

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 Mg^{2+} 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。

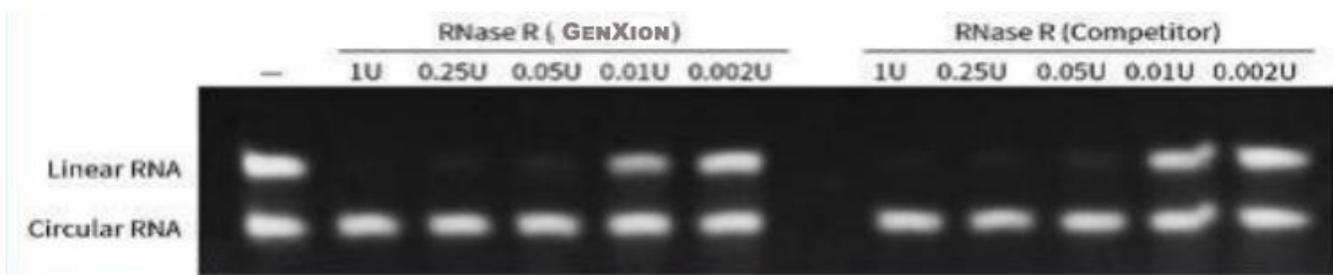


图 1. 晶欣生物生产的 GxRNA200 和 GxRNA201 可以消化线性 RNA 但不会消化环状 RNA 的效果图。

在 20 μ l 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 0.03 μ g)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 $^{\circ}$ C 孵育 30min, 70 $^{\circ}$ C 孵育 10min 终止反应。随后加入 4 μ l 6X DNA Loading Buffer, 95 $^{\circ}$ C 变性 5min, 然后取出 15 μ l 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 μ g of poly-r(A) into acid-soluble nucleotides in 10 minutes at 37 $^{\circ}$ C 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：50 mM 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)	125μL
10 × Reaction Buffer	1 ml

保存条件

-20C 保存，至少一年有效。

单位定义

在标准反应体系下，于 37C，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°C 反应 10-30min，70°C 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°C 至少孵育 30 分钟。随后 12000rpm 4°C 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°C 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°C 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

