

RNase R

产品信息

品名	货号	规格	价格	包装
RNase R	GxRNA200	500u	700元	500u(20U/ul), 2500u(20U/ul)
	GxRNA201	2500u	3000元	

产品简介

RNase R (Ribonuclease R)是由晶欣生物自主研发纯化获得的一种来源于大肠杆菌的Mg²⁺依赖的3'→5'核糖核酸外切酶。RNase R能消化线性RNA (Linear RNA),但不能消化环状RNA (Circular RNA, circRNA)、套索RNA (Lariat RNA)、3'突出末端少于7个核苷酸的双链RNA以及具有复杂二级结构的tRNA、5S RNA等[1, 2]。

RNase R常用于消化除去线性RNA,以获得环状RNA(也称环形RNA)、内含子套索(Intron lariat)等非线性RNA。RNase R为环状RNA的研究提供了极大的便利,也可以给研究RNA剪接(RNA splicing)带来很大的便利。套索RNA是在pre-mRNA的剪接内含子过程中产生的,经RNase R消化,可以从总RNA中被分离出来而用于后续研究。

晶欣生物生产的RNase R不能消化环状RNA但可以消化线性RNA的效果请参考图1。

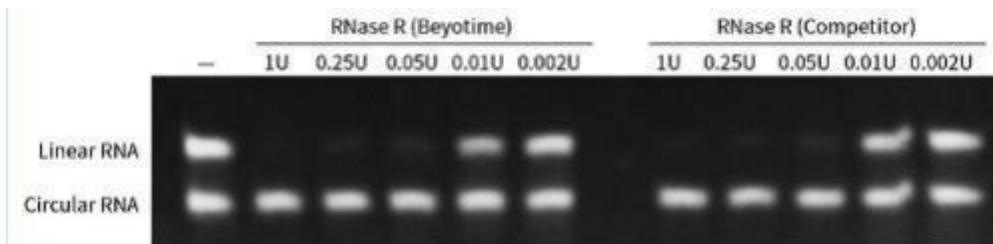


图1. 晶欣生物生产的GxRNA200和GxRNA201可以消化线性RNA但不会消化环状RNA的效果图。

在20μl反应体系中含20mM Tris-HCl (pH8.0), 0.1mM MgCl₂和100mM KCl, 以长度为22nt的等摩尔数(4pmol, 约0.03μg)的线性或环状RNA作为底物, 并加入图中指定量的本产品或国外L公司(Competitor)的RNase R。37℃孵育30min, 70℃孵育10min终止反应。随后加入4μl 6XDNA Loading Buffer, 95℃变性5min, 然后取出15μl进行7M Urea 15%聚丙烯酰胺凝胶电泳(室温条件下用0.5X TBE作为电泳液, 180V电泳90min, NA- Red溶液(1000:1)室温染色10min, 拍照观察结果)。

如图所示, 本产品与国外L公司的产品相比, 具有类似的消化效果。在不同实验条件下获得的效果可能会有所不同, 图中效果仅供参考。

用途: 环状RNA研究, 环状RNA中去除线性RNA, 可变剪接研究, 内含子套索序列的分析和鉴定等。

来源: 由大肠杆菌表达, 表达基因为*E.coli* RNase R基因。

活性定义: One unit converts 1 μg of poly-r(A) into acid-soluble nucleotides in 10 minutes at 37C in 20mM Tris-HCl (pH8.0), 100mM KCl and 0.1mM MgCl₂.

纯度: 不含DNase, 不含其它RNA内切酶和外切酶活性。

酶储存溶液: 50mM Tris-HCl (pH7.5 @25C), 200mM NaCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 50% (v/v) Glycerol, 0.1% (w/v) Triton X-100.

10XReaction Buffer: 200mM Tris-HCl (pH8.0 @25C), 1M KCl, 1mM MgCl₂.

失活或抑制: 70C加热10分钟可使RNase R失活

产品组分

组分	GxRNA200
RNase R (20U/μL)	125 μL
10 × Reaction Buffer	1 ml

保存条件

-20℃保存，至少一年有效。

单位定义

在标准反应体系下，于37℃，10 min 将1μg Poly(A)转化为酸溶性核苷酸所需的酶量定义为一个活力单位 (U)。

质量控制

SDS- PAGE纯度≥99 %，不含DNase，不含其它RNA内切酶和外切酶活性。

注意事项

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. RNase R的消化反应。

a. 参考下表在冰上配制如下反应体系：

Reagent	Volume/Concentration	
RNA	<5μg	>5μg
10X RNase R Reaction Buffer	2μl	5μl
RNase R (20U/μl)	1-3U/μg RNA	1-3U/μg RNA
DEPC-treated Water	up to 20μl	up to 50μl

b. 反应条件：37℃反应10-30min，70℃灭活10min。

注：RNase R的用量和反应体系的体积需要根据具体情况，通过实验进行摸索调整。

2. RNase R消化反应后，反应体系中环状RNA等的纯化回收。

a. 苯酚/氯仿提取和乙醇沉淀纯化回收环状RNA等。

(a) 加入Nuclease-free Water将反应体积放大到180μl，再加入20μl 3M醋酸钠(pH5.2)或20μl 5M醋酸铵，充分混匀。加入等体积的苯酚/氯仿混合液(1:1)抽提一次(剧烈Vortex 20-30s，随后12000rpm离心5-10min取上清。

(b) 加入双倍体积的无水乙醇沉淀RNA，在-20℃至少孵育30分钟。随后12000rpm 4℃离心5-10min沉淀RNA。

(c) 弃上清，用约500μl预冷的70%乙醇洗涤沉淀，以充分去除盐分。

(d) 用DEPC-treated Water 重悬并溶解RNA，在-80℃储存。

b. 使用RNA纯化柱或RNA纯化磁珠进行纯化回收。经过RNase R消化后的产物可以在70℃孵育10 min使酶失活后，通常无须进行纯化，就可以直接进行反转录，用于后续的RT-PCR、qPCR等。

官方网址：<http://www.genesion.com.cn>
订货热线：4006169114、020-84224925
Email:whiga22@126.com

