

描述: 与广泛研究并应用的 DNA 限制性内切酶相比,天然地序列特异性 RNA 限制性内切酶极为稀有。RNACutter-eN1 限制性内切酶,来源于 Ecoli 的 III 型毒性因子,为序列特异性的 RNA 限制性内切酶,该酶高度特异性识别,并切割单链 RNA 序列 GAA↓AU。该酶发挥切割作用不依赖 Mg^{2+} 和 Mn^{2+} , 并且不受 Rnase Inhibitor 抑制。除此外,该酶对单链 RNA 序列 AAA↓AU 有星活性(弱切割),切割速度较 GAA↓AU 慢 100 倍。

组分

名称	250U	1000U
RNACutter eN1 REzyme (10 U/μl)	25 μl	100 μl
10×eN1 REzyme Buffer	0.5 ml	0.5 ml

活性定义: 1Unit 指 25°C 条件下, 15 分钟内切割 10pmol 的含单个 rGrArArArU 单链 RNA 底物所需要的酶量。

储存: -20°C 可保存 3 年。

储存缓冲液: 10 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM DTT, 50%Glycerol, pH7.5。

1×eN1 REzyme Buffer: 25 mM Tris-HCl, pH7.5, 50 mM NaCl, 2 mM DTT, 5 mM EDTA。

热失活: 不可加热失活。

使用方法:

RNA 底物 10-50 pmol

10×eN1 REzyme Buffer 2.5 μl

RNACutter eN1 REzyme (10 U/μl) 1 μl

ddH₂O Up to 25 μl

25°C 孵育 15~30min。需要进行失活反应时,加入 0.1mg/ml 的蛋白酶 K 消化进行失活反应。

使用注意:

(1) 该酶对 Na^+ 、 K^+ 敏感 (25~100 mM 时活性最佳), 当盐浓度 >150 mM 酶活性大幅下降。

(2) 该酶耐受 10 mM Mg^{2+} 、1M 尿素、1M 去离子甲酰胺、1M Betain。

(3) 该酶最佳工作温度为 15~25°C。通过加热反应该酶不能完全失活(但会大幅下降), 在 90°C 加热 15min 后, 该酶仍然残留部分活性。