

RNase T1

REF: EG24210-S/M

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格 S	规格 M
RNase T1 (500 U/μl)	200 μl	5×200 μl
10× RNase T1 Buffer	1 ml	5×1 ml

产品简介

RNase T1 是一种来源于米曲霉 (*Aspergillus oryzae*) 的核糖核酸内切酶, 可特异性地在单链 RNA 的鸟嘌呤核糖核苷酸 (G) 后进行切割, 产生 3' 磷酸末端。RNase T1 能够形成核苷 2', 3'- 环磷酸中间体, 以切割 3'- 鸟苷残基与邻近核苷 5'-OH 基团之间的磷酸二酯键, 产生含末端 3'-GMP 的寡核苷酸和 3'-GMP。

RNase T1 的活性不依赖于金属离子。

活性定义

1 活性单位 (U) 是指在 37°C, pH7.5 条件下, 以酵母 RNA 为底物, 使 A260 变化 1.0 所需要的酶量。

适用范围

1. 去除 DNA 中的 RNA;
2. 去除重组蛋白中的 RNA;
3. RNA 测序;
4. 用于核糖核酸酶保护试验 (与 RNase A 结合使用);
5. 测定不含 G 或低 G 含量 DNA 模板的转录水平。

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测, 蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性

37°C 下, 在 20 μl 反应体系中将 500 U RNase T1 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 20% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性

37°C 下, 在 20 μl 反应体系中将 500 U RNase T1 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 双链 DNA 片段无变化。

使用方法

1. 反应体系

组分	体积	终浓度
ssRNA	1~10 μg	50~500 ng/μl
10× RNase T1 Buffer	2 μl	1×
RNase Inhibitor (40 U/μl)*	1 μl	2 U/μl
RNase T1 (500 U/μl)	0.4 μl	10 U/μl
Nuclease-Free Water	up to 20 μl	-

注: 为避免 RNase A 等环境中的 RNase 污染使底物 RNA 降解, 建议在反应体系中加入 RNase Inhibitor (货号: EG20002), 底物 RNA 应在 RNase Inhibitor 加入并混匀之后加入。

2. 推荐的反应条件

37°C 孵育 15 min。可根据实际情况适当延长或缩短孵育时间以达到最佳酶切效果。

注意事项

1. 多种金属离子可抑制 RNase T1 的活性, 包括 Mg^{2+} (100 mM $MgCl_2$ 约抑制 40% 的活性)、 Ca^{2+} (10 mM $CaCl_2$ 约抑制 30% 的活性)、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 等。除此之外, Guanylyl 2'-5' guanosine 是 RNase T1 的特异性抑制剂。

2. RNase T1 的热失活是可逆的, 建议通过柱纯化或酚 / 氯仿抽提的方法去除 RNase T1。

3. 在 pH6.0 的溶液中, RNase T1 可耐受 100°C 加热 10 min; 但在 pH>9.0 的碱性溶液中不稳定。

4. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套及口罩进行实验操作。