



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// [www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

## 10bp dsRNA ladder

货号	名称	规格
RTM504	10bp dsRNA ladder	25 次

### ● 产品组成:

货号	名称	规格
RTM504-01	10bp dsRNA ladder	100 $\mu$ l
RTM504-02	5 $\times$ RNA 上样缓冲液	1 ml

### ● 产品简介:

10bp dsRNA ladder 由长度 20 bp 至 1,000 bp 的 10 条 dsRNA (双链 RNA) 片段组成, 片段大小为 20, 30, 40, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 bp, 其中 100 bp 的双链 RNA 片段为增强带, 显示亮带, 可作为参照。

本产品为双链 RNA Marker, 适用于非变性的 PAGE 电泳, 不适用于变性 PAGE 电泳 (尿素), 也不建议用于琼脂糖电泳。可以用于制备 siRNA (小干扰 RNA, Small interfering RNA) 时标记双链 RNA 片段大小。

按照每次上样 5  $\mu$ l 计算, 该产品配制好即用型产品可以使用约 25 次。

#### 注意:

1. 由于 RNA 极易污染后降解, 实验操作时采取必要措施防止 RNase 污染, 如佩戴一次性手套, 使用专用 RNase-free 吸头及离心管等; 不要在同一区域进行涉及 RNase 的实验, 如质粒提取等。
2. 由于 dsRNA 序列不同, 显示的片段长度会略有不同; 使用的 siRNA 片段中含有 DNA 片段时, 片段大小会略有差异。

### ● 储存条件:

-20 $^{\circ}$ C 贮存, 有效期一年。

### ● 使用方法:

#### 一、即用型 10bp dsRNA ladder 配制方法:

	即用型 10bp dsRNA ladder 配制量			
	5 $\mu$ l	10 $\mu$ l	15 $\mu$ l	20 $\mu$ l
10bp dsRNA ladder	4 $\mu$ l	8 $\mu$ l	12 $\mu$ l	16 $\mu$ l
5 $\times$ RNA 上样缓冲液	1 $\mu$ l	2 $\mu$ l	3 $\mu$ l	4 $\mu$ l

**注: 即用型 dsRNA Marker 建议现用现配, 不建议配制后保存, 保存后会导致电泳后条带模糊。**

#### 二、TBE-PAGE 凝胶制备:

##### 2.1 制备凝胶步骤:

2.1.1 参照凝胶模具说明书, 装配好凝胶模具。

2.1.2 按照表一将不同体积的成分在小烧杯或试管中混合; 最后加入 10%APS 和 TEMED, 轻轻搅拌使其混匀, 避免产生气泡。

**注: 10 bp dsRNA ladder 适用于配制 15%TBE-PAGE 胶。**

2.1.3 在凝胶模具中灌入适量分离胶溶液 (对于 mini-gel, 凝胶液加至约距前玻璃板顶端 1.5 cm 或距梳齿约 0.5 cm 即可), 然后在分离胶溶液上轻轻覆盖一层 1-2 cm 的无水乙醇, 使凝胶表面保持平整。

2.1.4 静置 10-20 分钟, 待分离胶和乙醇层之间出现一个清晰的界面后, 说明凝胶已聚合。

表一 TBE-PAGE 分离胶配方表 (总体积 5 ml, 适用于 1mm 厚度小板胶)

最佳 dsRNA 分离范围	凝胶浓度	各组份体积 (ml)				
		灭菌水	30%PAA(29:1)	5×TBE	10%APS	TEMED
70-450 bp	6%	3	1.0	1	0.05	0.005
60-460 bp	8%	2.66	1.34	1	0.05	0.005
50-300 bp	10%	2.33	1.67	1	0.05	0.005
40-200 bp	12%	2	2.0	1	0.05	0.005
25-150 bp	15%	1.5	2.5	1	0.05	0.005
5-100 bp	20%	0.66	3.34	1	0.05	0.005

2.1.5 去除覆盖在分离胶上的乙醇；按照表二将不同体积成分在一个小烧杯或试管中混合；最后加入 10%过硫酸铵和 TEMED，轻轻搅拌使其混匀，避免产生气泡。

表二 TBE-PAGE 4%浓缩胶配方表 (总体积 1.5 ml, 适用于 1mm 厚度小板胶)

凝胶浓度	各组份体积 (ml) 总体积 1.5 ml				
	灭菌水	30%PAA(29:1)	5×TBE	10%APS	TEMED
4%	1	0.2	0.3	0.02	0.002

2.1.6 将浓缩胶溶液加至分离胶的上面，直至凝胶溶液到达前玻璃板的顶端；将梳子插入凝胶内，避免产生气泡。

2.1.7 静置 30-60 分钟，等待浓缩胶聚合。

注：凝胶的聚合时间与环境温度有关。夏天温度较高时，聚合较快；冬天气温低时，聚合时间会延长。可以根据环境温度的不同调节 APS 的加入量。

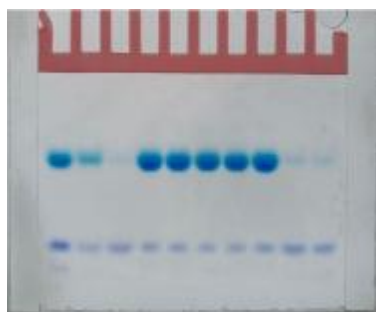
## 2.2 电泳：

2.2.1 将凝胶板固定在电泳装置上，往上槽和下槽中加入 1×TBE 电泳液，1 ml 吸头冲洗加样孔 1-2 次。

2.2.2 取待测样品，加入相应体积 5×RNA 上样缓冲液，如 8 μl 样品加 2 μl 上样缓冲液，短暂离心后取 5-10 μl 上样。即用型 10 bp dsRNA ladder 1 mm 厚 10 齿梳子上样 5 μl，其余梳齿和厚度凝胶适量调整上样量。

2.2.3 连接电源线，打开电源开关。150 V 稳压电泳，至溴酚蓝指示前沿距离玻璃下沿 2 cm 时结束电泳（参见下图）。

TBE-PAGE 电泳			
恒电压	起始电流	结束电流	电泳时间
150 V	15-25 mA/板胶	8-15 mA/板胶	50+min



### 15%T3.3C TBE-PAGE

溴酚蓝前沿大小约 15bp dsRNA，二甲苯菁大小约 60bp dsRNA。

### 3、染色：

3.3.1 漂洗：玻璃板上拆下凝胶后，适量蒸馏水漂洗 3-5 分钟。

3.3.2 染色液配制：

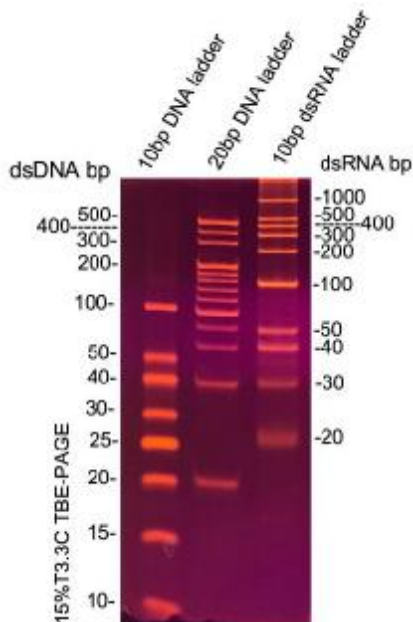
TBE-PAGE 胶可以使用 EB 或 RealSafe 核酸染料后染染色，以下程序用 RealSafe Red 核酸染料（货号：GR002）进行染色。即用型染色液配制：

	即用型 RealSafe 核酸染色液
	100 ml
1×TBE	100 ml
RealSafe Red 核酸染料	20 $\mu$ l

3.3.3 染色和观察：

凝胶浸泡于即用型染色液中，常温避光摇床 40-60 rpm 染色 30 分钟。紫外光下观察。

### 三、实验示例：



#### 15%TBE-PAGE 电泳

左 1：10bp DNA ladder（货号：RTM443） 5 $\mu$ l

左 2：20bp DNA ladder（货号：RTM441） 5 $\mu$ l

左 3：即用型 10 bp dsRNA ladder 5 $\mu$ l

（4  $\mu$ l 10 bp dsRNA ladder 加 1  $\mu$ l 5×RNA 上样缓冲液）

凝胶长度：8 cm

电泳条件：稳压 150 V 起始电流 20 mA，终止电流 10 mA

电泳缓冲液：1×TBE

电泳时间：50 分钟

染色：RealSafe Red 核酸染料后染 30 分钟