃ 可保持功能活性长达 1 周，-20℃ 可保存 1 个月。

应用广泛：特别适用于配体结合实验、激酶活性检测、电生理分析及 Western Blot。

提取量参考：1ml 可用于 1×10^6 个细胞或 50-100 mg 组织。

【实验前准备】

配制完全裂解液 (现配现用)：根据用量，每 1ml GPCR 提取液中加入 20μL 蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物 (50×)，混匀后置于冰上。

【操作方法】

1. 样本收集与洗涤 (关键：彻底去除干扰)

A. 培养细胞 (贴壁或悬浮细胞)：

① **收集：**贴壁细胞推荐用细胞刮刀刮取；悬浮细胞直接收集 (4℃, $500 \times g$ 离心 5 分钟)。

② **洗涤：**用预冷 PBS 洗涤细胞 2 次 (收集细胞方法：4℃, $500 \times g$ 离心 5 分钟)。最终弃净上清，确保细胞沉淀尽量干燥。

B. 组织样本：

洗涤：取 50-100 mg 组织，PBS 洗涤 2 次去除血污，剪成碎糜状。

2. 裂解与稳定处理

① **加液:** 每 1×10^6 个细胞或 50-100 mg 组织加入 1 mL 含抑制剂裂解液。

② **裂解:**

细胞: 用移液器吹打 10-15 次, 短暂漩涡混匀。

组织: 转移至 Dounce 匀浆器, 冰浴匀浆 10-15 次。

注: 对于 Expi293 等过表达系统, 增加 Dounce 匀浆能显著提升活性受体回收率。

③ **孵育:** 将样本置于 4°C 旋转摇床上孵育 30-60 分钟。 *注: 旋转孵育优于静态放置, 能确保胶束对膜蛋白的充分封装。*

3. 蛋白收集

① **离心:** 4°C, $16,000 \times g$ 离心 20 分钟。

② **收集:** 小心吸取上清液 (即为功能性 GPCR 蛋白), 转移至预冷的全新离心管中。

注: 立即进行下游应用或将提取物等分试样储存在 4°C 下保存长达 1 周或在 -20°C 下保存长达 1 个月以备将来使用, 同时最大程度地减少受体功能的损失。

【注意事项】

- 蛋白变性严禁高温:** GPCR 是膜蛋白, 高温 (95-100°C) 会导致膜蛋白疏水域暴露并发生不可逆聚集, WB 结果通常表现为孔底部有沉淀或条带“涂布状”。**推荐方案: 50°C 孵育 30 分钟, 或 37°C 孵育 1 小时。**
- 严禁超声破碎:** 超声产生的局部高温和剪切力会破坏胶束结构, 导致受体变性失活。若组织裂解物过于粘稠, 请增加匀浆次数或延长孵育时间。
- 安全防护:** 为了您的安全与健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。该产品仅实验室使用, 不适合农业/家庭/临床用途使用。