

Ribonuclease R (RNase R)

Cat.No.: C5052 Store at: -20°C



描述: RNase R 来源于 E.coli, 通过基因工程重组表达, 该酶为 Mg^{2+} 依赖的 3'-5'核糖核酸外切酶。其可消化所有线性 RNAs 底物, 但不能消化环状 RNA(circular RNA)、套索 RNA(lariat RNA)、双链 RNA、3'突出端<7nt 的双链 RNA。本酶可高效的去除不含二级结构的线性 RNA, 从而纯化获得环 RNA 分子, 用于后续 RNA-sequencing 等实验。

组分

名 称	500 U	5000 U
RNase R (20 U/μl)	25 μl	250 μl
10xRNase R Buffer	1 ml	1 ml

活性定义: 在 20 mM Tris-HCl(pH7.5), 100 mM KCl, 0.5 mM Mg^{2+} 条件下, 37°C 下水解 1 μg 的 poly-r(A)产物, 所需酶量为 1 个活性单位。

10xRNase R Buffer: 200 mM Tris-HCl, 1 M KCl, 5 mM $MgCl_2$, pH7.5。

酶储存液: 20 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 50% Glycerol, 0.1% (w/v) Tween-20, pH 7.5。

储存: 置于-20°C 可保存 3 年, 避免反复冻融。

使用方法

1. 配制反应体系

RNA	1-10 μg
10xRNase R Buffer	2.5 μl
RNase Inhibitor (40 U/μl)	0.5 μl
RNase R (20 U/μl)	1-2 μl
DEPC-treated Water	up to 25 μl

2. 37°C 孵育 30-60min, 反应完毕后可加入 5 mM EDTA 终止反应。

使用注意事项:

(1) 在 total RNA 的消化中, 由于含有二级结构较多的 RNA, 如 tRNA、rRNA、dsRNA 等, RNase R 对该类底物消化活性大幅下降, 此时需要延长消化时间至 2h, 并在 1h 时补加 RNase R 进行消化。必要时将反应温度提高至 45°C, 以打开含有二级结构的 RNA 分子。

(2) 对于含有 highly structured 的 RNAs, RNase R 仍然无法完全消化, HaiGene 稍后将推出 5'-3'的核糖核酸外切酶以解决此类问题。

(3) 据其它文献报道, 在含有 highly structured 的 RNAs, 可放大反应体积至 50 μl, 可降低二级结构的影响, 从而促进 RNA 的降解。

(4) 高温和长时间的孵育, 可能导致 RNA 的非酶性断裂 (水分子的 H^+ 对二酯键的攻击)。因此, 消化时间、反应温度均需要根据特定的实验进行优化和调整。