

### 转移至硝酸纤维素滤膜前后进行的 R N A 染色

当 R N A 自琼糖凝胶转移至硝酸纤维素滤膜之前, 溴化乙锭的染色时间一般不宜过长, 这是因为被染料饱和的核酸分子, 其转移效率有所降低。然而, 用溴化乙锭作短暂染色, 既不至于对核酸转移过程产生可以察觉的掬作用, 又独具同时检测凝胶和滤膜上的 R N A 的优点。

#### 1. 方法 I

1) 电泳结束后, 含乙二醛—D M S O 的凝胶应浸入含溴化乙锭 (0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 的 10mmol/L 磷酸钠 (pH7.0) 溶液。甲醛凝胶需用无 R N A 酶的水淋洗, 用 20x S S C 溶液浸泡, 随后用含溴化乙锭 (0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 的 20x S S C 溶液染色。

2) 于室温染色 5—10 分钟, 在紫外灯下观察, 照像。

3) 按前所述方法, 将凝胶中的 R N A 转移至硝酸纤维素滤膜, 转移后能常在紫外光下也可看出已染色的 R N A 条带。

这种方法仅适用于每一泳道均含有相当大量 (如 5  $\mu\text{g}$  以上) 的 R N A 的情况。

#### 2. 方法 II

硝酸纤维素滤膜上的 R N A 也可以用下述方法染色: 从干烤后的硝酸纤维素滤膜上剪下所需的条带进行染色, 也可以用经过杂交并经 X 光片曝光后的整张滤膜进行染色 (A. E fstratiadis, 未了表材料)。

1) 将干燥的滤膜浸入 5% 冰乙酸中, 于室温浸泡 15 分钟。

2) 再将滤膜转移至 0.5mol/L 乙酸钠 (pH5.2)、0.04% 亚甲蓝溶液中, 于室温浸泡 5—10 分钟。

3) 用水淋洗滤膜 5—10 分钟后, 可见 R N A 分子量标准参照物带型锐利而 poly(A)+mRNA 为一模糊带型, 由许多长度范围从 500 碱基以下至 5 kb 以上的各种 m R N A 共同组成, m R N A 的平均长度约为 2 kb。