

# M5 Hiper RNase R 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper RNase R	250U	MF391-01
M5 Hiper RNase R	500U	MF391-02

**【储存条件】** -20°C 恒温长期保存，4°C 保存 1 个月，建议分装保存，避免反复冻融。

## 【产品组分】

	MF391-01	MF391-02
RNase R (20U/μl)	12.5μl	25μl
10X RNase R Reaction Buffer	250μl	500μl

## 【产品简介】

RNase R (Ribonuclease R)是一种来源于大肠杆菌的 Mg<sup>2+</sup>依赖的 3'→5'核糖核酸外切酶。RNase R 能消化线性 RNA (Linear RNA)，但不能消化环状 RNA (Circular RNA, circRNA)、套索 RNA (Lariat RNA)、3'突出末端少于 7 个核苷酸的双链 RNA 以及具有复杂二级结构的 tRNA、5S RNA 等。

RNase R 常用于消化除去线性 RNA，以获得环状 RNA (也称环形 RNA)、内含子套索(Intron lariat)等非线性 RNA。RNase R 为环状 RNA 的研究提供了极大的便利，也可以给研究 RNA 剪接(RNA splicing)带来很大的便利。套索 RNA 是在 pre-mRNA 的剪接内含子过程中产生的，经 RNase R 消化，可以从总 RNA 中被分离出来而用于后续研究。

## 【产品用途】

环状 RNA 研究，环状 RNA 中去除线性 RNA，可变剪接研究，内含子套索序列的分析和鉴定等。

## 【产品来源】

由大肠杆菌表达，表达基因为 E.coli RNase R 基因。

## 【活性定义】

One unit converts 1μg of poly-r(A) into acid-soluble nucleotides in 10 minutes at 37°C in 20mM Tris-HCl (pH8.0), 100mM KCl and 0.1mM MgCl<sub>2</sub>。不含 DNase，不含其它 RNA 内切酶和外切酶活性。

酶储存溶液：50mM Tris-HCl (pH7.5 @25°C), 200mM NaCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 50% (v/v) Glycerol, 0.1% (w/v) Triton X-100。

10XReaction Buffer: 200mM Tris-HCl (pH8.0 @25°C), 1M KCl, 1mM MgCl<sub>2</sub>。

**【酶失活】** 70°C加热 10 分钟可使 RNase R 失活。

## 【注意事项】

RNase R 需要适当的镁离子浓度(0.1-1.0mM)才能发挥活性；反应体系中存在 EDTA 等可以螯合镁离子的螯合剂时，会显著降低 RNase R 活性。有必要时，可以考虑额外添加 MgCl<sub>2</sub> 使反应体系中游离的镁离子浓度至少达到 0.1mM 以上，以确保螯合剂不会螯合镁离子而影响酶活性。

**【使用方法】**

## 一. RNase R 的消化反应。

1. 参考下表在冰上配制如下反应体系：

Reagent	Volume/Concentration	
RNA	<5µg	>5µg
10X RNase R Reaction Buffer	2µl	5µl
RNase R (20U/µl)	1-3U/µg RNA	1-3U/µg RNA
DEPC-treated Water	up to 20µl	up to 50µl

2. 反应条件：37°C 反应 10-30min，70°C 灭活 10min。

**注意：RNase R 的用量和反应体系的体积需要根据具体情况，通过实验进行摸索调整。**

## 二. RNase R 消化反应后，反应体系中环状 RNA 等的纯化回收。

1. 苯酚/氯仿提取和乙醇沉淀纯化回收环状 RNA 等。

(1) 加入 Nuclease-free Water 将反应体积放大到 180µl，再加入 20µl 3M 醋酸钠(pH5.2)或 20µl 5M 醋酸铵，充分混匀。加入等体积的苯酚/氯仿混合液(1:1)抽提一次(剧烈 Vortex 20-30s，随后 12000rpm 离心 5-10min 取上清。

(2) 加入双倍体积的无水乙醇沉淀 RNA，在-20°C 至少孵育 30 分钟。随后 12000rpm 4°C 离心 5-10min 沉淀 RNA。

(3) 弃上清，用约 500µl 预冷的 70%乙醇洗涤沉淀，以充分去除盐分。

(4) 用 DEPC-treated Water (mf160-plus-01) 重悬并溶解 RNA，在-80°C 储存。

2. 使用 RNA 纯化柱或 RNA 纯化磁珠进行纯化回收。经过 RNase R 消化后的产物可以在 70°C 孵育 10 min 使酶失活后，通常无须进行纯化，就可以直接进行反转录，用于后续的 RT-PCR、qPCR 等。

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。