

归
去
来
系
列

CAT#:60904-10
常温运输和保存

TIANDZ

一站式 RNA 电泳套装

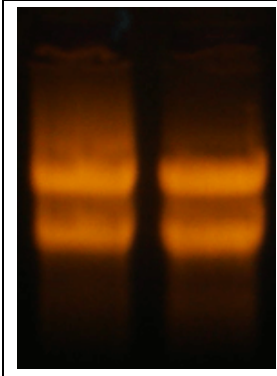
One-Stop RNA Electrophoresis Pack

使用手册 V1.3

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点	<p>本产品是包括琼脂糖、去离子甲醛、RNA 上样液、电泳液等在内的 RNA 电泳套装，专门用于 RNA 电泳分析。可以进行至少 10 次 mini 变性胶电泳。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 即开即用，用户不需要自己进行 RNase 灭活、高压灭菌、pH 调节等操作。 2. 与 Northern 杂交等后续反应兼容。 																					
规格及成分	<table border="1" data-bbox="491 443 1358 891"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>大纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>琼脂糖</td> <td>81105</td> <td>5 g</td> </tr> <tr> <td>超纯水</td> <td>100935</td> <td>250 mL</td> </tr> <tr> <td>甲醛</td> <td>50-00-0</td> <td>60 mL</td> </tr> <tr> <td>RNAon (含 EB)</td> <td>3130A</td> <td>1.5 mL</td> </tr> <tr> <td>RNArun (MOPS 电泳缓冲液), 10×</td> <td>3150</td> <td>100 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>60904sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成份	编号	大纸盒包装	琼脂糖	81105	5 g	超纯水	100935	250 mL	甲醛	50-00-0	60 mL	RNAon (含 EB)	3130A	1.5 mL	RNArun (MOPS 电泳缓冲液), 10×	3150	100 mL	使用手册	60904sc	1 份
成份	编号	大纸盒包装																				
琼脂糖	81105	5 g																				
超纯水	100935	250 mL																				
甲醛	50-00-0	60 mL																				
RNAon (含 EB)	3130A	1.5 mL																				
RNArun (MOPS 电泳缓冲液), 10×	3150	100 mL																				
使用手册	60904sc	1 份																				
运输及保存	常温运输和保存，但 RNAon 长期需要-20℃保存，有效期一年。																					
自备试剂	EB (10 mg/mL)、DEPC 水。																					
使用方法	<p>注意：所有器皿（三角瓶，电泳槽，枪头等）均需去除 RNase。强烈推荐使 用本公司的超强无毒的固相 RNase 清除剂。</p> <p>一、配制琼脂糖甲醛变性胶 (1.2%, 100 mL)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 在三角瓶中加入下列成份： <table data-bbox="502 1272 863 1361"> <tr> <td>琼脂糖</td> <td>1.2 -1.5 g</td> </tr> <tr> <td>无菌水</td> <td>87 mL</td> </tr> </table> 2. 将琼脂糖加热融化后，加入 10 mL 10×RNArun (注意：10×RNArun 即 10×MOPS 电泳缓冲液，瓶子一旦打开，就很容易产生污染细菌，细菌大量繁殖后会释放大量 RNase，所以剩下的 10×RNArun 最好-20℃放置)。 3. 待胶冷却至 60℃ 左右，再加下列成份： <table data-bbox="502 1637 895 1727"> <tr> <td>甲醛</td> <td>3.0 mL</td> </tr> <tr> <td>自备 EB (10 mg/mL)</td> <td>2-4 μL</td> </tr> </table> <p>注意：由于本试剂盒提供的 RNAon 中含 EB，所以也可以不加 EB，但效果较差。如果使用自备的其他染料，如 SYBR Green I，则不能同时使用其他染料，包括含 EB 的 RNAon，用户需要另购不含 EB 的 RNAon)。</p> 4. 混匀后倒胶，凝固半小时后即可使用。 <p>二、配制电泳液</p> <ol style="list-style-type: none"> 5. 将 RNArun 用超纯水稀释十倍后即成电泳液，所需要的体积根据使用的 			琼脂糖	1.2 -1.5 g	无菌水	87 mL	甲醛	3.0 mL	自备 EB (10 mg/mL)	2-4 μL											
琼脂糖	1.2 -1.5 g																					
无菌水	87 mL																					
甲醛	3.0 mL																					
自备 EB (10 mg/mL)	2-4 μL																					

	<p>电泳槽决定。</p> <p>三、变性 RNA 样品</p> <p>6. 在一干净的离心管中将 5-10 uL RNA 和 15 uL RNAon 混合，85℃保温 10 分钟后冰浴 5-10 分钟，直接上样。注意：每一泳道至多可分析 30 μg RNA，通常用 10-20 μg 总 RNA 进行 Northern 杂交，可以检测高丰度 mRNA（占 mRNA 总量的 0.1%以上）；如待测 RNA 含量极微，每个泳道需加 0.5-3.0 μg poly(A)+ RNA。</p> <p>四、电泳</p> <p>7. 电泳时，将凝胶预电泳 5 min（电压为 5 V/cm）。随后加样品和分子量对照(如果有的话)，以 3-4 V/cm 的电压电泳，直至染料迁移至胶下游的 3/4 处。</p> <p>8. 电泳结束后，在 300 nm 紫外灯下拍照。</p> <p>五、后续处理</p> <p>9. 按标准方法进行 Northern 杂交等后续处理。</p>
<p>使用效果</p>	<div style="display: flex; align-items: center;">  <div style="margin-left: 10px;"> <p>图注：用本产品电泳兔全血总 RNA 效果图。10 uL 总 RNA 与 15 uL RNAon 混合后在甲醛琼脂糖变性胶上电泳 0.5 小时，直接在紫外灯下观察并照相。</p> </div> </div>
<p>疑难解答</p>	<p>Q: RNA 电泳为何最好使用 RNARUN，不要使用 DNA 电泳液 TAE 或 TBE?</p> <p>A: 一是因为 RNARUN 经过 RNase 处理，而一般实验室使用的 TAE 或 TBE 都没有经过 RNase 处理，故极有可能含 RNase，使样品 RNA 降解。即使要灭活 TAE 或 TBE 中的 RNase 也十分麻烦，因为 DEPC 不能处理含 Tirs 的缓冲液；二是 TEB 含有硼酸，硼酸是研究多羟基醇和糖的经典试剂，它能与 RNA 中含多羟基的核糖反应生成糖硼酸络合物，故电泳时 RNA 带型十分弥散。在一定浓度范围内，RNA 分子间还能通过硼酸形成分子间复合物，出现电泳时各种 RNA 以一条带的形式出现的现象。所以 RNA 电泳时要避免使用含硼酸的缓冲液。使用 TAE 效果虽然比 TBE 稍好，但文献报道 (BioTechniques 2000, 28:414-415)，它不能分离某些大小不同的 RNA 分子。</p>

Q: 上样孔里的红色荧光物一定是污染的基因组 DNA 吗?

A: 不是。用 TAE 或 TBE 电泳液和非变性胶电泳 RNA 时容易产生此现象, 天泽基因初步研究发现大部分红色荧光物是变性不充分的单链 RNA 通过碱基互补或通过硼酸络合 (如果使用 TBE 作电泳液的话) 形成的复合物, 加 RNase 处理后, 这些红色荧光物一般会消失。为避免此现象, 建议最好使用甲醛变性胶电泳。如果需要使用非变性胶, 也必须在上样前使 RNA 变性。使用天泽基因优化的上样/变性/染色三用溶液 RNAon 可以使 RNA 在非变性胶上电泳时也有较好分辨率。使用非变性胶时, 可以使用 TAE 或超快电泳液 SuperBuffer-2, 最好不要使用 TBE 缓冲液, 因为 TBE 中的硼酸能与 RNA 的多羟基形成复合物, RNA 很难形成锐利的条带。

Q: 如何确认和去处除污染的基因组 DNA?

A: 如果怀疑有 DNA 污染, 可以用 RNase 处理 RNA 样品, 然后再电泳。如果上样孔里的红色荧光物不消失, 则表示是基因组 DNA 污染。进一步确认可以使用 PCR 扩增法。去除污染的 DNA 可以使用非酶的 DNA 去除剂 DNA Erasol 或 RNase-free DNase, 由于 RNase-free DNase 一般都有残留的 RNase 污染, 所以必须严格按照厂家提供的使用手册进行操作。

Q: 为何我的植物 RNA 样品有 4-5 条带?

A: 部分植物组织有叶绿体等质体, 而叶绿体有核糖体, 所以也有其 rRNA。叶绿体的 rRNA 跟细胞浆里面核糖体的 rRNA 大小不同, 所以一般会多出两条带 (共 4 条 rRNA 条带)。小的 tRNA 和 5S rRNA 有时可见, 有时不可见, 取决于回收效率。

关联产品

RNAon、液相 RNase 清除剂、固相 RNase 清除剂、柱式 DNA 清除剂