



产品描述

本公司生产的RNase抑制剂是从人胎盘中提取的一种广谱的核糖核酸酶抑制蛋白质,可以特异性地抑制 RNase A、B、C 活性,但对 RNase1、RNase T1、S1 核酸酶、RNase H 和来源于曲霉属的 RNase 无效。此外,与 Taq DNA 聚合酶、AMV 或 M-MuLV 反转录酶和噬菌体 RNA 聚合酶 (SP6、T7 或 T3) 共同使用时,未观察到其抑制聚合酶的活性。RNase 抑制剂的分子量为 50 kDa,通过非共价键以 1:1 的比例与 RNase 结合而抑制其酶活性,结合常数大于 10^{14} 。

产品应用

用于 RT-PCR, cDNA 合成中 mRNA 的保护,体外转录和体外翻译,制备 RNase-free 的抗体,原位杂交和 mRNA 定位实验等。

产品组成

组份	PR918-01 1000U	PR918-02 2000U	PR918-03 5000U
RNase Inhibitor (40U/ul)	25 ul	50 ul	125 ul

Storage Buffer: 20mM HEPES-KOH(PH7.6), 50mM KCl, 8mM DTT,50%(v/v) glycerol.

产品储存

-20 °C保存。

单位定义

1个活力单位(U)是指50%抑制5ng RNase A中的胞苷2',3'-环磷酸发生水解所用的酶的量。

质量控制

核酸外切酶残留检测:10U的本酶和0.6 μg λ -Hind III 在37°C下孵育16小时,DNA的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测:10U的本酶和0.6 μg Supercoiled pBR322 DNA 在37°C下孵育4小时,DNA的电泳谱带不发生变化。

RNase 残留检测:10U的本酶和1 μg HeLa 细胞总 RNA 在37°C下孵育1小时,RNA的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌 DNA 残留检测:10U 本品中残留的核酸经 E.coli 16s rDNA 特异性的 TaqMan qPCR 检测, E.coli 基因组残留低于10拷贝。

应用实例

第一链 cDNA 合成(以 20μl 反应体系为例)

1. 加入

Total RNA/mRNA	50 ng-5μg /5-500 ng
Oligo (dT) ₁₈ (50μM)	1 μl
or Random hexamers(0.1μg/μl)	1 μl
or Gene Specific Primers	2 pmol
dNTP Mix (10 mM each)	1 μl
5×RT Reaction Mix	4 μl
RNase Inhibitor (40U/ul)	0.5-1μl
HiPro™ Reverse Transcriptase	1μl
RNase free ddH ₂ O	to 20μl

2. 轻轻混匀

如用 Oligo(dT)₁₈ 或基因特异引物(GSP), 42°C孵育 50min。

如用 Random Primer, 25°C孵育 10 min, 42°C孵育 50min。

3. 70°C加热 5 min 失活 HiPro™ Reverse Transcriptase。

4. RT-PCR: 反转录所得的 cDNA 可直接用于 PCR 反应或储存于-20°C。