

RNA 酶抑制剂

货号: R11950

规格: 1000U/2000U/10000U

保存: -20°C保存, 避免反复冻融, 有效期 1 年。

产品说明:

天然 RNA 酶抑制剂分子量为 50kDa, 通过非共价键以 1:1 的比例结合 RNase。可抑制 RNaseA 家族和人胎盘 RNase。天然的 RNA 酶抑制剂从人胎盘分离而来, 产品中可能含有氨基酸序列稍有不同的多种形态抑制剂, N 端被阻断。产品经测试, 无 1 型艾滋病病毒和 A, B, C 型肝炎病毒。

使用说明 (仅供参考):

1. 体外转录(无标记 RNA)

在下面标准的体外转录反应中, RNA 酶抑制剂的终浓度是 1u/μl。通过合适的改变, 这个反应可用在多种体外转录实验中。

1). 反应体系配制

组分	体积
5X transcription buffer	20μl
DTT, 100mM	10μl
RNasin Ribonuclease Inhibitor	100u
ATP, GTP, CTP 和 UTP, 各 2.5mM**	20μl
在水或 TE 中的线性质粒 DNA, 2-5μg	2μl
RNA 聚合酶; SP6, T3 或 T7 0-50u	0-50u
无核酸酶的水加至	100μl

**4 种 10mM rNTP 储存液按等体积混合

2). 反应条件

37-40°C. 孵育 60-120 分钟

2. 体外转录(32P 标记的 RNA 探针)

1). 反应体系配制

组分	体积
5X transcription buffer	4μl
DTT, 100mM	2μl
RNasin Ribonuclease Inhibitor	20u
ATP, GTP, CTP 和 UTP, 各 2.5mM † 4μl	4μl

CTP, 100 μ M	2.4 μ l
在水或 TE 中的线性质粒 DNA, 0.2–1.0mg/ml	1 μ l
[α -32P]CTP, 50 μ Ci, 10mCi/ml 5 μ l	5 μ l
RNA 聚合酶; SP6, T3 或 T7	1 μ l
无核酸酶的水加至	20μl

† 将 1 体积水和 1 体积 10mM ATP, GTP 和 UTP 储存液混合。

2). 反应条件:

37–40°C 孵育 60 分钟。

3. 体外翻译

在标准和耦联的体外翻译系统中加入 RNA 酶抑制剂保证 RNA 底物得到保护。

1). 在兔网织红细胞中对样品进行体外表达:

• 反应体系配制

组分	体积
兔网织红细胞裂解物	35 μ l
无核酸酶水	7 μ l
RNasin Ribonuclease Inhibitor	40u
氨基酸混合物, 缺失甲硫氨酸, 1mM	1 μ l
[35S]标记的甲硫氨酸 (1,200Ci/mmol) 10mCi/ml	4 μ l
溶于水的 RNA 模板	2 μ g
终体积	50μl

• 反应条件:

30°C 孵育 60 分钟。

2). 在转录翻译耦联的 TNT 兔网织红细胞裂解物或者麦胚提取物系统中进行体外表达:

• 反应体系配制

组分	体积
TNT 兔网织红细胞裂解物或者麦胚提取物	25 μ l
TNT 反应缓冲液	2 μ l
TNTT3, T7 或 SP6 RNA 聚合酶	1 μ l
氨基酸混合物, 缺失甲硫氨酸, 1mM	1 μ l
[35S]标记的甲硫氨酸 (1,200Ci/mmol) 10mCi/ml	4 μ l
RNasin Ribonuclease Inhibitor 40u/ul	40u
DNA 模板	1 μ g
无核酸酶的水加至	50μl

• 反应条件: 30°C 孵育 60-120 分钟。