

核糖核酸酶 III (dsRNA-specific)

R749972

产品介绍

本公司生产的核糖核酸酶 III (dsRNA-specific)也称即核糖核酸酶 III，是通过自主研发的技术平台表达、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)，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。RNase III 不能水解 DNA 或单链 RNA。

不含除 RNase III 之外的其它种类的 RNA 内切酶和外切酶，不含 DNase。

失活或抑制 (Inactivation or inhibition)：不能进行热失活；加入反应终止液 10X EDTA(终浓度为 50mM EDTA)可使 RNaseIII 失活。

组分和说明

| R749972 | Component | 200U | 1KU | 5KU | Storage |
|----------|---------------------------|-------|-------|---------|-----------------------------------|
| R749972A | RNase III (2U/μl) | 100μl | 500μl | 5*500μl | -20 °C . Avoid freeze/thaw cycle. |
| R749972B | 10X Reaction Buffer | 0.2ml | 1ml | 5*1ml | -20 °C . Avoid freeze/thaw cycle. |
| R749972C | 10X EDTA | 0.2ml | 1ml | 5*1ml | -20 °C . Avoid freeze/thaw cycle. |
| R749972D | 10X MnCl ₂ | 0.2ml | 1ml | 5*1ml | -20 °C . Avoid freeze/thaw cycle. |

产品应用

dsRNA 的水解酶切；产生 siRNA；基因沉默；基因靶标确认 (target validation)。

产品优势

从 DNA 模板到转染仅需 1 天，大大减少了合成 siRNA 的试错过程。高效性，稳定性。在体外转录 (IVT) 过程中，RNase III 可用于去除具有免疫原性的副产物 dsRNA。

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 100 μ l 体系为例):

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

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。

保存条件

-20°C 保存， \leq 0°C 运输

注意事项

(1) 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。

(2) 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。

(3) 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。

(4) 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。

(5) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。