



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

## EMSA PAGE 凝胶配制试剂盒 PAGE Electrophoresis Kit for EMSA

Ver.740365

货号	名称	规格
RTE4104	EMSA PAGE 凝胶配制试剂盒	30-60 次

### ● 产品组成:

货号	名称	规格	贮存
RTE4104-01	40%PAA(37.5:1)	50 ml	4℃, 避光
RTE4104-02	5×TBE	50 ml	RT
RTE4104-03	80%甘油	20 ml	RT
AP020P	APS (干粉)	5 ml	RT (配制后-20℃贮存)
TA0761-01	TEMED	0.5 ml	4℃, 避光

### ● 产品简介:

EMSA PAGE 凝胶配制试剂盒(PAGE Gel Preparation Kit for PAGE)提供了配制 EMSA PAGE 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 EMSA PAGE 凝胶。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。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。

本试剂盒大约可以配制 30-50 块常规大小 (8×10 cm) PAGE 凝胶, 具体数量根据凝胶厚度决定: 0.75mm 厚度凝胶可以配制 60 块胶, 1 mm 厚度凝胶可以配制 45 块胶, 1.5 mm 厚度凝胶可以配制 30 块胶。

### ● 贮存和效期:

本产品常温运输; 按照标签温度贮存; 有效期一年。

### ● 使用说明:

#### 10% APS 配制-5 ml:

将 0.5 g APS 干粉溶于 5 ml 灭菌水中, 彻底溶解后分装, 1 ml/支, -20℃ 备存, 每次取一管使用。10% APS 应尽量减少常温存放时间, 以防失效, 若发现凝胶聚合时间延长, 应考虑更换使用-20 度保存的 10% APS。

#### 一、制备凝胶步骤:

1.1 参照凝胶模具说明书, 装配好凝胶模具。

1.2 按照表格将不同体积的成分在小烧杯中混合; 最后加入 10%APS 和 TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。配制一块常用 EMSA PAGE 胶(8×10 cm)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。

#### EMSA PAGE 凝胶配方表一 (0.75 m 厚度凝胶):

		总体积 5 ml, 适用于厚度 0.75 mm 小板胶				
		各组份体积 (ml)				
胶浓度	灭菌水	40%PAA(37.5:1)	80%甘油	5×TBE	10%APS	TEMED
4%	3.8	0.5	0.156	0.5	0.05	0.005

5%	3.66	0.625	0.156	0.5	0.05	0.005
6%	3.54	0.75	0.156	0.5	0.05	0.005

### EMSA PAGE 凝胶配方表二 (1.0 mm 厚度凝胶):

		总体积 7 ml, 适用于厚度 1 mm 小板胶				
		各组份体积 (ml)				
胶浓度	灭菌水	40%PAA(37.5:1)	80%甘油	5×TBE	10%APS	TEMED
4%	5.3	0.7	0.22	0.7	0.07	0.007
5%	5.2	0.875	0.22	0.7	0.07	0.007
6%	5.0	1.05	0.22	0.7	0.07	0.007

### EMSA PAGE 凝胶配方表三 (1.5 mm 厚度凝胶):

		总体积 10 ml, 适用于厚度 1.5 mm 小板胶				
		各组份体积 (ml)				
胶浓度	灭菌水	40%PAA(37.5:1)	80%甘油	5×TBE	10%APS	TEMED
4%	7.6	1	0.313	1	0.1	0.01
5%	7.4	1.25	0.313	1	0.1	0.01
6%	7.1	1.5	0.313	1	0.1	0.01

1.3 在玻璃板中灌入凝胶溶液至玻璃板顶端, 插入梳子, 避免产生气泡。

1.4 静置 20-60 分钟, 等待凝胶完全聚合。

环境温度	凝固时间
低于 18 度	>60 分钟
18 度	~40 分钟
25 度	~30 分钟
高于 25 度	~20 分钟

注: 凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时, 聚合较快; 冬天气温低时, 聚合时间会延长。可以根据环境温度的不同调节 APS 的加入量。

## 二、电泳:

2.1 预电泳: 拔出梳子, 用 0.5×TBE 缓冲液彻底冲洗加样孔 2-3 次。电泳槽内外加入适量 0.5×TBE 缓冲液, 稳压 100 V 预电泳 10 分钟。

注: 试剂盒配套的 5×TBE 缓冲液仅够配制凝胶用, 0.5×TBE 电泳缓冲液请自己制备, 配方如下:

终浓度	顺序	原料	1 升	5 升
44.5 mM	1	Tris 碱 [MW121.14]	5.4 克	27 克
1 mM	2	EDTA 2Na · 2H <sub>2</sub> O [MW372.24]	0.372 克	1.86 克
44.5 MM	3	硼酸 [MW61.83]	2.75 克	13.75 克
	4	超纯水最后定容至	1 升	5 升
		最后 pH 在 8.2-8.3 之间, 可以不用调节 pH, 记录每批 pH		

2.2 把混合了无色上样缓冲液的样品加入到上样孔内。在多余的某个上样孔内加入 10 μl 稀释好的 1X 的 EMSA 上样缓冲液(蓝色), 用于观察电泳进行的情况。

2.3 稳压 100 V 电泳, 可以冰浴或 4 度条件下电泳, 确保胶的温度不超过 30℃。电泳至上样缓冲液中的蓝色染料溴酚蓝至胶的下缘 1/4 处, 停止电泳。