

## RNase T1

产品编号	产品名称	包装
R7096S	RNase T1	100,000U
R7096M	RNase T1	500,000U

### 产品简介:

- 碧云天生产的RNase T1 (Ribonuclease T1), 中文名为核糖核酸酶T1, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台通过大肠杆菌表达、纯化获得的高品质重组RNase T1。
- RNase T1来源于米曲霉(*Aspergillus oryzae*), 是一种核糖核酸内切酶, 特异性地在单链RNA的鸟嘌呤核糖核苷酸(G)后进行切割。在反应中, RNase T1切割鸟嘌呤核糖核苷酸3'-磷酸基团和相邻核糖核苷酸5'-羟基之间的磷酸二酯键, 形成2',3'环磷酸腺苷中间体, 即使3'末端形成G-cP, 随后水解为相应的3'末端带有GMP (G-P)的寡核苷酸[1]。RNase T1的活性不依赖于金属离子。
- 碧云天生产的RNase T1对含单个G的单链RNA的酶切效果请参考图1。

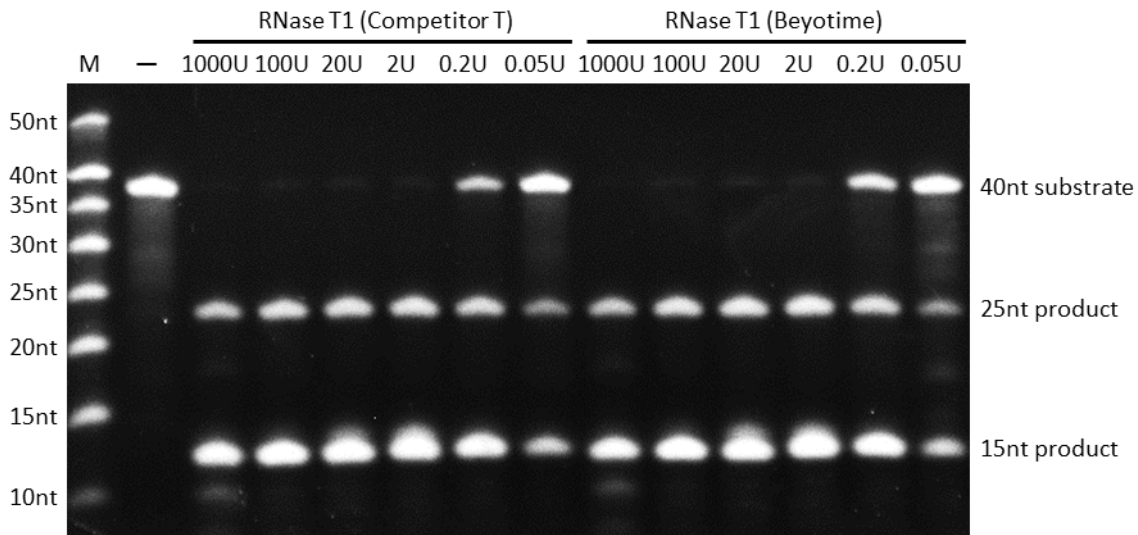


图1. 碧云天生产的RNase T1对含单个G的单链RNA的酶切效果图。M: Small RNA Ladder (R0206)。反应体系(20 $\mu$ l): 50mM Tris-HCl (pH7.5 at 25 $^{\circ}$ C), 2mM EDTA, 2mM DTT, 2U/ $\mu$ l RNase Inhibitor (R0102, 抑制RNase A等但不会抑制RNase T1), 2 $\mu$ M RNA Oligos, 图中指定量的来自T公司和Beyotime生产的RNase T1。配制好反应体系后, 37 $^{\circ}$ C孵育15min进行反应。反应结束后, 立即加入4 $\mu$ l 6X DNA Loading Buffer, 100 $^{\circ}$ C加热10min, 取6 $\mu$ l进行尿素(7M)变性聚丙烯酰胺(15%)凝胶电泳。将1 $\mu$ l Small RNA Ladder与1 $\mu$ l 2X RNA Loading Buffer (R0215)混合, 100 $^{\circ}$ C加热10min, 取2 $\mu$ l分别与样品一起进行凝胶电泳。电泳结束后, 将Gel-Red (EB升级换代产品, 10000X) (D0140)用双蒸水进行1:5000稀释, 室温染色15min, 并在紫外灯下观察实验结果。如图所示, 40nt的底物RNA Oligos经RNase T1切割后, 产生15nt和25nt的 RNA Oligo产物。本产品与T公司的产品相比, 对单链RNA具有基本一致的酶切效果。图中效果仅供参考, 不同的实验条件下获得的实际检测效果可能会略有不同。

- **用途:** 去除DNA中的RNA; 去除制备的重组蛋白中的RNA; RNA测序; 与RNase A结合使用于核糖核酸酶保护分析(RNA protection assay); 测定不含G或低G含量DNA模板的转录水平。
- **来源:** 由大肠杆菌表达, 表达基因为米曲霉(*Aspergillus oryzae*)的rntA基因。
- **分子量:** 12.4kDa。
- **活性定义:** One unit of the enzyme causes an increase in absorbance of 1.0 at 260nm in 15min when yeast RNA is hydrolyzed at 37 $^{\circ}$ C and pH7.5.
- **纯度:** 纯度 $\geq$ 95%; 不含DNA内切酶和外切酶, 不含其它核糖核酸酶。
- **酶储存溶液:** 50mM Tris-HCl (pH7.4), 50% (v/v) glycerol.
- **Reaction Buffer (10X):** 500mM Tris-HCl (pH7.5), 20mM EDTA.
- **失活或抑制:** 金属离子Mg<sup>2+</sup> (100mM MgCl<sub>2</sub>约抑制40%的活性)、Ca<sup>2+</sup> (10mM CaCl<sub>2</sub>约抑制30%的活性)、Zn<sup>2+</sup>、Fe<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup>和单核苷酸(2'-GMP、3'-GMP等)均可抑制RNase T1的活性, Guanylyl 2'-5' guanosine是RNase T1的特异性抑制剂[2]。RNase T1对热有较高的耐受性, 在pH6.0的溶液中, 可100 $^{\circ}$ C加热耐受10min; 但在pH>9.0的碱性溶液中不稳定。RNase T1的热失活是

可逆的。将反应体系加热到100°C并不能终止反应[3]。可通过柱纯化或酚/氯仿抽提的方法去除RNase T1。

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R7096S-1	RNase T1 (1000U/μl)	100μl
R7096S-2	10X Reaction Buffer	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7096M-1	RNase T1 (1000U/μl)	500μl
R7096M-2	10X Reaction Buffer	5ml
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存, 至少两年有效。

### 注意事项:

- 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上, 使用完毕后宜立即放置于-20°C保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

#### 1. 含G单链RNA的酶切:

- a. 对于含G单链RNA的酶切, 参考下表在冰浴中配制如下反应体系。

Reagent	Volume	Final Concentration
DEPC Water (DNase, RNase free)	(16.4-x)μl	-
10X Reaction Buffer	2μl	1X
RNase Inhibitor (40U/μl)	1μl	2U/μl
DTT (100mM)	0.4μl	2mM
Single-stranded RNA Containing G Nucleotide	xμl	RNA ≤ 50ng/μl
RNase T1 (1000U/μl)	0.2μl	10U/μl
Total volume	20μl	-

**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 (为了维持RNase Inhibitor的活力, 溶液中需要至少含有1mM DTT)。底物RNA应在RNase Inhibitor加入并混匀之后加入。

- b. 按上表配制好反应体系后, 用移液器轻轻吹打混匀, 随后离心沉降液体。如同时进行多个反应, 可以把上表中除底物RNA之外的所有溶液和酶提前混合并分装, 最后加入底物RNA。
- c. 反应条件: 37°C孵育15分钟。根据实际情况, 可适当延长孵育时间, 使酶切反应更加充分。通常对于1μg RNA, 如果是20μl反应体系, 使用0.2μl RNase T1 (1000U/μl)进行酶切时, 如果希望酶切比较充分, 建议孵育30分钟。如果底物RNA的量比较少, 可以适当缩短孵育时间。
2. 其他用途请参考上述用途或相关文献资料进行。

### 参考文献:

1. Takahashi K, Moore S. The Enzymes, V. Academic Press. 1982. 435-468.
2. Eun H-M. Enzymology Primer for Recombinant DNA Technology. Academic Press. 1996.
3. Uchida T, Egami F. The Enzymes, IV. Academic Press. 1971. 205-250.

### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D0139	Gel-Red (EB升级换代产品, 10000X)	0.2ml
D0140	Gel-Red (EB升级换代产品, 10000X)	1ml
D7089	RNase H	100U
R0021	DEPC水(DNase, RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase, RNase free)	500ml
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U
R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U
R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R0206	Small RNA Ladder	100μl

R0215	2X RNA Loading Buffer	1ml
R7090S	Thermostable RNase H	250U
R7090M	Thermostable RNase H	1000U
R7090L	Thermostable RNase H	5000U
R7096S	RNase T1	100,000U
R7096M	RNase T1	500,000U
ST576	RNase A (10mg/ml, DNase free)	1ml
ST577	RNase A (100mg/ml, DNase free)	0.5ml
ST578	RNase A (10mg/ml)	1ml
ST579	RNase A (100mg/ml)	0.5ml

Version 2022.04.11