



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)

产品编号	产品名称	包装
GS005	EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	100次

### 产品简介:

- EMSA/Gel-Shift结合缓冲液(5X) (EMSA/Gel-Shift Binding Buffer, 5X)是用于EMSA/Gel-Shift的结合缓冲液。通过EMSA, 也称gel-shift, 可以研究目的蛋白和特定的DNA序列的结合情况, 从而可以研究细胞内一些转录因子的激活水平。EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)可以用于EMSA研究时细胞核蛋白或纯化的转录因子和特定的双链寡核苷酸的结合反应。
- EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)中含有poly(dI-dC), DTT, 甘油, EDTA, 氯化钠, 氯化镁以及Tris等有效成分。其中poly(dI-dC)的浓度经过优化, 可以很好的消除蛋白和标记探针间的非特异性结合, 同时又不会减弱目的转录因子和标记探针间的结合。
- 本EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)不仅适用于同位素标记的探针, 也适用于地高辛(digoxin)或生物素(biotin)标记的探针。
- 每个包装的EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X), 足够进行100个蛋白和探针的结合反应。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
GS005	EMSA/Gel-Shift结合缓冲液(5X)	200μl
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存, 一年有效。

### 注意事项:

- 需自备EMSA相关的所有其它试剂。
- 请仔细阅读完整个说明书后, 再开始实验操作。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

1. 参考下面的反应体系使用EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X):

1. 如下设置EMSA结合反应(预期的结果参见图1):

#### 阴性对照反应:

Nuclease-Free Water	7μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	0μl
标记好的探针	1μl
总体积	10μl

#### 探针冷竞争反应:

Nuclease-Free Water	4μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	2μl
未标记的探针	1μl
标记好的探针	1μl
总体积	10μl

#### Super-shift反应:

Nuclease-Free Water	4μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	2μl
目的蛋白特异抗体	1μl

#### 样品反应:

Nuclease-Free Water	5μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	2μl
标记好的探针	1μl
总体积	10μl

#### 突变探针的冷竞争反应:

Nuclease-Free Water	4μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	2μl
未标记的突变探针	1μl
标记好的探针	1μl
总体积	10μl

标记好的探针	1 $\mu$ l
总体积	10 $\mu$ l

- 按照上述顺序依次加入各种试剂，在加入标记好的探针前先混匀，并且室温（20-25 $^{\circ}$ C）放置10分钟，从而消除可能发生的探针和蛋白的非特异性结合，或者让冷探针优先反应。然后加入标记好的探针，混匀，室温(20-25 $^{\circ}$ C) 放置20分钟。
  - 加入1微升EMSA/Gel-Shift上样缓冲液(无色，10X)，混匀后立即上样。注意：有些时候溴酚蓝会影响蛋白和DNA的结合，建议尽量使用无色的EMSA/Gel-Shift上样缓冲液。如果对于使用无色上样缓冲液在上样时感觉到无法上样，可以在无色上样缓冲液里面添加极少量的蓝色的上样缓冲液，至能观察到蓝颜色即可。
2. 电泳分析：EMSA的典型分析结果可以参见下面的图1。

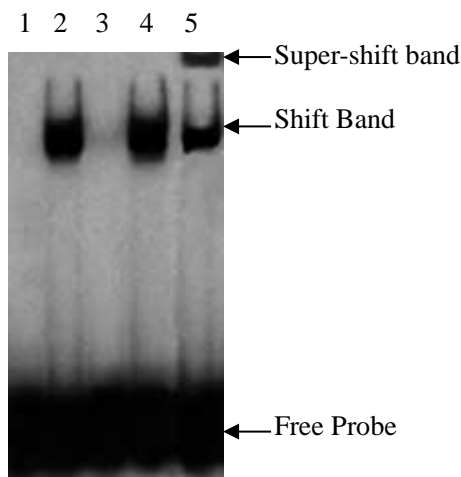


图1. 一个典型的EMSA/Gel-Shift分析图

- 阴性对照反应(标记探针)；
- 常规反应(含激活的目的转录因子的核蛋白+标记探针)；
- 探针冷竞争反应(含激活的目的转录因子的核蛋白+标记探针+标记探针100倍量的未标记探针)；
- 突变探针的冷竞争反应(含激活的目的转录因子的核蛋白+标记探针+标记探针100倍量的未标记突变探针)；
- Super-shift反应(含激活的目的转录因子的核蛋白+标记探针+目的转录因子的特异抗体)。

### 使用本产品的文献：

- Yifeng Wang, Yuxuan Hou, Jiehua Qiu, Huimei Wang, Shuang Wang, Liqun Tang, Xiaohong Tong, Jian Zhang . Abscisic acid promotes jasmonic acid biosynthesis via a 'SAPK10-bZIP72-AOC' pathway to synergistically inhibit seed germination in rice (*Oryza sativa*) *New Phytol.* 2020 Nov;228(4):1336-1353.
- Bello BK, Hou Y, Zhao J, Jiao G, Wu Y, Li Z, Wang Y, Tong X, Wang W, Yuan W, Wei X, Zhang J . NF-YB1-YC12-bHLH144 complex directly activates Wx to regulate grain quality in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Biotechnol J.* 2018 Dec 15.
- Ge M, Wang Y, Liu Y, Jiang L, He B, Ning L, Du H, Lv Y, Zhou L, Lin F, Zhang T, Liang S, Lu H, Zhao H . The NIN-like protein 5 (ZmNLP5) transcription factor is involved in modulating the nitrogen response in maize. *Plant J.* 2019 Dec 2.
- Kong XM, Zhou Q, Zhou X, Wei BD, Ji SJ . Transcription factor CaNAC1 regulates low-temperature-induced phospholipid degradation in green bell pepper. *J Exp Bot.* 2020 Jan 23 71(3):1078-1091.
- Wu RS, Hong JJ, Wu JF, Yan S, Wu D, Liu N, Liu QF, Wu QW, Xie YY, Liu YJ, Zheng ZZ, Chan EC, Zhang ZM, Li BA . OVOL2 antagonizes TGF- $\beta$  signaling to regulate epithelial to mesenchymal transition during mammary tumor metastasis. *ONCOTARGET.* 2017 Jun 13;8(24):39401-39416.
- Gu J, Li Z, Sun Y, Wei LL . Identification of functional peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  response element in the human Ppsig gene. *BIOCHEMISTRY-MOSCOW+*. 2011 Feb;76(2):253-9.
- Zheng L, Liang P, Li J, Huang XB, Liu SC, Zhao HZ, Han KQ, Wang Z . ShRNA-targeted COMMD7 suppresses hepatocellular carcinoma growth. *PLoS One.* 2012;7(9):e45412.
- Gong Y, Long Q, Xie H, Zhang T, Peng T . Cloning and characterization of human Golgi phosphoprotein 2 gene (GOLPH2/GP73/GOLM1) promoter. *BIOCHEM BIOPH RES CO.* 2012 May 18;421(4):713-20.
- Wu X, Zhang X, Zhang H, Su P, Li W, Li L, Wang Y, Liu W, Gao P, Zhou G . Progesterone receptor downregulates breast cancer resistance protein expression via binding to the progesterone response element in breast cancer. *Cancer Sci.* 2012 May;103(5):959-67.
- Li W, Jia M, Qin X, Hu J, Zhang X, Zhou G . Harmful effect of ER $\beta$  on BCRP-mediated drug resistance and cell proliferation in ER $\alpha$ /PR-negative breast cancer. *FEBS J.* 2013 Dec;280(23):6128-40.
- Zhenjie Chen, Qiuxia Wang . Activation of PPAR $\gamma$  by baicalin attenuates pulmonary hypertension in infant rat model by suppressing HMGB1/RAGE signaling. *FEBS Open Bio.* 2016 Nov Accepted.
- Chen Z, Wang Q . Activation of PPAR $\gamma$  by baicalin attenuates pulmonary hypertension in an infant rat model by suppressing HMGB1/RAGE signaling. *FEBS Open Bio.* 2017 Mar 8;7(4):477-484.
- Gao YR, Li DF, Fleming J, Zhou YF, Liu Y, Deng JY, Zhou L, Zhou J, Zhu GF, Zhang XE, Wang DC, Bi LJ . Structural analysis of the regulatory mechanism of MarR protein Rv2887 in *M. tuberculosis*. *SCI REP-UK.* 2017 Jul 25;7(1):6471.
- Wang X, Li X, Li M, Wen J, Yi B, Shen J, Ma C, Fu T, Tu J . BnaA.bZIP1 Negatively Regulates a Novel Small Peptide Gene, BnaC.SP6, Involved in Pollen Activity. *Front Plant Sci.* 2017 Dec 12;8:2117.

15. Cheng K, Yang A, Hu X, Zhu D, Liu K . Curcumin Attenuates Pulmonary Inflammation in Lipopolysaccharide Induced Acute Lung Injury in Neonatal Rat Model by Activating Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) Pathway. . Med Sci Monit. 2018 Feb 26;24:1178-1184.
16. Zhang C, Zhang W, Liang W, Shao Y, Zhao X, Li C . A sigma factor RpoD negatively regulates temperature-dependent metalloprotease expression in a pathogenic *Vibrio splendidus*. MICROB PATHOGENESIS. 2019 Mar 128:311-316.
17. Lv T, Dai F, Zhuang Q, Zhao X, Shao Y, Guo M, Lv Z, Li C, Zhang W . Outer membrane protein OmpU is related to iron balance in *Vibrio alginolyticus*. Microbiol Res. 2020 Jan 230:126350.
18. Huazhao Yuan, Weijian Cai, Xiaodong Chen, Fuhua Pang, Jing Wang, Mizhen Zhao . Heterozygous frameshift mutation in FaMYB10 is responsible for the natural formation of red and white-fleshed strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch) Front Plant Sci. 2022 Oct 26:13:1027567.

Version 2024.03.12