

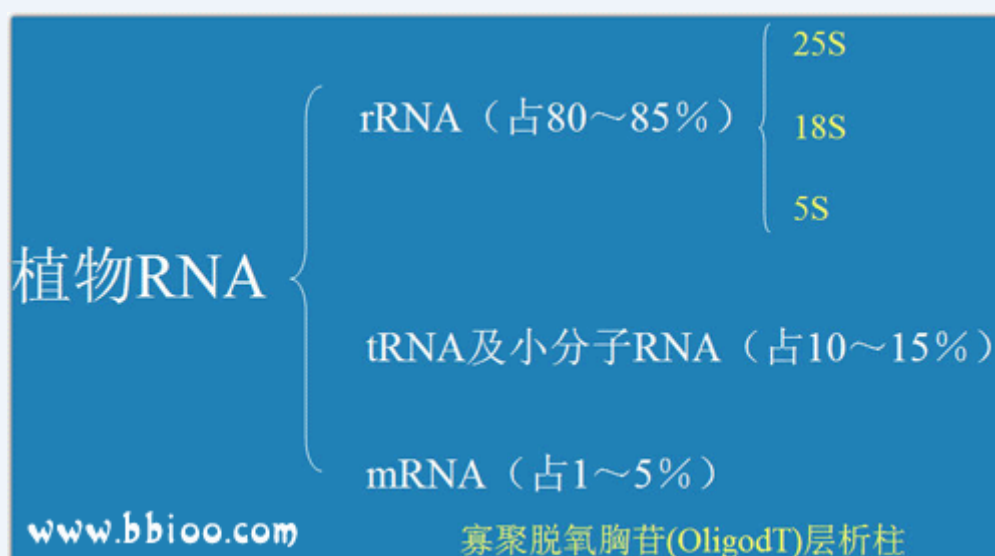
# RNA 的琼脂糖凝胶电泳实验原理和步骤

## 一、实验目的

掌握植物总 RNA 非变性胶电泳的原理和方法。

## 二、实验原理

RNA 电泳可以在变性及非变性两种条件下进行。非变性电泳使用 1.0%--1.4%的凝胶，不同的 RNA 条带也能分开，但无法判断其分子量。只有在完全变性的条件下，RNA 的泳动率才与分子量的对数呈线性关系。因此要测定 RNA 分子量时，一定要用变性凝胶。在需快速检测所提总 RNA 样品完整性时，配制普通的 1%琼脂糖凝胶即可。



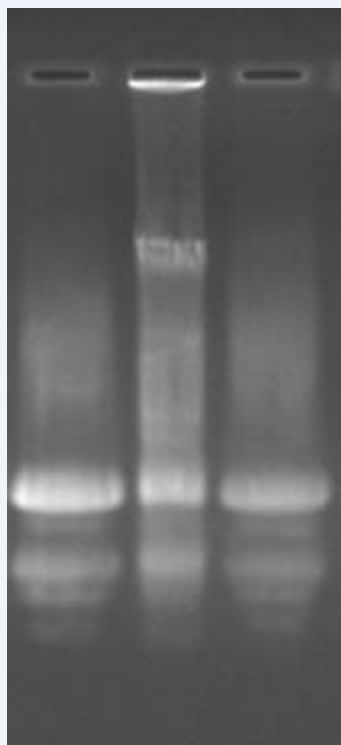
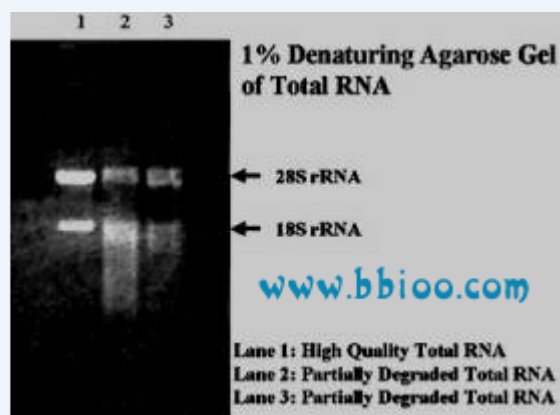
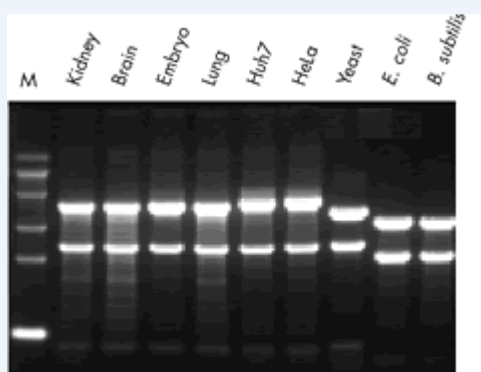
## 三、实验材料、器具及药品

蘑菇的总 RNA 溶液。电泳仪，电泳槽，电子天平，移液器，枪头，微波炉，紫外透射检测仪等。琼脂糖，1XTAE 电泳缓冲液，0.5μg/ml 溴化乙锭 (EB) 10X 载样缓冲液。

## 四、实验步骤

- (1) 用 1×TAE 电泳缓冲液制作琼脂糖凝胶，加 1×TAE 电泳缓冲液至液面覆盖凝胶。
- (2) 在超净工作台上，用移液器吸取总 RNA 样品 4μl 于封口膜上。在实验台上再加入 5μl 1×TAE 电泳缓冲液及 1μl 的 10X 载样缓冲液，混匀后，小心加入点样孔。

(3) 打开电源开关, 调节电压至 100V, 使 RNA 由负极向正极电泳, 约 30min 后将凝胶放入 EB 染液中染色 5min, 用清水稍微漂洗。在紫外透射检测仪上观察 RNA 电泳结果。



### RNA 的变性琼脂糖凝胶检测

#### 试剂:

(1) MOPS 缓冲液 (10<sup>\*</sup>): 0.4mol/L 吗啉代丙烷磺酸 (MOPS) (Ph7.0), 0.1mol/L NaAc, 10mol/L EDTA。

(2) 上样染料: 50%甘油, 1mmol/L EDTA, 0.4%溴酚蓝, 0.4%二甲苯蓝。

(3) 甲醛。

(4) 去离子甲酰胺。v 电泳槽清洗：去污剂洗干净（一般浸泡过夜）——水冲洗——乙醇干燥——3% $H_2O_2$  灌满——室温放置 10 分钟——0.1%DEPC 水冲洗。

#### 操作：

(1) 将制胶用具用 70%乙醇冲洗一遍，晾干备用。

(2) 配制琼脂糖凝胶。

①称取 0.5g 琼脂糖，置干净的 100ml 锥形瓶中，加入 40ml 蒸馏水，微波炉内加热使琼脂糖彻底溶化均匀。

②待胶凉至 60--70 °C，依次向其中加入 9ml 甲醛、5ml 10X MOPS 缓冲液和 0.5ul 溴化乙锭，混合均匀。

③灌制琼脂糖凝胶。

(3) 样品准备：

① 取 DEPC 处理过的 500ul 小离心管，依次加入如下试剂： 10x MOPS 缓冲液 2ul，甲醛 3.5ul,甲酰胺（去离子）10ul，RNA 样品 4.5ul,混匀。

② 将离心管置于 60°C水浴中保 10 分钟，再置冰上 2 分钟。

③ 向管中加入 3ul 上样染料，混匀。

(4) 上样。

(5) 电泳：电泳槽内加入 1XMOPS 缓冲液，于 7.5V/ml 的电压下电泳。

(6) 电泳结束后，在紫外灯下检查结果。