



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

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

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

## 单链 RNA Marker (15-50 nt)

### ● 产品编号及规格:

货号	名称	规格	贮存
RTM505-01	单链 RNA Marker (15-50 nt)	60 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
RTM505-02	2 $\times$ RNA 上样缓冲液 (尿素变性胶, RNase-free)	1 ml	-20 $^{\circ}$ C

### ● 产品简介:

单链 RNA Marker 由不同长度的单链 RNA 分子混合而成, 5 条带的大小为 15, 20, 25, 30, 40, 50 nt。样品保存在 TE 缓冲液中, 每条带浓度约为 100 ng/ $\mu$ l (配成即用型 RNA Marker 后, 每条带的浓度约为 50 ng/ $\mu$ l)。使用前与等体积 2 $\times$ RNA 上样缓冲液混合即可上样电泳。该 Marker 适用于跑尿素变性胶, 电泳后可以使用核酸染料如 RealSafe Red (货号: GR002) 或 RealSafe All (货号: GR004) 均可以染色得到清晰的条带分离效果。

产品内附带 2 $\times$ RNA 上样缓冲液 (尿素变性胶, RNase-free)。以每次上样 5  $\mu$ l 计算, 混合好的单链 RNA Marker 可以使用大约 25 次。

### ● 保存条件和运输:

-20 $^{\circ}$ C 贮存, 有效期 24 个月; 湿冰运输。

### ● 使用方法:

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

#### 一. 凝胶制备:

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。

1.2. 分离胶配制: 根据表格一, 将不同体积的成分混合, 漩涡搅拌至尿素彻底溶解。

表一 TBE-尿素 PAGE 分离胶配方表 (总体积 5 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
200-1000 nt	5%	2.1 克	0.625 ml	0.5 ml	至体积 5 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
50-400 nt	8%	2.1 克	1 ml	0.5 ml	至体积 5 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
30-300 nt	10%	2.1 克	1.25 ml	0.5 ml	至体积 5 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
40-200 nt	12%	2.1 克	1.5 ml	0.5 ml	至体积 5 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
10-150 nt	15%	2.1 克	1.875 ml	0.5 ml	至体积 5 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l
6-100 nt	20%	2.1 克	2.5 ml	0.5 ml	至体积 5 ml	50 $\mu$ l	5 $\mu$ l

1.3 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液（对于 mini-gel，凝胶液加至约距前玻璃板顶端 1.5 cm 或距梳齿约 0.5 cm 即可），然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-5 cm 的水层，使凝胶表面保持平整。

1.4 静置 10-20 分钟，待分离胶和水层之间出现一个清晰的界面后，说明凝胶已聚合。

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。

1.5 去除覆盖在分离胶上的水层；按照表二将不同体积成分在一个小烧杯中混合；最后加入 10% 过硫酸铵和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。

表二 TBE-尿素 PAGE 4%浓缩配方表 (总体积 2 ml, 适用于 1.0mm 厚度胶)

各组份体积 (ml)					
尿素	40%PAA (29:1)	10×TBE	RNase-free 水	10%APS	TEMED
0.84 克	0.2 ml	0.2 ml	补至体积 2 ml	20 μl	2 μl

1.6 将浓缩胶溶液加至分离胶的上面，直至凝胶溶液到达前玻璃板的顶端；将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。

1.7 常温静置 30-60 分钟，等待浓缩胶聚合。

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。

## 二. 样品制备:

2.1 取适量体积单链 RNA Marker 样品与等体积的 2×RNA 上样缓冲液 (尿素变性胶, RNase-free) 混合，70℃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。

## 三. 电泳:

3.1. 预电泳 (可选)：电泳槽内外加入适量 1×TBE 缓冲液稳压 200V 预电泳 30 分钟。电泳结束后，用 1×TBE 缓冲液彻底冲洗加样孔 2-3 次，去除残余的尿素。

3.2. 上样：根据梳齿确定 Marker 上样量，一般是 10 齿 1mm 厚梳子 Marker 上样 5 μl，15 齿 1mm 厚梳子上样 3 μl。

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	适用条件
推荐电压	200V	15-20 mA/板胶	10-15 mA/板胶	60+ min	最佳电压，最优的分辨率

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。

变性胶浓度	溴酚蓝	二甲苯菁
5%	35 nt	130 nt
8%	19 nt	75 nt
10%	15 nt	55 nt
15%	10 nt	52 nt
20%	5 nt	35 nt

## 四. 染色:

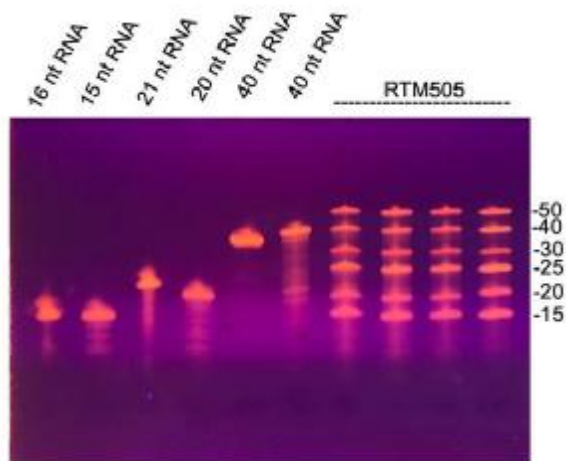
单链 RNA 推荐用 RealSafe Red（货号：GR002）或 RealSafe All（货号：GR004）染色，两种染料均可以得到清晰的条带分离效果。

注：其余染料如 GelRed，Goldview，EB 等染色效果不好。

### ● 注意事项：

1. 单链 RNA Marker 产品适用于变性 PAGE 垂直电泳，不适用于水平琼脂糖凝胶电泳。
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. ssRNA 实验样品序列和实验样品上样量的不同，显示的片段大小与 Marker 可能会有微弱的差别。

### ● 实验示例：



20%T3.3C TBE-Urea PAGE  
电泳条件：1×TBE 恒压200V 16-8mA 75min  
染色：Realsafe Red 后染 30min  
上样量：16-40 nt RNA 上样量1 μg  
RTM505：上样量5 μl