

Cloned

## Ribonuclease Inhibitor

# 使用说明书

TaKaRa Code: D2313A

浓 度: 40 U/ $\mu$ l

包 装: 50  $\mu$ l (2,000 Units)

保 存: -20 $^{\circ}$ C

### ●制品说明

本制品是与RNase A形成 1: 1 复合物, 对RNase 表现高度的非竞争性抑制 ( $K_i=3 \times 10^{-10}$  M)。该反应是可逆的, 通过尿素及巯基类试剂能够解离复合物, 使RNase 复活而抑制剂不可逆失活。本品属蛋白质性质, 与其它竞争性抑制剂 (核酸类、无机磷酸类) 不同, 可以很容易地通过苯酚处理将其从反应体系中除去。

### ●酶贮存溶液

HEPES-KOH 缓冲液 (pH7.5)	20 mM
KCl	50 mM
DTT	5 mM
Glycerol	50 %

●起 源: Purified from an *E.coli* strain expressing a recombinant enzyme.

### ●活性定义

抑制 5 ng RNase A 活性的 50%所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

(RNase A 的活性通过水解 Cyclic2', 3' -CMP 生成 3' -CMP 定量求得)。

### ●纯 度

- 1) 300 U 的 RNase Inhibitor 和 1  $\mu$ g 的  $\lambda$  DNA-*Hind* III 分解物在 37 $^{\circ}$ C 下反应 1 小时, DNA 的电泳谱带不发生变化。
- 2) 300 U 的 RNase Inhibitor 和 1  $\mu$ g 的 Closed circular (RFI) pBR322 DNA 在 37 $^{\circ}$ C 下反应 1 小时, DNA 的电泳谱带不发生变化。
- 3) 100 U 的 RNase Inhibitor 和 1  $\mu$ g 的 16S, 23S rRNA 在 37 $^{\circ}$ C 下反应 1 小时, RNA 的电泳谱带不发生变化。
- 4) SDS-PAGE: 在分子量 50 KDa 处是单一带。

## ●用 途

- 1) cDNA 合成反应。
- 2) 多核糖体的分离 (Polysome isolation)。
- 3) 体外翻译 (*In vitro* translation)。
- 4) 体外无细胞系统转录 (*In vitro* transcription with cell-free extract)。
- 5) SP6 或 T7 RNA 聚合酶的体外转录。

## ●使用注意

- 1) 抑制活性的 pH 值范围较广, 在 pH7~8 时表现最大活性。
- 2) 起泡或强烈搅拌 (Vortex 等) 会引起失活。
- 3) 不抑制 RNase H 活性。

## ●使用例

### cDNA 第一条链的合成。

1. 在微量离心管中配制下列反应液, 全量为 20  $\mu$ l。

模板 RNA	1 $\mu$ g
5 $\times$ AMV Buffer*	4 $\mu$ l
dNTP Mixture (10 mM each)	2 $\mu$ l
Oligo(dT)18 Primer	
或 Random Primer (6~9 mer)	50 pmol
RNase Inhibitor	20 U
AMV RTase	5 U
DEPC H <sub>2</sub> O	up to 20 $\mu$ l

\* AMV (TaKaRa Code: D2620) 制品中附有。

2. 轻轻搅拌。
3. 室温下 10 分钟放置后, 移入 42 $^{\circ}$ C 恒温槽中。
4. 42 $^{\circ}$ C 保温 1 小时。
5. 把样品移入冰中冷却 2 分钟。  
(得到的反应液可用于 cDNA 第二条链的合成。)