

RNA Marker RL6,000

Code No. 3587A

包装量：约 20 次量

浓度：约 500 ng/ μ l

保存：-80 $^{\circ}$ C（短期保存可放置于-20 $^{\circ}$ C）

制品说明：

RNA Marker RL6,000是由体外转录得到的7条高纯度的单链RNA片段组成的，其长度分别为6 kb、5 kb、4 kb、3 kb、2 kb、1 kb和0.5 kb，每微升本制品的RNA量约为500 ng。可用于RNA的琼脂糖变性凝胶电泳（甲醛或乙二醛）或者普通的RNA琼脂糖凝胶电泳等。每次取1 μ l电泳时可使用约20次。

制品内容：

RNA Marker RL6,000	20 μ l
6 \times Loading Buffer	100 μ l
DEPC 处理水	1 ml

使用方法：

A. 普通琼脂糖凝胶电泳时

1. 按下列组份配制 RNA Marker 样品。

RNA Marker RL6,000	1 μ l
6 \times Loading Buffer	2 μ l
DEPC 处理水	up to 10 μ l

2. 均匀混合后 65 $^{\circ}$ C 加热 10 分钟，迅速冷却至室温（最好用 PCR 仪）。
3. 使用高质量的琼脂糖，用 1 \times TAE Buffer 制备 3% 凝胶，制胶时凝胶中请加入溴乙锭（终浓度：1 μ g/ml）。
4. 将上述操作 2 配制的 Marker 样品加样后，在 1 \times TAE Buffer 中电泳。

B. 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳时

1. 按下列方法配制 5 \times MOPS-EDTA Buffer (0.1 M MOPS pH7.0, 5 mM EDTA, 10 mM NaOAc)。
 - ① 称量 20.9 g MOPS 置于 1 L 烧杯中。
 - ② 加量约 700 ml 的 DEPC 处理水，搅拌溶解。
 - ③ 使用 2 N NaOH 调节 pH 值至 7.0。
 - ④ 向上述溶液中加入 10 ml 的 1 M NaOAc (DEPC 处理水配制)。
 - ⑤ 溶液中加入 10 ml 的 0.5 M EDTA pH8.0 (DEPC 处理水配制)。
 - ⑥ 加入 DEPC 处理水将上述溶液定容至 1 L。
 - ⑦ 使用 0.45 μ m 滤膜过滤后室温避光保存。
2. 按下列组份配制 RNA Marker 样品。

RNA Marker RL6,000	4.0 μ l
甲醛	3.5 μ l
甲酰胺	4.0 μ l
5 \times MOPS-EDTA Buffer	4.0 μ l
6 \times Loading Buffer	3.0 μ l
DEPC 处理水	up to 20 μ l

3. 均匀混合后，70 $^{\circ}$ C 加热 5 分钟，迅速冷却至室温（最好用 PCR 仪）。
4. 甲醛变性琼脂糖凝胶配制方法如下：
加 3.0 g 高质量的琼脂糖到 93 ml DEPC 水中，煮沸直至完全溶解，再加入适量的 DEPC 水定容至 93 ml。溶液冷却至 60 $^{\circ}$ C 左右后，加入 30 ml 5 \times MOPS-EDTA Buffer 和 27 ml 37% 甲醛（在通风橱中操作），倒胶后至室温静置 1 小时。
5. 加样前将胶在 1 \times MOPS-EDTA Buffer 中 10 V/cm 条件下预电泳 10 分钟。
6. 混匀电泳槽中的 1 \times MOPS-EDTA Buffer（电泳液），加入上述操作 2 配制的 RNA Marker 样品后，10 V/cm（恒压）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 30 分钟混匀电泳槽中的电泳液一次。

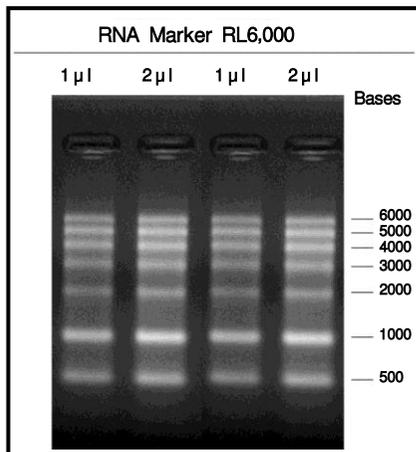
7. 电泳结束后，将凝胶在 DEPC 处理水中浸泡 15 分钟，除去凝胶中的甲醛。
8. 使用 DEPC 处理水制备的 EtBr (5 μ g/ml) 染色 2~3 分钟。用 DEPC 处理水脱色 30 分钟，再换水脱色 30 分钟后成像观察。如果背景偏高时可以进一步进行过夜凝胶脱色。
注意：甲醛凝胶用 EtBr 染色比较麻烦，即使 RNA 样品染上了明显的条带也会带来较高的背景。因此，应控制凝胶在染色剂中的浸泡时间小于 5 分钟，以降低背景。

使用注意：

1. RNA 极易分解，应严格防止核酸分解酶的混入。实验操作时应戴手套，实验的仪器及溶液应经 DEPC 处理。操作不严谨会造成 RNA 降解，导致 RNA Marker 中的条带不清晰或不完整。
2. RNA Marker 中的 RNA 为单链线性 RNA，因此，当进行体外转录得到的 RNA、或经提取得到的 mRNA 等单链线性 RNA 电泳时，可使用本制品作为分子量大小的参照标准，但对于 Total RNA，本 Marker 只能作为定性参照标准。
3. 若脱色后观察不到 Marker 的条带，可能是由于胶被染上了较高的背景，此时可以进行反复脱色或过夜和脱色后再进行观察。

使用例：

取本制品 1 μ l、2 μ l 进行 3% 的琼脂糖凝胶电泳（使用 1 \times TAE Buffer）时的结果如下。



注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 TAKARA BIO INC. 书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品，或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站 www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

r201702Da