

EMSA PAGE Gel Preparation Kit

EMSA PAGE 凝胶配制试剂盒

产品简介

凝胶迁移实验(也称凝胶阻滞实验或电泳迁移率实验) (Electrophoretic mobility shift assay, EMSA), 也称 Gel Shift, 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。

该试剂盒包含配置 EMSA PAGE 凝胶的所有试剂, 客户可搭配蛋白电泳胶制胶组合 ([Cat# 80813ES](#)) 使用。本试剂盒约可配制 30-50 块常规大小的 EMSA PAGE 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。

产品信息

货号	21102ES50
规格	1 kit (30~50 gels)

产品组分

组分编号	组分名称	规格	保存方式
21102ES-A	40%丙烯酰胺/甲叉双丙烯酰胺(39:1)	50 mL	4°C 避光
21102ES-B	TBE Buffer (10×)	25 mL	室温
21102ES-C	50% Glycerol	25 mL	室温
21102ES-D	APS 过硫酸铵	0.8 g	室温
21102ES-E	TEMED 四甲基乙二胺	0.6 mL	4°C 避光

储存条件

TBE Buffer (10X)、80% Glycerol 和 APS 室温保存。40% Acr-Bis (39:1)和 TEMED Substitute 4°C 避光保存。有效期 1 年。

操作方法

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, 如我司的蛋白电泳胶制胶组合 ([Cat# 80813ES](#))。最好选择可以灌制较薄凝胶的模具(如 0.75 mm 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. 配置 10% APS, 如称取 0.1 g APS, 用蒸馏水溶解, 并定容至 1 mL, 即为 10% APS, 推荐分装后使用, 避免反复冻融。
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: 0.75 mm 厚度凝胶约 5 mL; 1 mm 厚度凝胶约 7 mL; 1.5 mm 厚度凝胶约 10 mL。均含约 0.5 mL 的余量。

4. 制胶

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:

凝胶浓度	凝胶体积 (mL)	所需各组分体积 (单位: mL)					
		TBE Buffer (10×)	蒸馏水	40% Acr-Bis (39:1)	50% Glycerol	10%APS	TEMED
4%胶	10	0.5	8	1.0	0.5	0.07	0.005
	20	1.0	16	2.0	1.0	0.14	0.01
	30	1.5	24	3.0	1.5	0.21	0.015
	40	2.0	32	4.0	2.0	0.28	0.02
	50	2.5	40	5.0	2.5	0.35	0.025
4.5%胶	10	0.5	7.9	1.1	0.5	0.07	0.005
	20	1.0	15.7	2.3	1.0	0.14	0.01
	30	1.5	23.6	3.4	1.5	0.21	0.015
	40	2.0	31.5	4.5	2.0	0.28	0.02
	50	2.5	39.4	5.6	2.5	0.35	0.025
5%胶	10	0.5	7.7	1.3	0.5	0.07	0.005
	20	1.0	15.5	2.5	1.0	0.14	0.01
	30	1.5	23.2	3.8	1.5	0.21	0.015
	40	2.0	31	5.0	2.0	0.28	0.02
	50	2.5	38.7	6.3	2.5	0.35	0.025
5.5%	10	0.5	7.6	1.4	0.5	0.07	0.005
	20	1.0	15.2	2.8	1.0	0.14	0.01
	30	1.5	22.9	4.1	1.5	0.21	0.015
	40	2.0	30.5	5.5	2.0	0.28	0.02
	50	2.5	38.1	6.9	2.5	0.35	0.025
6%	10	0.5	7.5	1.5	0.5	0.07	0.005
	20	1.0	15	3.0	1.0	0.14	0.01
	30	1.5	22.5	4.5	1.5	0.21	0.015
	40	2.0	30	6.0	2.0	0.28	0.02
	50	2.5	37.5	7.5	2.5	0.35	0.025

备注：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% APS 和 TEMED Substitute 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 TEMED Substitute 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。

注意事项

1. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
2. 本产品仅作科研用途。