

产品名称

circRNA 分离预制胶试剂盒

产品规格

10T/盒

预期用途

本试剂盒提供的预制胶主要用于人工合成 circRNA 的分析鉴定。

产品概述

人工合成 circRNA 需要经历多个步骤，在此过程中除了目标 circRNA 之外，通常会产生诸多其他产物，例如：线性前体 RNA (Precursor RNA)、掉落的内含子 (Intron)、Nicked RNA 等。目前分离鉴定的手段主要有两方面，液相色谱和电泳。虽然色谱技术对于 circRNA 的分离相对比较精准，但有很多限制因素，如体系、色谱柱、流动相等条件的筛选使得液相无法实现快速、高效的分离。相比之下电泳技术则依靠简便、高效的特点成为鉴定 circRNA 的首选。

基于此，我们研发出专为 circRNA 分析鉴定的预制胶。这款预制胶为垂直电泳系统打造，完美适配大多数科研实验室现有的设备，无需额外购置或改装仪器，大大降低了实验成本和操作难度。整套试剂盒包含专用于 circRNA 分离的预制胶，优化后的电泳缓冲液和上样缓冲液及针对 circRNA 电泳开发的染料。

试剂盒组分

组分	货号	规格	储存温度
circRNA 分离预制胶 (10 孔)	BP-S03-AS-01	10 块	2-8℃
2×CR 上样缓冲液	BP-S03-AS-02	0.5mL	2-8℃
10×CR 电泳缓冲液	BP-S03-AS-03	125mL×2	室温
CR 染料 (10000×)	BP-S03-AS-04	32μL	-20±5℃

注：本试剂盒不可与其他商品化试剂盒混用。

自备材料

试剂：无酶水。

设备：垂直电泳槽、凝胶成像系统等电泳设备。

储存条件及有效期

本试剂盒有效期为 6 个月，其中各组分储存温度不同，需分开存放。

实验方法

1. 样品准备

待测 circRNA 样品加入等量 2×CR 上样缓冲液混匀，70℃ 变性 5min，冰浴 3min。circRNA 分离预制胶分辨率较高，每孔只需上样 150ng 左右即可。

2. 预制胶、电泳液的准备

a.电泳液: 将试剂盒提供的 $10\times$ CR 电泳缓冲液用无酶水稀释至 $1\times$ CR 电泳缓冲液后使用, 例如 100mL $10\times$ CR 电泳缓冲液中加入 900mL 无酶水即可稀释成 $1\times$ CR 电泳缓冲液。

b.预制胶: 将 circRNA 分离预制胶从包装袋中取出, 固定在电泳槽中, 内槽加满 $1\times$ CR 电泳缓冲液, 外槽根据电泳槽电泳需求加入相应的电泳缓冲液即可。随后平稳、缓慢地拔出梳子。为了保证电泳效果, 每次电泳建议只跑一块胶。跑胶后的电泳缓冲液可重复使用至少 5 次。每次电泳时内槽加新的电泳缓冲液, 外槽可使用回收的电泳缓冲液。

3. 预电泳

12-16W (控制电泳功率) 预电泳 10min, 电压需要 300V 以上。

4. 上样

预电泳结束后打开电泳槽上盖, 每一孔在加样前都要用 200 μ L 吸头吸取电泳液轻轻吹打加样孔 (每次加样时, 先吹孔再加样), 将加样孔冲洗干净, 去除气泡和残留的储存缓冲液, 保证电泳效果。再用 10 μ L 吸头吸取制备好的 circRNA 样品, 上样量 150ng、上样体积控制在 5-10 μ L 以内, 将枪头轻轻插入到上样孔中即可上样, 避免戳破凝胶。

5. 电泳

12-16W (控制电泳功率) 电泳, 电压需要 300V 以上, 指示带迁移至分离胶的底部后停止电泳, 一般电泳 15min 即可。

6. 染色液准备

染色液需现配现用。将试剂盒提供的 CR 染料 ($10000\times$) 用 $1\times$ CR 电泳缓冲液稀释至 $1\times$, 例如 30mL $1\times$ CR 电泳缓冲液加入 3 μ L CR 染料, 上下颠倒混匀后使用。

7. 取胶

取出玻璃胶板, 用刮板轻轻撬开玻璃胶板 (可在缓慢水流下操作), 将凝胶取出。

8. 染色

将凝胶放至洁净容器内, 用无酶水清洗, 加入适量已添加染料的染色液, 确保染色液完全覆盖凝胶。摇床 (30-50rpm) 染色至少 1h 后可使用凝胶成像设备观察样品的分离结果; 如果条带亮度不足, 可适当延长染色时间后再观察。

注意事项

1. 在使用前, 请检查试剂盒有效期与包装。如果超出有效期内或包装破损, 请不要用于实验操作。试剂使用前应充分摇匀, 试剂在有效期内使用后, 剩余试剂要参照说明书进行保存, 避免反复冻融。 $10\times$ CR 电泳缓冲液可能会有沉淀, 配制 $1\times$ CR 电泳缓冲液时避开沉淀取用即可, 不影响电泳效果。
2. 电泳时要保证恒定功率在 12-16W 内, 一般电压需要 300V 以上。
3. 为了保证电泳效果, 每次加样前要用 200 μ L 移液枪吸取电泳液轻轻吹打加样孔。
4. 在电泳前请用核酸清除剂充分清洗电泳槽, 避免核酸酶污染 RNA 样品。
5. 本预制胶请勿储存在 0°C 以下。
6. 为了您的安全和健康, 操作中须佩戴一次性手套和实验室规定的防护物品, 本产品仅供科学研究使用。