

归
去
来
系
列

CAT#:3150-100

CAT#:3150-250

常温运输及保存

TIANDZ

RNA 电泳液, 10×

RNA_{RUN}

使用手册 V1.1

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

<p>产品及特点</p>	<p>本产品是预配的 10 X RNA 专用电泳液（即 10 X MOPS 电泳液），专门用于 RNA 电泳分析。</p> <p>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。</p> <p>2. 与 Northern 杂交等后续反应兼容。</p>																				
<p>规格及成分</p>		<p>成份</p>	<p>编号</p>	<p>100 mL 包装</p>	<p>250 mL 包装</p>																
		<p>RNA_{RUN}</p>	<p>3150</p>	<p>100 mL</p>	<p>250mL</p>																
		<p>使用手册</p>	<p>3150sc</p>	<p>1 份</p>	<p>1 份</p>																
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输及保存，有效期一年。</p>																				
<p>自备试剂</p>	<p>琼脂糖、37%甲醛、EB (10 mg/mL)、去离子甲酰胺。</p>																				
<p>使用方法</p>	<p>一、用本产品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="667 913 1043 1003" style="margin-left: 40px;"> <tr> <td>琼脂糖</td> <td>1.2 g</td> </tr> <tr> <td>DEPC 水</td> <td>87 mL</td> </tr> </table> 2. 将琼脂糖加热融化后，加入 10 mL 本产品。 3. 待胶冷却至 60°C 左右，再加下列成份： <table data-bbox="667 1122 1043 1211" style="margin-left: 40px;"> <tr> <td>37%甲醛</td> <td>3.0 mL</td> </tr> <tr> <td>EB (10 mg/mL)</td> <td>2-4 μL</td> </tr> </table> 4. 混匀后倒胶，凝固半小时后即可使用琼脂糖甲醛变性胶(需要量 RNA 变性上样液和 RNA 电泳液)。 <p>二、用本产品配制 RNA 变性上样液（以一个 RNA 样品为例）</p> <table data-bbox="667 1435 948 1626" style="margin-left: 40px;"> <tr> <td>本产品</td> <td>2.0 μL</td> </tr> <tr> <td>37%甲醛</td> <td>3.5 μL</td> </tr> <tr> <td>去离子甲酰胺</td> <td>10.0 μL</td> </tr> <tr> <td>RNA 样品</td> <td>4.5 μl</td> </tr> </table> <p>于 85°变性 10 min，冰浴冷却 5 分钟后加 RNA 变性上样液后直接上样。</p> <p>三、用本产品配制 RNA 电泳液</p> <p>将本产品用无 RNase 的水稀释十倍后即可直接用于 RNA 的琼脂糖甲醛变性胶使用。</p> <p>四、电泳条件</p> <p>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</p>					琼脂糖	1.2 g	DEPC 水	87 mL	37%甲醛	3.0 mL	EB (10 mg/mL)	2-4 μL	本产品	2.0 μL	37%甲醛	3.5 μL	去离子甲酰胺	10.0 μL	RNA 样品	4.5 μl
琼脂糖	1.2 g																				
DEPC 水	87 mL																				
37%甲醛	3.0 mL																				
EB (10 mg/mL)	2-4 μL																				
本产品	2.0 μL																				
37%甲醛	3.5 μL																				
去离子甲酰胺	10.0 μL																				
RNA 样品	4.5 μl																				

	<p>量对照(如果有的话),以 3-4 V/cm 的电压电泳,直至溴酚蓝迁移至胶下游的 3/4 处。电泳结束后,在紫外灯下拍照。</p> <p>【注意事项】</p> <p>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>溴酚蓝泳动速度相当于 300bp DNA,二甲苯青 FF 泳动速度相当于 4 Kp DNA。</p>
<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 经过去 RNase 处理,而一般实验室使用的 TAE 或 TBE 都没有经过去 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> <p>Q: 上样孔里的红色荧光物一定是污染的基因组 DNA 吗?</p> <p>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。</p> <p>Q: 如何确认和去处除污染的基因组 DNA?</p> <p>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</p>

	<p>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。</p>
<p>相关资料</p>	<p style="text-align: center;">RNA 完整性的电泳检测</p> <p>如果需要做 Northern 杂交, 强烈建议用户使用甲醛变性胶进行 RNA 电泳, 因为非变性胶不能分离所有的 RNA 分子 (BioTechniques, 28: 414, 2000)。如果是简单检测, 可以使用 TAE 或天泽基因的 SuperBuffer-2 DNA/RNA 两用快速电泳液, 但文献报道必须使用变性上样液 (BioTechniques, 9: 558, 1990)。普通 DNA 上样液不含变性剂, 也没经过去 RNase 处理, 所以最好不要使用。</p> <p>尤其需要注意的是不要使用 TBE 进行 RNA 电泳, 因为 TBE 所含硼酸是研究多糖的经典方法---硼酸络合法中的关键成分, 硼酸通过与 RNA 核糖中的羟基发生络合反应, 形成 RNA 分子内或 RNA 分子间的络合复合物, 使同样长度的 RNA 具有不同的泳动速度, 电泳条带弥散, 同时有大的 RNA 络合复合物迟留在加样孔中 (一般会误以为是基因组 DNA 污染)。RNA 分子内或 RNA 分子间的络合物的形成的多少和比例又与硼酸与 RNA 的数量比例有关, 而 RNA 样品中污染的其他多糖 (如植物中提取的 RNA) 也会参与此反应, 使硼酸对 RNA 电泳的影响更复杂, 所以 TBE 对 RNA 电泳的影响没有规律性和重复性。有的样品可以使用有的又不行, 最好是避免使用。</p> <p>由于动物细胞中 70-80%的 RNA 为 rRNA, 后者又由 28S (约 4800 nt), 18S (约 1900 nt)和 5.8S (约 120 nt)三种组成, 所以变性胶电泳后应该在 UV 下看见三条清晰的 rRNA 带。由于核酸长度与结合 EB 的数量成正比 (当然还与 RNA 的二级结构有关, 双链部分结合能力比单链部分强), 所以 28S rRNA 条带的荧光强度一般比 18S rRNA 条带的荧光强度高 1.5-2.3 倍。如果这两条 rRNA 带不清晰或比例小于此范围则表示 RNA 有降解 (因为大的 RNA 被酶降解的可能更大)。跟动物一样, 植物果实和种子的 RNA 一般有三条电泳带, 但植物叶片的 RNA 有四条或更多 rRNA 带, 多余的 RNA 来源于叶片中大量存在的叶绿体。</p>
<p>关联产品</p>	<p>RNAon、液相 RNase 清除剂、固相 RNase 清除剂、SuperBuffer-2、</p>