



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@vip.163.com](mailto:real-times@vip.163.com)

## 单链 RNA Marker (100-1000 nt)

Ver.760354-1.0

货号	名称	规格
RTM510	单链 RNA Marker (100-1000 nt)	20 次

### ● 产品组成:

货号	名称	规格	贮存
RTM510-01	单链 RNA Marker (100-1000 nt)	2×25 μl	-20°C
RTM510-02	2×RNA 上样缓冲液 (尿素变性胶, RNase-free)	1 ml	-20°C

### ● 产品简介:

单链 RNA Marker (100-1000 nt) 由不同长度体外转录的 6 条单链 RNA 分子混合而成, 长度分别为 100, 200, 300, 400, 600, 1000 nt, 适用于 RNA 常规凝胶电泳。样品保存在 TE 缓冲液中, 每条带浓度约为 500 ng/μl (配成即用型 RNA Marker 后, 每条带的浓度约为 250 ng/μl)。使用前与等体积 2×RNA 上样缓冲液混合后 70 度加热处理后即可上样电泳。

该 Marker 适用于非变性琼脂糖电泳, 甲醛变性琼脂糖电泳以及 TBE 尿素变性 PAGE 电泳, 电泳后可以使用核酸染料如 RealSafe Red (货号: GR002) 或 RealSafe All (货号: GR004) 染色, 均可以得到清晰的条带分离效果。

产品内附带 2×RNA 上样缓冲液 (尿素变性胶, RNase-free)。以每次上样 5 μl 计算, 混合好的单链 RNA Marker 可以使用大约 20 次。

### ● 贮存、效期及运输:

-20°C 贮存; 有效期 1 年; 湿冰运输。

### ● 注意事项:

1. ssRNA Marker 与普通 RNA 一样极易被 RNase 降解, 因此实验时请戴好手套、口罩, 实验的仪器及溶液应经 DEPC 处理, 凝胶及电泳缓冲液应现用现配。操作过程中须严格注意避免 RNase 污染, 并尽量减少 RNA Marker 暴露于空气中的时间, 取用后立即盖上盖子。
2. 建议单链 RNA Marker 现用现配, 因为混合有上样缓冲液的单链 RNA 稳定性不好。
3. 本产品用作单链 RNA 的分子量标准时, 不建议用于精确确定 RNA 长度, 因为 RNA 中不同核苷酸的组分也会对电泳迁移率产生一定的影响。

### ● 使用方法:

#### 一. 普通非变性琼脂糖凝胶电泳:

1.1 取 2.5  $\mu$ l ssRNA Marker 加入等体积 2 $\times$  RNA 上样缓冲液并混匀，然后 70 $^{\circ}$ C 加热 5 min，迅速转移至冰上冷却 3 min；样品需和 ssRNA Marker 进行相同的处理，可通过 RNase-free 水稀释样品并补加 2 $\times$  RNA 上样缓冲液调整体积；

1.2 配制 2% 或更高浓度的 TBE 琼脂糖凝胶并电泳；

1.3 将电泳完成的凝胶进行核酸核酸染料后染并拍照。

## 二. 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳：

2.1 配制 50 ml 2% 甲醛变性琼脂糖凝胶：称取 1 g 琼脂糖加入 36 ml RNase-free 水中，加热融化后，加入 5 ml 10 $\times$  MOPS Buffer（200 mM MOPS，50 mM 醋酸钠，10 mM EDTA，pH7.0），待溶液冷却至不烫手时（约 60 $^{\circ}$ C），加入 9 ml 37% 甲醛溶液（在通风橱中操作），轻柔混匀（透光观察无油状物）后倒胶，常温凝胶 30~60 min；

2.2 ssRNA Marker 和样品处理方式与普通非变性琼脂糖凝胶电泳一致；

2.3 将琼脂糖凝胶放入电泳槽，在电泳槽中加入 1 $\times$  MOPS Buffer 至没过凝胶，10 V/cm 条件下预电泳 10 min；

2.4 上样，5~10 V/cm 条件下电泳至溴酚蓝迁移至胶的 2/3 左右位置，电泳过程中应每隔 10~20 min 混匀电泳槽中的电泳液一次；

2.5 电泳结束后，将凝胶在 RNase-free 水中浸泡 15 min，除去凝胶中的甲醛；

2.6 核酸染料染色 20~30 min（避免染色过久导致 RNA 降解），拍照。

## 三. TBE-尿素 PAGE 电泳：

注：以下使用方法均以 8 $\times$ 10 cm 凝胶 厚 1.0 mm 示例，其他规格凝胶请适当调整。

### 3.1 凝胶制备：

3.1.1 可以选择 RNA 尿素 PAGE 电泳试剂盒（Cat: RTE4103）或按照以下程序制胶。

3.1.2 凝胶配制：将除催化剂以外不同体积的成分混合，漩涡搅拌至尿素彻底溶解后再加入 APS 和 TEMED。TBE-尿素 PAGE 凝胶配方表（总体积 7 ml，适用于厚度 1.0 mm 小板胶）

RNA 长度	最佳凝胶浓度	尿素(克)	40%PAA (29:1)	10 $\times$ TBE	RNase-free 水	10%APS	TEMED
100-1000 nt	5%	2.94 克	0.875 ml	0.7 ml	至体积 7 ml	70 $\mu$ l	7 $\mu$ l

3.1.3 在凝胶玻璃板中灌入凝胶溶液至前玻璃板顶端，插入梳子。

3.1.4 常温静置 30-60 分钟，等待凝胶聚合。

注：凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时，聚合较快；冬天气温低时，聚合时间会延长。可以根据环境温度的不同调节 APS 的加入量。

### 3.2 样品制备：

取适量体积单链 RNA Marker 样品与等体积的 2 $\times$ RNA 上样缓冲液（尿素变性胶，RNase-free）混合，70 $^{\circ}$ C 处理 5 分钟，冰浴制冷后待上样。待测样品也需要进行同样处理。

### 3.3 电泳：

3.3.1 电泳槽中加入 1 $\times$  TBE 缓冲液，用 1 $\times$  TBE 缓冲液彻底冲洗加样孔 2-3 次，去除残余的尿素。

3.3.2 上样：根据梳齿确定 Marker 上样量，一般是 10 齿 1 mm 厚梳子 Marker 上样 5  $\mu$ l，15 齿 1 mm 厚梳子上样 3  $\mu$ l。

3.3.3 连接电源线，打开电源开关，按照以下条件电泳。

	恒电压	起始电流	结束电流	电泳时间
推荐电压	200V	15-20 mA/板胶	10-15 mA/板胶	30+ min

注：恒压下电泳，电流是逐渐降低的，不用调节，记录电流变化数值。

3.3.4 等待上样缓冲液的溴酚蓝指示前沿到凝胶底部时终止电泳，取出凝胶进行后续实验。

注：在 5%TBE-尿素胶中，溴酚蓝指示前沿位置大约相当于~40 nt RNA 片段的位置。

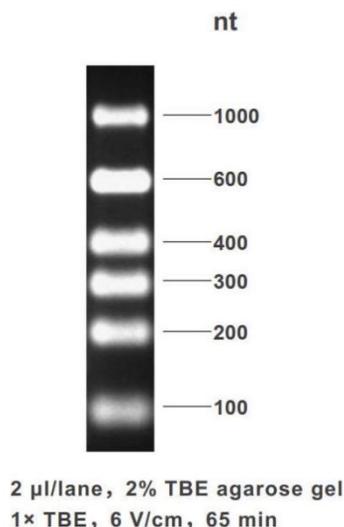
### 3.4 染色：

单链 RNA 推荐用 RealSafe Red（货号：GR002）或 RealSafe All（货号：GR004）染色，两种染料均可以得到清晰的条带分离效果。

注：其余染料如 GelRed，Goldview，EB 等染色效果不好。

### ● 实验示例：

一. 2%非变性琼脂糖凝胶电泳结果：



二. 5%TBE-尿素 PAGE 电泳结果：

