



GS RNase Inhibitor

目录号

GES60110-1

GES60110-2

产品组成

组分	GES60110-1 (2000 U)	GES60110-2 (10000 U)
GS RNase Inhibitor (40 U/ μ L)	50 μ L	250 μ 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/ μ L)	1 μ L
RNA 模板 ^a	50 ng~1 μ g
逆转录引物 ^b	1.0 μ L
M-MLV III Reverse Transcriptase (200 U/ μ L)	1.0 μ L
5 × M-MLV III Buffer	4.0 μ L
dNTP Mix (10 mM Each)	1.0 μ L
0.1 M DTT	1.0 μ L
Nuclease-Free Water	Up to 20 μ 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)₂₀ 建议终浓度 2.5 μ M，随机引物建议终浓度 2.5 ng/ μ L，基因特异性引物建议终浓度 0.25 μ 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 ^a	10 min
50°C	30 min ^b
85°C	5 min

a. 若使用随机引物，则进行该步骤；若使用 Oligo(dT)₂₀ 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。

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) ^a	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（³²P 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) ^a	4 μL
CTP (100 μM)	2.4 μL
[α- ³² 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

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/ μ L)	1 μ L
Rabbit Reticulocyte Lysate	35 μ L
Amino Acid Mixture Minus Methionine (1mM)	1 μ L
[³⁵ S]methionine (1,200Ci/mmol), 10mCi/ml	4 μ L
溶于水的 RNA 模板	2 μ g
Nuclease-Free Water	Up to 50 μ 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 $^{\circ}$ C	60 min