

RNase III (dsRNA-specific)

产品编号	产品名称	包装
R7086S	RNase III (dsRNA-specific)	200U
R7086M	RNase III (dsRNA-specific)	1KU
R7086L	RNase III (dsRNA-specific)	5KU

产品简介:

- 碧云天生产的RNase III, 即核糖核酸酶III, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化获得的一种来源于大肠杆菌的双链RNA (Double-strand RNA, dsRNA)特异性的核糖核酸酶。在锰离子(Mn²⁺)存在的反应缓冲液中, RNase III可特异性地将较长的双链RNA (dsRNA)切割成长度约为18-25bp的3'羟基末端带有2-3个突出碱基的干扰RNA (siRNA) [1,2], 该产物与Dicer酶切产生的底物类似, 具有用于哺乳动物细胞的RNA干扰(RNA interference)、基因沉默、靶标确认等多种用途[3]。RNase III不能水解DNA或单链RNA。
- 碧云天生产的RNase III用于切割500bp双链RNA生成siRNA的效果请参考图1。

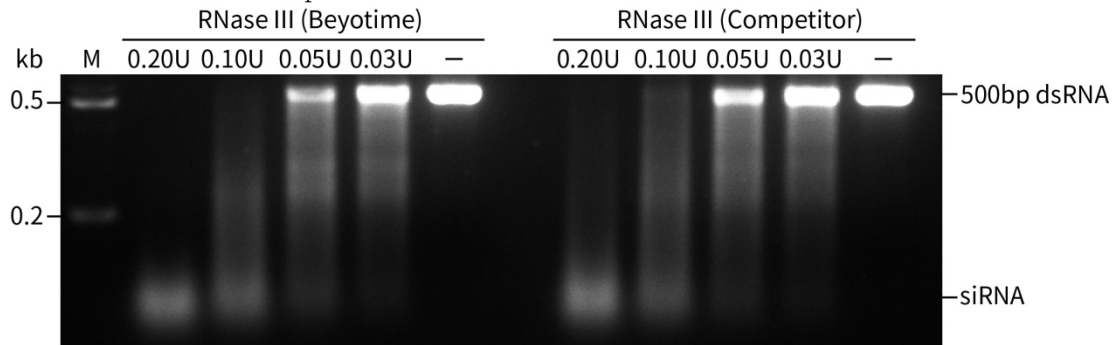


图1. 碧云天生产的RNase III (R7086)切割500bp双链RNA生成siRNA的效果图。使用本产品或N公司(Competitor)的RNase III, 在10 μ l反应体系(50mM Tris-HCl, 50mM NaCl, 1mM DTT, 20 μ M MnCl₂ (pH7.5 @25°C))中加入1 μ g 500bp的dsRNA, 以及图中指定量的本产品或N公司(Competitor)的RNase III, 然后用超纯水(ST876)补至10 μ l, 37°C孵育20分钟进行反应。反应完成后立即加入终浓度为50mM的EDTA以终止反应。取反应后产物10 μ l加入2 μ l 6X DNA Loading Buffer (D0071), 1%的琼脂糖凝胶电泳, 随后在紫外灯下观察实验结果。如图所示, 本产品与N公司的RNase III产品相比, 对500bp的dsRNA具有类似的酶切效果。dsRNA是使用T7 Quick High Yield RNA Transcription Kit (R7016)将两条含T7启动子的500bp的互补DNA链进行体外转录生成两条互补的500nt单链RNA, 随后使用Annealing Buffer for RNA Oligos (5X) (R0051)并按照该产品说明书推荐的程序, 把这两条互补的500nt单链RNA进行退火反应得到的产物。实际操作时不同实验条件获得的实验结果会略有差异, 图中所示结果仅供参考。

- **用途:** dsRNA的水解酶切; 产生siRNA; 基因沉默; 基因靶标确认 (target validation)。
- **来源:** 纯化自携带编码大肠杆菌RNase III基因的*E.coli*重组菌株。
- **活性定义:** One unit is the amount of enzyme required to digest 1 μ g of dsRNA to siRNA in 20 minutes at 37°C in a total reaction volume of 50 μ l.
- **纯度:** 不含除RNase III之外的其它种类的RNA内切酶和外切酶, 不含DNase。
- **酶储存液:** 10mM Tris-HCl, 500mM NaCl, 1mM DTT, 0.5mM EDTA, 50% Glycerol (pH8.0 @25°C)。
- **10X Reaction Buffer:** 500mM Tris-HCl, 500mM NaCl, 10mM DTT (pH7.5 @25°C)。
- **失活或抑制:** 不能进行热失活; 加入反应终止液10X EDTA(终浓度为50mM EDTA)可使RNase III失活。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R7086S-1	RNase III (2U/ μ l)	100 μ l
R7086S-2	10X Reaction Buffer	0.2ml
R7086S-3	10X EDTA	0.2ml
R7086S-4	10X MnCl ₂	0.2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7086M-1	RNase III (2U/μl)	500μl
R7086M-2	10X Reaction Buffer	1ml
R7086M-3	10X EDTA	1ml
R7086M-4	10X MnCl ₂	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7086L-1	RNase III (2U/μl)	2.5ml
R7086L-2	10X Reaction Buffer	5ml
R7086L-3	10X EDTA	5ml
R7086L-4	10X MnCl ₂	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，两年有效。

注意事项：

- RNase III不能进行热失活，否则会降低siRNA的产率；可通过加入终浓度为50mM的EDTA以终止反应。
- RNA极易降解，在整个操作过程中应尽可能避免环境中RNase的影响。
- RNase III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. siRNA的制备：

a. 对于siRNA的制备，参考下表在冰浴中配制如下反应体系(以20和100μl体系为例)：

Reagent	Volume	Volume	Final Concentration
dsRNA	xμl (2μg)	xμl (10μg)	100ng/μl
10X Reaction Buffer	2μl	10μl	1X
10X MnCl ₂	2μl	10μl	1X
Nuclease-Free Water	(14-x)μl	(70-x)μl	-
RNase III	2μl	10μl	0.2U/μl
Total Volume	20μl	100μl	

注1：为获得最好的底物酶切效果，实验过程中可参考酶活单位定义对酶用量进行适当调整，摸索最优反应体系。

注2：如果同时进行多个反应，可以把上表中除RNase III之外所有成分提前混合，分装到各反应管中，最后再加入RNase III。

- b. 按上表设置好反应体系后，适当轻轻混匀反应体系，随后低速离心以使粘附在管壁上的液体沉淀至管底。
- c. 反应条件：37°C孵育20分钟。
注：反应时间可以根据实际情况酌情适当调节。
- d. 终止反应：加入反应终止液10X EDTA(终浓度为50mM EDTA)使RNase III失去活性。

注：不能进行热失活，热失活会降低siRNA的产率。

2. 其它用途可以参考适当的文献资料进行。

参考文献：

1. Morlighem JE, Petit C, Tzertzinis G. Biotechniques. 2007. 42(5):599-600, 602, 604-6.
2. Court DL, Gan I, Liang YH, Shaw GX, Tropea IE, et al. Annu Rev Genet. 2013. 47:405-31.
3. Donzé O, Picard D. Nucleic Acids Res. 2002. 30(10):e46.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
R7086S	RNase III (dsRNA-specific)	200U
R7086M	RNase III (dsRNA-specific)	1KU
R7086L	RNase III (dsRNA-specific)	5KU
R7088S	RNase H	250U
R7088M	RNase H	1000U

R7088L	RNase H	5000U
D7089	RNase H	100U
R7090S	Thermostable RNase H	250U
R7090M	Thermostable RNase H	1000U
R7090L	Thermostable RNase H	5000U
R7092S	RNase R	500U
R7092M	RNase R	2KU
R7092L	RNase R	10KU
R7096S	RNase T1	100000U
R7096M	RNase T1	500000U
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
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U
R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U
R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R0123	RNase and DNase Away	250ml
R0125	RNase, DNase and DNA Away	250ml
R0127	RNase, DNase, RNA and DNA Away	250ml
R7016S	T7 Quick High Yield RNA Transcription Kit	25次
R7016M	T7 Quick High Yield RNA Transcription Kit	100次
R7018S	T7 High Yield RNA Transcription Kit	25次
R7018M	T7 High Yield RNA Transcription Kit	100次

Version 2023.09.25