

## EMSA Kit

## EMSA 试剂盒

## 目录号

DLI102

## 产品简介

凝胶阻滞或电泳迁移率实验 (Electrophoretic mobility shift assay, EMSA) 是一种体外研究 DNA 结合蛋白质 (包括转录因子、共调节因子) 和 DNA 相互作用的技术。EMSA 基于 DNA-蛋白质复合物在聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 中迁移率的不同, 当 DNA 结合蛋白质与 DNA 结合后, 其在 PAGE 中的迁移率将小于未结合蛋白 DNA, 从而根据显影结果判定两者间是否结合。

## 产品组成

| 组分                 | 20 T   | 96 T   | 储存    |
|--------------------|--------|--------|-------|
| PAGE Buffer A      | 20 mL  | 100 mL | 4°C   |
| PAGE Buffer B      | 20 mL  | 100 mL | 4°C   |
| Coagulant A        | 2 mL   | 10 mL  | 4°C   |
| Coagulant B        | 140 µL | 900 µL | 4°C   |
| EMSA lysis buffer  | 20 mL  | 100 mL | 4°C   |
| Protease inhibitor | 200 µL | 1 mL   | -20°C |
| Stabilizing agent  | 10 mL  | 50 mL  | 4°C   |
| Binding buffer     | 150 µL | 750 µL | 4°C   |
| Loading buffer     | 300 µL | 1.5 mL | 4°C   |

## 产品应用

- ◆ 鉴定蛋白-DNA 结合位点, 确定某一转录因子能否结合具体 DNA 序列;
- ◆ 分析结合特异性: 通过变异 DNA 序列或竞争实验, 评定结合区域的特异残基;
- ◆ 转录因子活性对比研究。

## 产品特点

- ◆ 转录因子 (包括转录因子、共调节因子) 靶基因研究;
- ◆ 转录因子在靶基因启动子区域结合位点验证研究;
- ◆ 组间转录因子活性对比研究。

## 使用方法

1. 配制 PAGE 凝胶 (时间 30 min)
  - a. 在离心管中, 加入 1 mL PAGE Buffer A、1 mL PAGE Buffer B 及 4 mL ddH<sub>2</sub>O 并充分混匀;
  - b. 继续加入 50 µL Coagulant A 及 7 µL Coagulant B 充分混匀后, 快速转移至制胶板中, 插入制胶梳子后, 室温静置凝胶 30 min;
2. 提取核蛋白 (时间 30 min)
  - a. 收集  $1 \times 10^7$  细胞, 加入 1 mL 1×PBS 吹打混匀并 1000 rpm 离心 5 min 后, 充分去除上清;
  - b. 细胞沉淀中加入 1 mL EMSA lysis buffer、5 µL Protease inhibitor 吹打混匀;
  - c. 室温静置裂解 10 min, 期间隔 2 min 轻弹混匀;
  - d. 4 °C, 3000 g 离心 10 min 后, 去除上清;
  - e. 细胞沉淀中加入 250 ~ 500 µL Stabilizing agent 充分重悬后冰浴保存待用;
3. 结合反应 (时间 30 min)



- a. 按照下表配制各组结合体系，轻轻混匀后，室温（20~37 °C范围）静置孵育 30 min；

| 组别      | Binding Buffer | 蛋白提取物 | 探针   | 野生探针 | 突变探针 | 抗体      | ddH <sub>2</sub> O |
|---------|----------------|-------|------|------|------|---------|--------------------|
| 单位      | μL             | μg    | fmol | pmol | pmol | μg      | μL                 |
| 阴性对照    | 1.5            | -     | 500  | -    | -    | -       | 补足到 15             |
| 实验组     | 1.5            | 1~10  | 500  | -    | -    | -       | 补足到 15             |
| 野生型竞争反应 | 1.5            | 1~10  | 500  | 50   | -    | -       | 补足到 15             |
| 突变型竞争反应 | 1.5            | 1~10  | 500  | -    | 50   | -       | 补足到 15             |
| 超迁移组    | 1.5            | 1~10  | 500  | -    | -    | 0.2~0.5 | 补足到 15             |

#### 4. 电泳（时间 60 min）

- a. 每组加入 3 μL Loading buffer 混匀样品后，按组别顺序，依次上样至 PAGE 凝胶孔中；
- b. 在 0.5× TBE 电泳液中，120 V 恒压电泳 45~60 min。

#### 5. 荧光拍照（时间 5 min）

- a. 将凝胶置于紫外凝胶成像或荧光凝胶成像系统中；
- b. 设置不同的曝光时间，观察目标条带位置并拍照。

#### 注意事项

- ◆ 凝胶配制加入 Coagulant A 及 Coagulant B 后，需要立即充分混匀，以保证凝胶浓度均匀；
- ◆ 本产品要求 EMSA 探针需要荧光素标记；
- ◆ Stabilizing agent 裂解液，采用 BCA 法检测蛋白质浓度；
- ◆ 避免多次反复冻融对蛋白质活性的影响，蛋白质提取物可以分管后 -80 °C 冻存；

- ◆ 野生竞争探针为相同核苷酸序列探针；
- ◆ 突变竞争探针为不同核苷酸序列探针；
- ◆ 超迁移组（super-shift）组抗体为 IP 级别的 DNA 结合蛋白抗体；
- ◆ 当蛋白提取物为纯化的 DNA 结合蛋白，可不作超迁移组；
- ◆ 染料溴酚蓝电泳至凝胶的下缘 1/4 处时停止电泳；
- ◆ 电泳缓冲液温度不超过 30 °C；
- ◆ 根据探针浓度曝光时间可以设置为 100 ms、200 ms、400 ms、800 ms 或 1000 ms。

#### 保存条件

各组分保存条件见产品组成，保质期 12 个月。4~8°C 运输。

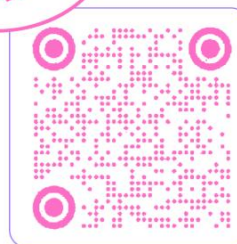
#### 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：  
[product@tsingke.com.cn](mailto:product@tsingke.com.cn)。

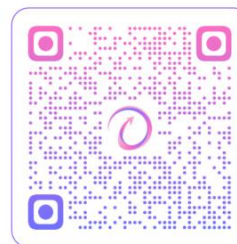
#### 说明书版本号

1.1.2.1102.2507

扫码关注



小红书 小红书



微信公众号



抖音

