

iCloning

克劳宁(北京)生物科技有限公司

产品名称: RNA酶抑制剂

Cat #: RNIN-100, RNIN-200, RNIN-300, RNIN-OEM

制品说明:

RNA酶抑制剂为52kDa的酸性蛋白,是胰管类核糖核酸酶,如RNase A、RNase B、RNaseC的非竞争性抑制剂。该酶融合了猪RNase抑制剂和22.5kDa的专有标签蛋白。

用途:

·抑制RNaseA、B、C

来源:

携带猪RNase抑制剂基因的重组E.coli菌株。

酶贮存液:

20 mM Hepes-KOH
50 mM KCl
8 mM DTT
50% 甘油
pH 7.5, 25°C保存

单位定义:

1单位是指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。

核酸污染检测

单链核酸外切酶活性:

在50μL反应体系中, 10μL酶溶液和11,000 cpm放射性标记的单链DNA底物作用, 37°C孵育4小时, 溶液中可溶性TCA的释放量小于5%。

双链核酸外切酶活性:

在50μL反应体系中, 10μL酶溶液和5,000 cpm放射性标记的双链DNA底物作用, 37°C孵育4小时, 溶液中可溶性TCA的释放量小于0.5%。

核酸内切酶活性:

在50μL反应体系中, 10μL酶溶液与0.5μg pBR322 DNA作用, 37°C孵育4小时, 经琼脂糖凝胶电泳, 无肉眼可见的环状切口DNA出现。

非特异性RNase检测:

按RNase Alert试剂盒(Integrated DNA Technologies)用户手册的方法检测。

iCloning

克劳宁(北京)生物科技有限公司

E.coli 16s rDNA污染检测:

将5 μ L酶溶液进行变性,用16s RNA基因位点的寡聚核苷酸引物进行TaqMan qPCR分析,以检测E.coli基因组DNA污染物的存在。根据无模板对照的Ct值和标准曲线的比对结果,本实验的检测下限可达到10个拷贝/样品。

质量控制分析

单位定义方法:

酶的单位活性是通过2倍连续稀释法测得的。用1X RNase Inhibitor buffer稀释本酶,加入到含1mM 胞苷2',3'环磷酸,1 μ g RNase A, 1X reaction buffer (100mM Tris-Acetate, 1mM EDTA, pH 6.5) 的100 μ L反应体系中,酶的终浓度0.62~1 μ g/ μ L。孵育5分钟,每20秒检测一次286nm处的吸光值。

蛋白浓度测定 (OD280) :

标准操作下,2.0 μ L蛋白样品,以2.0mg/ml BSA标准样 (Pierce Cat#23209) 为阳性对照,产品保存液为空白对照,经Nanodrop ND-1000 分光光度计测定OD280值。3次检测的平均值,根据吸光系数转换为61,400mg/mL,分子量为74,828Da。标准样品的允许误差为 \pm 5%。

SDS-PAGE (物理纯度检测) :

4-20%的变性Tris-甘氨酸SDS-PAGE凝胶,取2.0 μ L浓缩酶上样,两侧分别取分辨分子量范围较大的蛋白Marker和2.0 μ L 100倍稀释的待测酶上样。凝胶电泳后进行染色,并通过比较样品确定酶的纯度。本次实验的验收标准为,当浓缩样品中的污染物条带的总质量不超过稀释样品中的目的条带的蛋白质的质量时,可判定浓缩样品的浓度大于99%。

推荐贮存条件: -20 $^{\circ}$ C

参考文献:

1、Blackburn, P., 1979. Ribonuclease Inhibitor from Human Placenta: Rapid Purification and Assay. The Journal of Biological Chemistry, Vol. 254, No. 24 pp 12484-12487.

该产品仅限于实验科学研究用,若有任何单位或个人将该产品用于临床诊断、治疗等其他国家专门规定的特殊用途,本公司概不承担任何责任。