

# GS RNase Inhibitor

## 目录号

SE611-1

SE611-2

## 产品组成

| 组分                                 | SE611-1 (2000 U) | SE611-2 (10000 U) |
|------------------------------------|------------------|-------------------|
| GS RNase Inhibitor (40 U/ $\mu$ L) | 50 $\mu$ L       | 250 $\mu$ L       |

## 保存条件

-20°C保存 12 个月。

## 产品简介

GS RNase Inhibitor 是在大肠杆菌中表达纯化的重组鼠源 RNase 抑制剂，通过 1:1 的比例与 RNA 酶非共价结合从而抑制 RNase 的活性，保护 RNA 不被降解。GS RNase Inhibitor 是基于热稳定性的 RNase 抑制剂，在 50-55°C 亦能抑制 RNase 的活性。经过 RT-PCR 检验，本产品与各种商业化的逆转录酶、DNA 聚合酶、RNA 聚合酶兼容。此外，与人源 RNase inhibitor 相比，GS RNase Inhibitor 具有更高的抗氧化活性，更加适合于对高 DTT 敏感的实验(如 qPCR)。

## 产品特点

- 热稳定性：在 50-55°C 亦能抑制 RNase 的活性；
- 高抗氧化活性。

## 单位定义

一个活力单位定义为抑制 5 ng RNA 酶 A 50% 活力所需要的 GS RNase Inhibitor 的量。活力检测的方法是测定其对 RNA 酶 A 水解 2', 3'-环单磷酸胞嘧啶的抑制作用。

## 适用范围

本产品可在任何可能存在 RNase 干扰的应用中使用，以保护 RNA 不被降解，如：

1. cDNA 第一链合成，RT-PCR (PCR 及 qPCR 系统中均可使用)；
2. 在体外转录/翻译 (如病毒体外复制体系) 中对 RNA 进行保护；
3. 在 RNA 分离纯化过程中抑制 RNase 的活性；

本产品仅供科研使用

#### 4. RNase 保护实验。

注：本产品不会在 RNA 的制备或分析应用过程中对其它常用酶造成干扰。

### 注意事项

1. 本产品在广泛的 pH 值范围内有活性 (pH 5.5-9) ;
2. 本产品活性温度为 25-55°C, 在 65°C以上失活;
3. 冻存产品可能出现浓度梯度, 使用前请将本产品充分混合;
4. 由于RNase能在变性条件下保持活性,因此应注意避免使已经和RNase形成复合物的GS RNase Inhibitor 变性。不建议用于含有高浓度的尿素等变性剂的反应体系;
5. 起泡或剧烈搅拌会引起 GS RNase Inhibitor 失活;
6. 本产品能够有效抑制 RNase A、B、C 活性, 不抑制 RNase H 及 RNase T1 活性。

### 使用方法

以下使用方法均为举例说明, 具体操作请参照实际实验方法。

#### I. RT-PCR 实验

1. 在 RNase-Free 离心管中配制如下反应液 (冰上配制) :

| 组分   | 使用量              |
|--|------------------|
| GS RNase Inhibitor (40 U/ $\mu$ L)               | 1 $\mu$ L        |
| RNA 模板 <sup>a</sup>                              | 50 ng~1 $\mu$ g  |
| 逆转录引物 <sup>b</sup>                               | 1.0 $\mu$ L      |
| M-MLV III Reverse Transcriptase (200 U/ $\mu$ L) | 1.0 $\mu$ L      |
| 5 $\times$ M-MLV III Buffer                      | 4.0 $\mu$ L      |
| dNTP Mix (10 mM Each)                            | 1.0 $\mu$ L      |
| 0.1 M DTT  | 1.0 $\mu$ L      |
| Nuclease-Free Water                              | Up to 20 $\mu$ L |

- a. 模板: 推荐使用试剂盒提取的已去除 DNA 的高质量 RNA 作为模板;
- b. Oligo(dT)<sub>20</sub> 建议终浓度 2.5  $\mu$ M, 随机引物建议终浓度 2.5 ng/ $\mu$ L, 基因特异性引物建议终浓度 0.25  $\mu$ M。

2. 用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心后按下列程序进行反应:

| 温度                | 时间                  |
|-------------------|---------------------|
| 25°C <sup>a</sup> | 10 min              |
| 50°C              | 30 min <sup>b</sup> |
| 85°C              | 5 min               |

- a. 若使用随机引物, 则进行该步骤; 若使用 Oligo(dT)<sub>20</sub> 或基因特异性引物, 则不进行该步骤;
- b. 若目的 cDNA < 3 kb, 50°C 温育时间可缩短为 15 min。

本产品仅供科研使用

3. 反应结束后产物立即置于冰上, -20°C或-80°C保存。

## II. 体外转录实验 (未标记的 RNA)

1. 在下面标准的体外转录反应中, GS RNase Inhibitor 的终浓度是 1 U/μl。通过适当调整, 这个反应可用在多种体外转录实验中。

| 组分   | 使用量          |
|--|--------------|
| GS RNase Inhibitor (40 U/μL)                   | 2.5 μL       |
| RNA 聚合酶 (如 SP6, T3 或 T7)                       | 0-50 U       |
| 5× Transcription Buffer                        | 20 μL        |
| 溶于水或 TE 中的线性化质粒 DNA (2-5 μg)                   | 2 μL         |
| ATP, GTP, CTP 和 UTP (2.5 mM Each) <sup>a</sup> | 20 μL        |
| 0.1 M DTT                                      | 10 μL        |
| Nuclease-Free Water                            | Up to 100 μL |

a. 将 4 种 10 mM rNTP 储液按等体积混合。

2. 用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心后按下列程序进行反应:

| 温度       | 时间         |
|----------|------------|
| 37-40 °C | 60-120 min |

## III. 体外转录实验 (<sup>32</sup>P 标记的 RNA 探针)

1. 在 RNase-Free 离心管中配制如下反应液 (冰上配制) :

| 组分  | 使用量         |
|---|-------------|
| GS RNase Inhibitor (40 U/μL)                | 0.5 μL      |
| RNA 聚合酶 (如 SP6, T3 或 T7)                    | 1 μL        |
| 5× Transcription Buffer                     | 4 μL        |
| 溶于水或 TE 中的线性化质粒 DNA (0.2-1.0 mg/mL)         | 1 μL        |
| ATP, GTP 和 UTP (2.5 mM Each) <sup>a</sup>   | 4 μL        |
| CTP (100 μM)                                | 2.4 μL      |
| [α- <sup>32</sup> P]CTP (50 μCi, 10 mCi/ml) | 5 μL        |
| 0.1 M DTT                                   | 2 μL        |
| Nuclease-Free Water                         | Up to 20 μL |

a. 将 1 体积水和各 1 体积 10 mM ATP, GTP 和 UTP 储液混合。

2. 用移液器轻轻吹打混匀, 瞬时离心后按下列程序进行反应:

| 温度       | 时间     |
|----------|--------|
| 37-40 °C | 60 min |

本产品仅供科研使用

#### IV. 体外翻译实验

在标准和偶联的体外翻译系统中加入 GS RNase Inhibitor 以保护 RNA 底物。

##### 示例 1：使用兔网织红细胞裂解物进行体外翻译反应：

1. 在 RNase-Free 离心管中配制如下反应液（冰上配制）：

| 组分  | 使用量              |
|---|------------------|
| GS RNase Inhibitor (40 U/ $\mu$ L)                    | 1 $\mu$ L        |
| Rabbit Reticulocyte Lysate                            | 35 $\mu$ L       |
| Amino Acid Mixture Minus Methionine (1mM)             | 1 $\mu$ L        |
| [ <sup>35</sup> S]methionine (1,200Ci/mmol), 10mCi/ml | 4 $\mu$ L        |
| 溶于水的 RNA 模板   | 2 $\mu$ g        |
| Nuclease-Free Water                                   | Up to 50 $\mu$ L |

2. 用移液器轻轻吹打混匀，瞬时离心后按下列程序进行反应：

| 温度    | 时间     |
|-------|--------|
| 30 °C | 60 min |