

Thermostable RNase T1

REF: EG24211-S/M

储运条件

-20°C

产品组成

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

产品简介

Thermostable RNase T1 是一种基于 RNase T1 经过蛋白定向进化得到的耐热突变体。与野生型 RNase T1 相比, Thermostable RNase T1 能够在 50°C 的条件下保持 100% 的活性, 而野生型在同样的温度下活性至少下降 50%。更高的反应温度有助于充分打开 RNA 的二级结构, 减少或避免其对酶切的影响, 从而使酶切过程更加彻底。

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 Thermostable 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 转变成缺口或线性状态。

DNase 活性

37°C 下, 在 20 μl 反应体系中将 500 U Thermostable 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
Thermostable 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

50°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. Thermostable 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 Thermostable RNase T1。

2. RNase 相关实验请在通风橱或特定区域进行, 以避免对其他实验产生影响。

3. 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。