

【北京艾德莱】判断RNA是否降解知识 RNA降解判断

产品名称	【北京艾德莱】判断RNA是否降解知识 RNA降解判断
公司名称	北京艾德莱生物科技有限公司
价格	.00/盒
规格参数	
公司地址	北京市海淀区上地启迪科技园紫成创业园C126-1 30室
联系电话	86-01082796972 13691030050

产品详情

【北京艾德莱】判断RNA是否降解知识 1.28s上面的条带看得见的，主要是剪切前的前体RNA，就是成熟前的前体RNA，主要包括不均一核RNA（未剪切成熟的mRNA前体）和主要是28s，18s,5s的前体转录子。前体存在于细胞核（然后加工剪切成28s，18s，5s和成熟的小片段的mRNA。这些成熟的RNA进入到胞浆。所以，真正我们要用的，有功能的mRNA，是存在于胞浆中的成熟的mRNA，而不是存在于细胞核中的剪切前的前体mRNA，前体mRNA是没有翻译功能的（蛋白质翻译机器，核单倍体是位于胞浆中的）所以，我们真正要测表达水平是胞浆中的成熟的mRNA。所以，很多公司，包括世界核酸分离第一品牌，还特意研发产品，来选择性的来仅仅裂解液细胞膜，而不是细胞核膜，这样没有用的细胞核里面的DNA释放就少，DNA污染也少。而且，没有用处的剪切前的前体不成熟的RNA就可以尽量少提取出来。真正成熟的mRNA，主要集中在28s和18s之间的荧光背景（一般每条基因mRNA量很少，所以，整体一般看不到明显带，只表现为28s和18s之间的连续的涂抹带smear，就是一点染色荧光背景）所以，是否看到28s上面的带，完全不是判断RNA质量好坏的标准。道理就在这里，理论上我们完全不裂解细胞核，我们就完全提取不到细胞核里面的不均一的前体mRNA，和28s，18s，5s前体RNA。但是这实际上才是提取RNA最要追求的地方。我们需要的是测定成熟的mRNA的表达量，这才是和下游蛋白翻译直接相关的量。不是通过前体的多少和表达来做实验的，北京艾德莱 20:20:16 所以，真正的判断RNA好坏的标准是2个：1.28s，18s是否清晰，尤其是28s亮度比18s亮度越大越好，如果28s只是比18s稍高，或者亮度差不多，即使条带清晰，也已经提示部分降解了，因为降解，总是从大片段开始降解，从28s降解到18s最后降解到5s。这样降解过程中，28s减少，18s增多，28s：18s比例就会下降。如果最容易降解的28s都没有降解，（从比例推断），那么更难降解的mRNA，就推理出肯定是完好的了。当然即使有部分降解的mRNA，甚至降解一大半，也是可以做PCR扩增的，但是定量就无法比较了。虽然也不会影响PCR扩增，但是这样做荧光定量就很不靠谱了，比如一个降解50%，一个降解了20%，都能扩出来，但是这样实际上就无法对比，精确定量了。另外一个辅助标准：离心柱型的硅胶膜，一般不吸附小片段的5s片段，这样，提取出来的5s应该非常淡，更详细请见我的blog：http://blog.sina.com.cn/s/blog_7964de9f0100uwu7.html