



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

## 生物素标记EMSA探针—ARE (0.2μM)

产品编号	产品名称	包装
GS013B	生物素标记EMSA探针—ARE (0.2μM)	200μl

### 产品简介:

- 生物素标记EMSA探针—ARE是用于EMSA(也称gel shift)研究的并经生物素(Biotin)标记的ARE consensus oligonucleotide。这个生物素标记的双链寡核苷酸含有公认的ARE位点，可以用作EMSA研究时的探针。
- ARE consensus oligo的序列如下:  
 5'-ACT GAG GGT GAC TCA GCA AAA TC-3'  
 3'-TGA CTC CCA CTG AGT CGT TTT AG-5'
- ARE即Antioxidant Response Element(抗氧化响应元件)，该顺式作用元件含有AP1结合位点，可以和AP1结合，但Nrf2是其更专一性结合的转录因子。例如NQO1(NAD(P)H:quinone oxidoreductase)和HO-1(Heme Oxygenase-1)都受Nrf2通过ARE元件进行转录调控。
- 本生物素标记EMSA探针已经过纯化，可以直接用于EMSA结合反应。
- 本生物素标记EMSA探针可以和碧云天的化学发光法EMSA试剂盒(GS009)配套使用。
- 一个包装的生物素标记探针可以进行约200-400个样品的EMSA检测。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
GS013B	生物素标记EMSA探针—ARE (0.2μM)	200μl
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存，一年有效。

### 注意事项:

- 避免加热到40°C以上，温度过高会导致双链DNA探针解聚成单链。而单链无法用于EMSA研究。
- 对于基于生物素标记的EMSA检测的详细操作可以参考碧云天的化学发光法EMSA试剂盒(GS009)的使用说明。
- 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. 本生物素标记EMSA探针用于EMSA结合反应时，参考如下步骤进行:

##### a. 如下设置EMSA结合反应:

##### 阴性对照反应:

Nuclease-Free Water	7-7.5μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	0μl
生物素标记探针	0.5-1μl
总体积	10μl

##### 探针冷竞争反应:

Nuclease-Free Water	4-4.5μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	2μl
未标记的探针	1μl
生物素标记探针	0.5-1μl
总体积	10μl

##### Super-shift反应:

Nuclease-Free Water	4-4.5μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	2μl
目的蛋白特异抗体	1μl
生物素标记探针	0.5-1μl
总体积	10μl

##### 样品反应:

Nuclease-Free Water	5-5.5μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	2μl
生物素标记探针	0.5-1μl
总体积	10μl

#### 突变探针的冷竞争反应:

Nuclease-Free Water	4-4.5μl
EMSA/Gel-Shift 结合缓冲液(5X)	2μl
细胞核蛋白或纯化的转录因子	2μl

未标记的突变探针	1μl
生物素标记探针	0.5-1μl
总体积	10μl

**注:** 生物素标记EMSA探针的推荐用量为每个反应0.5微升, 如果检测出来的目的蛋白的EMSA条带偏弱, 可以适当加大生物素标记EMSA探针的用量至0.75微升或1微升。

**注2:** 对于冷竞争时使用的未标记的探针或未标记的突变探针, 使用量可以根据实际情况调整使用的体积。推荐的用于冷竞争的未标记的探针或突变探针的用量为生物素标记探针的50-100倍。

- b. 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°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°C)放置20分钟。
  - c. 加入1μl 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, 至可以观察到蓝颜色即可。
2. 对于基于生物素标记的EMSA检测的更多详细操作可以参考碧云天的化学发光法EMSA试剂盒(GS009)的使用说明。

#### 使用本产品的文献:

1. Gong W, Li J, Chen Z, Huang J, Chen Q, Cai W, Liu P, Huang H. . Polydatin promotes Nrf2-ARE anti-oxidative pathway through activating CKIP-1 to resist HG-induced up-regulation of FN and ICAM-1 in GMCs and diabetic mice kidneys. *FREE RADICAL BIO MED.* 2017 May;106:393-405.
2. Gong W, Chen C, Xiong F, Yang Z, Wang Y, Huang J, Liu P, Huang H. . CKIP-1 ameliorates high glucose-induced expression of fibronectin and intercellular cell adhesion molecule-1 by activating the Nrf2/ARE pathway in glomerular mesangial cells. *Biochem Pharmacol.* 2016 Sep 15;116:140-52.
3. Baoshun Zhang, Deqing Yu, Nanxuan Luo, Changqing Yang, Yurong Zhu . Four active monomers from Moutan Cortex exert inhibitory effects against oxidative stress by activating Nrf2/Keap1 signaling pathway *KOREAN J PHYSIOL PHA.* 2020 Sep 1;24(5):373-384.

Version 2024.03.12