

产品说明书

26 版

基本信息

产品编号:	PS2446
产品名称:	EMSA PAGE 凝胶配置试剂盒

产品简介:

EMSAPAGE 凝胶配制试剂盒(EMSAPAGEGelPreparationKit), 提供了配制 EMSAPAGE 凝胶所需的各种试剂, 用户只需自备制胶器具和蒸馏水, 即可配制不同浓度的 EMSAPAGE 凝胶(即聚丙烯酰胺凝胶)。凝胶迁移实验(也称凝胶阻滞实验或电泳迁移率实验)(Electrophoreticmobilityshiftassay, EMSA), 也称 GelShift, 是一种用于研究蛋白与核酸相互作用的高灵敏实验技术。最初主要用于转录因子与启动子相互作用的验证性实验, 也可应用于蛋白与 DNA、蛋白与 RNA 相互作用研究。EMSA 技术基于进行非变性聚丙烯酰胺或琼脂糖凝胶电泳时, 蛋白质与 DNA 或 RNA 复合物的迁移速度比游离线性 DNA 或 RNA 片段慢, 从而导致 DNA 或 RNA 迁移位置在与蛋白质结合时滞后。

产品特点:

- 1: 操作便捷: 本产品将配制凝胶所需的各种关键成分进行预混、分装和优化, 只需按照说明书将指定体积的各组分混合, 大大节省了准备时间和精力。本试剂盒可配制 30-50 块常规大小的 EMSAPAGE 凝胶。具体可以配制的凝胶数量和凝胶的厚薄以及凝胶的大小有关。
- 2: 稳定性高: 优化后的凝胶能够产生尖锐、清晰的条带, 使得蛋白-核酸复合物与游离探针能明显分开, 便于后续的显影和分析。

组分:

组分	组分名称	包装规格 (50T)	储存
组分 A	TBE Buffer (5X)	50mL	室温
组分 B	40% Acr-Bis (39:1)	50mL	4℃
组分 C	80% Glycerol	20mL	4℃
组分 D	凝胶聚合催化剂	0.8g	室温
组分 E	TEMED Substitute	0.3mL	4℃

操作步骤:

- 1: 准备制备凝胶的模具。可以使用常规的制备蛋白电泳凝胶的模具, 最好选择可以灌制较薄凝胶的模具(如 0.75mm 厚度), 以便于干胶、转膜等后续操作。为获得更好的条带分离效果, 可以选择可灌制较大 EMSA 凝胶的模具。制胶前必须把制胶模具冲洗干净, 需特别注意不能有 SDS 残留。
- 2: 10%凝胶聚合催化剂的配制: 例如称取 0.1g 凝胶聚合催化剂, 用蒸馏水溶解, 并定容至 1ml, 即为 10%凝胶聚合催化剂。
- 3: 配制一块常用 EMSA PAGE 胶(胶板宽度为 10 厘米)所需凝胶溶液体积: 0.75mm 厚度凝胶约 5ml; 1mm 厚度凝胶约 7ml; 1.5mm 厚度凝胶约 10ml。均含约 0.5ml 的余量。

- 4: 根据目的蛋白的分子量大小选择合适的凝胶浓度, 并根据下表配制凝胶:

成分	配制不同体积 EMSA PAGE 凝胶所需各成分的体积 (mL)				
4%胶	10	20	30	40	50
TBE Buffer (5X)	1	2	3	4	5





40% Acr-Bis (39:1)	1	2	3	4	5
80% Glycerol	0.313	0.625	0.938	1.250	1.563
10%凝胶聚合催化剂	0.075	0.150	0.225	0.300	0.375
TEMED	0.005	0.010	0.015	0.020	0.025
Ultrapure water	7.6	15.2	22.8	30.4	38.0
成分	配制不同体积 EMSA PAGE 凝胶所需各成分的体积 (mL)				
4.5%胶	10	20	30	40	50
TBE Buffer (5X)	1	2	3	4	5
40% Acr-Bis (39:1)	1.1	2.3	3.4	4.5	5.6
80% Glycerol	0.313	0.625	0.938	1.250	1.563
10%凝胶聚合催化剂	0.075	0.150	0.225	0.300	0.375
TEMED	0.005	0.010	0.015	0.020	0.025
Ultrapure water	7.5	15.0	22.4	29.9	37.4
成分	配制不同体积 EMSA PAGE 凝胶所需各成分的体积 (mL)				
5%胶	10	20	30	40	50
TBE Buffer (5X)	1	2	3	4	5
40% Acr-Bis (39:1)	1.3	2.5	3.8	5.0	6.3
80% Glycerol	0.313	0.625	0.940	1.250	1.563
10%凝胶聚合催化剂	0.075	0.150	0.225	0.300	0.375
TEMED	0.005	0.010	0.015	0.020	0.025
Ultrapure water	7.4	14.7	22.1	29.4	36.8
成分	配制不同体积 EMSA PAGE 凝胶所需各成分的体积 (mL)				
5.5%胶	10	20	30	40	50
TBE Buffer (5X)	1	2	3	4	5
40% Acr-Bis (39:1)	1.4	2.8	4.1	5.5	6.9
80% Glycerol	0.313	0.625	0.940	1.250	1.563
10%凝胶聚合催化剂	0.075	0.150	0.225	0.300	0.375
TEMED	0.005	0.010	0.015	0.020	0.025
Ultrapure water	7.2	14.5	21.7	28.9	36.2
成分	配制不同体积 EMSA PAGE 凝胶所需各成分的体积 (mL)				
6%胶	10	20	30	40	50
TBE Buffer (5X)	1	2	3	4	5
40% Acr-Bis (39:1)	1.5	3.0	4.5	6.0	7.5
80% Glycerol	0.313	0.625	0.940	1.250	1.563
10%凝胶聚合催化剂	0.075	0.150	0.225	0.300	0.375
TEMED	0.005	0.010	0.015	0.020	0.025
Ultrapure water	7.1	14.2	21.3	28.4	36.2
注意: A: 按照上述顺序依次加入各种试剂, 加入 TEMEDSubstitute 前先混匀, 加入 TEMEDSubstitute 后立即混匀, 并马上加入到制胶的模具中。避免产生气泡, 并加上梳齿。如果发现非常容易形成气泡, 可以把一块制胶的玻璃板进行硅烷化处理。					



B: 通常 10-30 分钟内胶会凝固。具体的凝固时间和温度及光照有关，上表中 10%凝胶聚合催化剂和 TEMEDSubstitute 的正常推荐用量是室温为 25°C 时的推荐用量。为达到与 25°C 时相近的凝固时间，当室温低于 25°C 时，可以适当增加 10%凝胶聚合催化剂和 TEMEDSubstitute 的用量，例如 20°C 时建议使用正常推荐用量的 1.5 倍，15°C 时建议使用正常推荐用量的 2 倍。

5: EMSA 实验步骤可参考化学发光法 EMSA 试剂盒。

注意事项:

一：储存注意事项

1: TBE Buffer (5X)、80% Glycerol 和凝胶聚合催化剂室温保存。40% Acr-Bis (39:1)和 TEMED Substitute 4°C 避光保存。凝胶聚合催化剂用蒸馏水配制成 10%溶液后，分装成小管-20°C 保存，通常半年内有效。

2: 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

二：操作注意事项

1: TEMED Substitute 易挥发，使用后请盖紧瓶盖。另外凝胶凝聚的速度和温度及光照关系密切，可通过适当调节凝胶聚合催化剂和 TEMED Substitute 的用量，控制在不同的室内环境下凝胶凝聚的速度。TEMED Substitute 易燃，有腐蚀性，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或腐蚀其他物品。

2: 为了您的安全和健康，实验时请穿实验服并戴一次性手套操作。

储存: 低温运输，4°C，6 个月。

