

## Окрашивание РНК в гелях красителем ssGreen®

ssGreen® является одним из самых чувствительных красителей для постэлектрофоретического окрашивания РНК и одноцепочечной ДНК (ssDNA) в агарозных или полиакриламидных гелях. Квантовый выход флуоресценции комплекса ssGreen/РНК более чем в 7 раз выше, чем у комплекса бромистый этидий/РНК. Хотя ssGreen не является селективным для окрашивания РНК, краситель демонстрирует примерно в 1,5 раза больший квантовый выход при связывании с РНК, чем с двухцепочечной ДНК, что делает его уникальным среди всех красителей нуклеиновых кислот.

Окрашивание ssGreen совместимо с денатурирующими гелями. На агарозно-формальдегидных и полиакриламидно-мочевинных гелях чувствительность ssGreen немного снижена, но всё же превосходит чувствительность бромистого этидия. Окрашивание агарозных/формальдегидных гелей с помощью ssGreen не мешает переносу РНК на фильтры или последующей гибридизации в Нозерн-блоттинге, если в буферы прегибридации и гибридизации включен 0,1–0,3% SDS.

Окрашивание гелей с помощью ssGreen имеет меньше этапов, чем окрашивание с помощью бромистого этидия. Поскольку флуоресценция комплексов ssGreen/РНК не гасится формальдегидом или мочевиной, нет необходимости вымывать эти денатуранты из гелей перед окрашиванием. Кроме того, краситель ssGreen имеет низкую собственную флуоресценцию, что позволяет просматривать и фотографировать гель без предварительного удаления несвязанного красителя.

## Обращение и утилизация

Перед открытием каждую пробирку следует нагреть до комнатной температуры, а затем кратковременно центрифугировать в микроцентрифуге, чтобы раствор ssGreen стек на дно пробирки.

В настоящее время нет данных о мутагенности или токсичности ssGreen. Поскольку этот реагент связывается с нуклеиновыми кислотами, его следует рассматривать как потенциальный мутаген и обращаться с ним с соответствующей осторожностью. Работа со стоковым раствором в ДМСО требует особого внимания, так как ДМСО может усиливать всасывание органических молекул в ткани. Мы рекомендуем надевать двойные перчатки при работе со стоковым раствором. Как и все красители нуклеиновых кислот, растворы ssGreen следует утилизировать в соответствии с местными рекомендациями.

## Окрашивание РНК

1. Проведите электрофорез на неденатурирующих гелях или денатурирующих полиакриламидных/мочевинных или агарозно-формальдегидных гелях в соответствии со стандартными методиками.
2. Разбавьте стоковый раствор ssGreen. Для окрашивания 20 мл агарозного геля будет достаточно 35–50 мл раствора красителя. Для неденатурирующих гелей и денатурирующих гелей полиакриламида/мочевины используйте разведение 1:10 000 в 1× TBE. Для денатурирующих гелей агарозы/формальдегида используйте разведение 1:5 000 в 1× TBE. Тщательно перемешайте.

*Важно!* Окрашивание красителем ssGreen чувствительно к рН. Для достижения наилучших результатов рН окрашивающего раствора должен быть в пределах от 7,5 до 8,0 (предпочтительно рН 8,0) при температуре,

используемой для окрашивания.

3. Поместите гель в пластиковый лоток (крышку коробки с наконечниками или бытовой контейнер для хранения).  
*Важно!* Не используйте стеклянный контейнер, так как краситель может адсорбироваться на его стенках, что приведёт к плохому окрашиванию геля.
4. Добавьте достаточное количество раствора красителя, чтобы полностью покрыть гель.
5. Накройте гель и окрашивающий раствор алюминиевой фольгой или поместите их в тёмное место для защиты от света.
6. Осторожно помешивайте лоток с гелем при комнатной температуре. Оптимальное время окрашивания обычно составляет 20–40 минут для агарозных гелей и 10–40 минут для полиакриламидных гелей. Время окрашивания может варьироваться в зависимости от толщины геля и процентного содержания агарозы или полиакриламида.
7. Окрашивающий раствор можно хранить при температуре 4°C в темноте и использовать повторно три–четыре раза.

## Окрашивание ДНК

ssGreen не является селективным к красителю РНК и может использоваться для окрашивания ДНК в гелях. Используйте наш [протокол для окрашивания ДНК в гелях с dsGreen®](#) для окрашивания ДНК с помощью ssGreen.

Обратите внимание, что добавление красителя ssGreen непосредственно в расплавленную агарозу в соотношении 1:10 000 изменяет подвижность фрагментов; поэтому для оптимального разделения фрагментов в геле необходимо увеличить время электрофореза в 1,5–2 раза.

## Просмотр и фотографирование гелей

ssGreen максимально возбуждается при 483 нм, но имеет вторичный пик возбуждения с центром около 254 нм (не показано). Пик эмиссии комплекса ssGreen/РНК находится при 518 нм.

Просмотр или документирование геля осуществляется, используя зелёный/жёлтый фильтр. Для визуализации гелей, окрашенных ssGreen, можно использовать трансиллюминаторы с синим светом или УФ-ртутные лампы низкого давления (254 нм). Также можно использовать ртутную лампу высокого давления (365 нм), но этот источник света даёт несколько менее эффективное возбуждение.

Окрашенные гели имеют незначительную фоновую флуоресценцию, что позволяет при длительной экспозиции (до 2 минут) обнаруживать даже небольшие количества РНК.