



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

BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶(4%, 15孔)

产品编号	产品名称	包装
GS302S	BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶(4%, 15孔)	10块

产品简介:

- 碧云天的BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶(BeyoGel™ EMSA Precast PAGE Gel)是一种使用安全、便捷、高品质的常规尺寸聚丙烯酰胺预制凝胶,适用于EMSA (Electrophoretic mobility shift assay)实验。本预制胶有1.5厘米高的浓缩胶,具有非常优良的分选效果,电泳后条带平整、清晰、细腻、锐利,几乎没有边缘效应;同时本预制胶胶板为玻璃材质,减少了对蛋白的非特异性吸附,电泳效果非常好,达到甚至超过了自配EMSA PAGE胶的电泳效果。
- 碧云天的BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶有10孔和15孔两种孔数,4%和6%两种不同浓度的固定浓度胶可供选择。如果有较大的特殊浓度需求,碧云天可提供定制服务。每种预制胶的参数请参考下表:

产品编号	预制胶浓度	孔数	最大上样量	电泳缓冲液体系
GS301/GS302	4%	10/15	60/30μl	0.5X TBE
GS305/GS306	6%	10/15	60/30μl	0.5X TBE

- 本预制胶含有1.5厘米高的4%浓缩胶,可以有效确保获得非常锐利的条带。
- 本预制胶聚丙烯酰胺(Acrylamide)与甲叉聚丙烯酰胺(Bisacrylamide)的比例为29:1,凝胶厚度为1.5mm。加样孔数为10孔的最大上样量为60μl,加样孔数为15孔的最大上样量为30μl。胶板尺寸:宽×高×厚度为98×84×4.1mm;凝胶尺寸:宽×高×厚度为81×74×1.5mm。
- 聚丙烯酰胺凝胶电泳(Polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE)技术广泛用于蛋白质、核酸及蛋白质-核酸复合物的分离纯化、检测、鉴定、分子量分析等实验,是生命科学研究中最基本的实验技术之一。常见的Western印迹(Western blot)检测就是基于PAGE的。
- 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,是一种用于蛋白与核酸相互作用的技术。最初是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-DNA、蛋白-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-DNA复合物的迁移速度比游离线性DNA片段慢,从而导致DNA迁移率在与蛋白质结合时减慢[1,2]。EMSA分辨蛋白质-DNA复合物的能力在很大程度上取决于复合物在实验步骤中的稳定性。电泳缓冲液相对较低的离子强度有助于稳定瞬时相互作用,可以通过该方法分析不稳定的复合物。此外,EMSA也可以解决某些蛋白质因子结合导致的DNA构象改变或弯曲。EMSA不局限于蛋白质与DNA的相互作用,也可用于蛋白质-RNA和蛋白质-蛋白质的相互作用的研究[3,4]。
- EMSA作为研究基因调控和确定蛋白质-DNA相互作用的一项重要技术有如下优点。DNA结合蛋白的来源可以是细胞核或全细胞提取物、体外翻译产物或分离纯化的蛋白;可以定性地用于鉴定裂解物中的序列特异性DNA结合蛋白(如转录因子)[5],并结合相应DNA序列上的点突变来鉴定特定基因上游调控区内的重要结合序列;还可用于定量测量热力学和动力学参数。
- 碧云天的BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶使用略偏碱性pH的TBE缓冲液制备。
- 本预制胶使用常用的0.5X TBE电泳液,推荐使用碧云天TBE (1X premixed powder) (ST720/ST721)、TBE (5X premixed powder) (ST723)以及TBE (5X) (ST718),或参考使用说明自行配制相应的电泳液。
- **关于10孔和15孔预制胶的选择:**需要检测的样品数量多或者需要定量时,推荐使用15孔预制胶,通量更大、更便于进行多样品的定量统计分析;需要获得非常漂亮的代表性图片时,推荐使用10孔预制胶,10孔预制胶获得的条带更加平整和锐利。
- **本产品使用安全、便捷。**本预制胶无需配制,即开即用,去掉梳子即可上样,而传统的EMSA PAGE配制凝胶繁琐费时,并且制胶时还会接触有毒和刺激性试剂。
- **本产品质量稳定。**本预制胶采用高品质玻璃胶板,和塑料胶板相比,大大减少了胶板对蛋白的吸附,电泳效果更好。本产品流水线灌注,品质稳定可靠,重复性好,不同批次的产品一致性高。
- **本产品电泳效果好。**本预制胶的蛋白质-核酸复合物分离效果极佳,非常适合低丰度蛋白的检测。
- **本产品电泳槽兼容性好。**本预制胶兼容市场上主流的小型电泳槽,如碧云天的MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(E6001/E6005)、Bio-Rad公司的Mini-PROTEAN® Tetra Cell电泳槽、Life公司的XCell SureLock® Mini-Cell电泳槽(需与碧云天可免费提供的特制挡板配合使用)、以及上海天能、北京六一等的mini胶电泳槽或其它胶板宽度在10厘米的电泳槽。
- **本产品电泳时间短。**本预制胶最快30分钟即可完成电泳,推荐的电泳电压和电泳时间为100V 30-90分钟,即可完成电泳并获得非常平整和锐利的电泳条带。具体的电泳时间取决于凝胶浓度。
- **本产品取出凝胶极为便捷。**只需用刀片在玻璃胶板一侧轻轻划一下即可,并且玻璃胶板打开极为方便,无需特殊的撬撬工

具。

- 本预制胶属于特殊用途预制胶。碧云天的特殊用途预制胶的比较和选择可以参考碧云天的相关网页：<http://www.beyotime.com/support/special-precast-page-gel.htm>。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
GS302S	BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶(4%, 15孔)	10块
—	说明书	1份

保存条件：

4℃保存，1-2个月有效。切勿置于0℃以下冷冻。

注意事项：

- 由于本预制胶保质期较短，需新鲜制备，在您确认订购后约3-5个工作日才能发货。
- 本预制胶不能置于0℃以下冷冻，否则凝胶会冻裂。
- 电泳液建议新鲜配制。试剂纯度不够、反复使用或长期放置的缓冲液会降低电泳效果。电泳缓冲液多次使用后，离子强度降低，pH值上升，缓冲性能下降，可能使电泳产生条带模糊和不规则的DNA带迁移的现象。
- 本预制胶为了兼容几乎所有厂家的小型凝胶电泳槽，所以改进了与电泳槽U型硅橡胶密封条的吻合结构(如碧云天、Bio-Rad等公司的电泳槽)。建议在电泳时须将具有突起结构的U型硅橡胶密封条取出后反过来安装，使其没有突起的平滑面朝外，从而防止漏液，见下图。一般内槽电泳液加满，外槽电泳液没过电泳槽底部的阳极即可，并且电泳结束后的电泳缓冲液可以作为外槽缓冲液重复使用1-2次。另外，部分公司都已经配套无突起结构的U型硅橡胶密封条，使用这样的U型硅橡胶密封条就不会出现内外槽之间的漏液现象。



图1. 碧云天、Bio-Rad等公司的电泳槽U型硅橡胶密封条的突起结构图。由于碧云天的BeyoGel™ PAGE预制胶的该部位是平的，使其兼容几乎所有厂家的小型胶电泳槽，所以电泳时须将具有突起结构的硅橡胶密封条(左图)取出后反过来安装(右图)，使其没有突起的平滑面朝外，从而防止漏液。

- 由于碧云天的BeyoGel™ PAGE预制胶比Life公司的XCell SureLock® Mini-Cell电泳槽配套的NuPAGE® Gel或Novex® Mini Gel略薄，所以需加特制挡板配合使用。如有需要，请在订购本产品时告知，碧云天会免费赠送该特制挡板。
- 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. 样品准备：**可参考碧云天的EMSA/Gel-Shift试剂盒(GS002)、化学发光法EMSA试剂盒(GS009)或EMSA阳性对照试剂盒(GS010)。上样缓冲液推荐使用碧云天的EMSA/Gel-Shift上样缓冲液(GS006/GS007)。
- 2. 预制胶、电泳液的准备：**
 - a. 将BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶从包装袋中取出。
 - b. 将预制胶固定在电泳槽中，平稳、缓慢地拔出梳子。
 - c. 配制0.5X TBE电泳缓冲液。推荐使用碧云天TBE (1X premixed powder) (ST720/ST721)、TBE (5X premixed powder) (ST723) 以及TBE (5X) (ST718)。1X TBE中含有89mM Tris-Borate、2mM EDTA，pH8.3。
 - d. 内槽加满电泳液，外槽加入电泳液没过电泳槽底部的阳极即可。电泳槽推荐使用碧云天的MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(E6001/E6005)。
注：由于预制胶孔中有残留的储存缓冲液，所以建议用1毫升移液枪吸取电泳液轻轻吹打加样孔，将加样孔冲洗干净，去除气泡和残留的储存缓冲液，这样电泳的效果更佳。
- 3. 上样：**将10微升吸头或BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(FTIP205/FTIP206)的尖端垂直方向轻轻插入到上样孔中即可上样，吸头避免戳破凝胶，更不能使胶板变形导致样品泄漏。**注：**最佳上样量须通过实验来确定，样品过量较易导致条带拖尾和信号过强。

- 将电泳槽盖子盖好，并将电源线插头插入电泳仪电源插孔(红对红，黑对黑)。一般在100V电压，电泳30-90分钟左右即可，电泳至EMSA/Gel-Shift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，切勿使探针跑出凝胶。实际电泳时间与电泳液质量、凝胶的浓度和数量等因素有关系，需自行适当调整。电泳电源推荐使用碧云天的BeyoPower™中电流电源(300V/600mA/100W) (E6080)或BeyoPower™高电流电源(300V/2000mA/200W) (E6085)。
- 取出玻璃胶板，将刀片从玻璃胶板一侧轻轻划一下，稍加用力慢慢扳开或用刮板轻轻撬开玻璃胶板，用刮板将凝胶取出。
- 后续实验步骤可参考EMSA/Gel-Shift试剂盒(GS002)或化学发光法EMSA试剂盒(GS009)。

常见问题:

- 电泳示踪染料溴酚蓝扭曲、电泳条带大幅扭曲、电泳时间大幅度延长:
可能原因是内槽缓冲液泄漏而导致。建议重新夹一下胶板，防止在电泳过程中内槽液面逐步降低。
- 使用自己配制的电泳缓冲液与上样缓冲液电泳后条带较模糊:
本预制胶pH为略偏碱性，缓冲液配制不当，或长期放置变质，都会对本预制胶的电泳效果产生影响。推荐使用碧云天TBE (1X premixed powder) (ST720/ST721)、TBE (5X premixed powder) (ST723)以及TBE (5X) (ST718)。
- 在上样时不可将吸头过度插入上样孔中，吸头的过度插入会使胶板变形，导致样品泄漏。

参考文献:

- Hellman LM, Fried MG. Nat Protoc. 2007. 2(8):1849-61.
- Popova VV, Kurshakova MM, Kopytova DV. Mol Biol (Mosk). 2015. 49(3):472-81.
- Fillebeen C, Wilkinson N, Pantopoulos K. J Vis Exp. 2014. (94):52230.
- Stenger D, Gruissem W, Baginsky S. J Proteome Res. 2004. 3(3):662-4.
- Gurevich I, Zhang C, Aneskievich BJ. Methods Mol Biol. 2010. 585:147-58.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
GS301S	BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶(4%, 10孔)	10块
GS302S	BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶(6%, 10孔)	10块
GS305S	BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶(4%, 15孔)	10块
GS306S	BeyoGel™ EMSA PAGE预制胶(6%, 15孔)	10块
GS002	EMSA/Gel-Shift试剂盒	100次
GS006	EMSA/Gel-Shift上样缓冲液(无色, 10X)	200次
GS007	EMSA/Gel-Shift上样缓冲液(蓝色, 10X)	200次
GS008	EMSA探针生物素标记试剂盒	20次
GS009	化学发光法EMSA试剂盒	100次
GS010S	EMSA阳性对照试剂盒	100次
P0027	细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒	50次
P0028	细胞核蛋白与细胞浆蛋白抽提试剂盒	100次
ST718	TBE (5X)	500ml
ST720	TBE (1X premixed powder)	2L
ST721	TBE (1X premixed powder)	10×2L
ST723	TBE (5X premixed powder)	2×2L
ST760-100g	Tris (Electrophoresis Grade)	100g
ST760-500g	Tris (Electrophoresis Grade)	500g
ST760-2.5kg	Tris (Electrophoresis Grade)	2.5kg
ST761-100g	Tris (Molecular Biology Grade)	100g
ST761-500g	Tris (Molecular Biology Grade)	500g
ST761-2.5kg	Tris (Molecular Biology Grade)	2.5kg
E6001	MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(4胶)	1套
E6005	MiniProGel™蛋白制胶与电泳系统(2胶)	1套
E6080	BeyoPower™中电流电源(300V/600mA/100W)	1套
E6085	BeyoPower™高电流电源(300V/2000mA/200W)	1套
FTIP205-10bags	BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(1-200μl, 袋装)	1000个/袋,10袋/箱
FTIP205-1bag	BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(1-200μl, 袋装)	1000支/袋
FTIP206-12bxs	BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(1-200μl, 盒装)	96支/盒, 12盒/箱
FTIP206-1box	BeyoGold™凝胶电泳上样吸头(1-200μl, 盒装)	96支/盒, 1盒

Version 2022.08.16