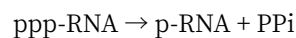


RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH)

产品编号	产品名称	包装
R7035S	RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH)	200U
R7035M	RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH)	1kU

产品简介:

- 碧云天生产的RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH), 即RNA 5' 焦磷酸水解酶, 是由碧云天自主研发的PerfectProtein™ 技术平台通过大肠杆菌表达、纯化获得的可用于催化5' 端三磷酸化RNA (ppp-RNA)水解去除其无机焦磷酸(Inorganic pyrophosphate, PPi)而获得5' 端单磷酸化RNA (p-RNA)的重组酶[1]。RppH蛋白也可以将二腺苷五磷酸(Ap₅A)分解成ADP和ATP [2]。RppH发挥活性需要Mg²⁺ [3], 其催化的反应如下所示。



- 本产品可以用于RNA的5' 末端分析, 5' 端三磷酸化RNA配合XRN-1的剔除, 以及5' 端三磷酸化小RNA去焦磷酸后建库测序等。
- RppH, 又称NudH/YgdP, 属于Nudix水解酶超家族。在细菌中, 它通过控制数百个mRNA的降解而影响着细菌毒力、应激反应和DNA修复等[3]。在大肠杆菌体内, 经RppH催化产生的5' 端单磷酸化mRNA可被RNase E所降解[4]。在体外, 经RppH催化产生的5' 端单磷酸化RNA可被5' -phosphate-dependent exonuclease (XRN-1)水解为单个的核糖核苷酸[5]。
- 碧云天RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH)对5' 端三磷酸化RNA 5' 端无机焦磷酸的水解效果请参考图1。

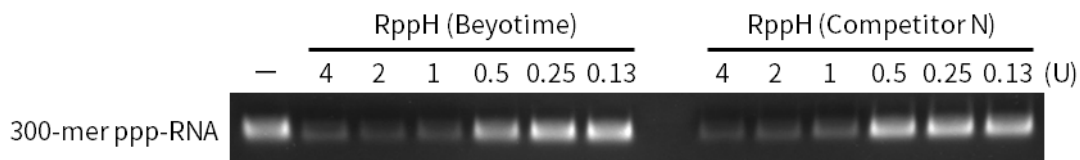


图1. 碧云天RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH) (R7035)与国外N公司(Competitor N)的RppH对5' 端三磷酸化RNA 5' 端无机焦磷酸的水解效果对比图。首先, 通过体外转录制备300-mer ppp-RNA底物: 转录模板质粒线性化并回收, 以线性化的质粒为模板, 使用转录试剂盒T7 Quick High Yield RNA Transcription Kit (R7016)进行体外转录, 并纯化转录产物。测定300-mer ppp-RNA浓度并分装, -80°C保存。将碧云天与N公司的RppH (5U/μl)分别稀释1.25、2.5、5、10、20、40倍, 然后配制10μl反应体系: 10mM Tris-HCl (pH7.9), 50mM NaCl, 10mM MgCl₂, 1mM DTT, 20U RNase Inhibitor (R0102), 0.5μg 300-mer ppp-RNA, 2U XRN-1 (R7040), 1μl上述不同稀释度的RppH或Storage (Dilution) Buffer, 37°C孵育30分钟, 随后95°C加热5分钟。加热结束后, 每个样品中加入2μl DNA上样缓冲液(6X) (D0071), 进行1.5%琼脂糖凝胶电泳, 全部上样, 160V电泳6分钟。碧云天的RppH与N公司的产品相比, 对5' 端三磷酸化RNA 5' 端无机焦磷酸具有基本一致的水解效果。图中数据仅供参考, 不同实验条件下获得的数据会有一些的差异。

- 来源:** 由大肠杆菌表达, 表达基因为大肠杆菌的RppH基因。
- 分子量:** 约19.7kDa。
- 活性定义:** One unit is the amount of enzyme that converts 1μg 300 mer RNA transcript into a XRN-1 digestible RNA in 30 minutes at 37°C。
- 纯度:** 不含DNA内切酶和外切酶, 不含RNA酶。
- Storage (Dilution) Buffer:** 20mM Tris-HCl (pH7.5), 200mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.01% Triton X-100 and 50% Glycerol。
- 10X Reaction Buffer:** 100mM Tris-HCl (pH7.9), 500mM NaCl, 100mM MgCl₂, 10mM DTT。
- 失活或抑制:** 氟离子会对RppH的活性造成抑制。此外, 核苷酸和警报酮(Alarmones)也会抑制RppH的活性[4]。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R7035S-1	RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH) (5U/μl)	40μl
R7035S-2	10X Reaction Buffer	1ml
R7035S-3	Storage (Dilution) Buffer	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7035M-1	RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH) (5U/μl)	200μl
R7035M-2	10X Reaction Buffer	5ml
R7035M-3	Storage (Dilution) Buffer	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，至少两年有效。

注意事项：

- 酶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. 体外转录，获取RppH作用底物。

- 转录模板质粒线性化，并回收线性化质粒。
- 以线性化的质粒为模板，使用转录试剂盒T7 Quick High Yield RNA Transcription Kit (R7016)进行体外转录，并纯化转录产物。测定RNA浓度并分装，-80°C保存。

2. 转录产物的酶解。

- 参考下表，选择适当的稀释倍数，用Storage (Dilution) Buffer对RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH) (5U/μl)进行稀释。

Dilution Ratio	RppH Concentration
1.25	4U/μl
2.5	2U/μl
5	1U/μl
10	0.5U/μl
20	0.25U/μl
40	0.125U/μl

- 对于体外转录产物的水解，参考下表在冰浴中配制如下反应体系。

Reagent	Control		Sample	
	Volume	Conc. or amount	Volume	Conc. or amount
Ultrapure Water	4.5μl	-	4.5μl	-
10X Reaction Buffer	1μl	1X	1μl	1X
RNase Inhibitor (40U/μl)	0.5μl	20U	0.5μl	20U
pppRNA (0.5μg/μl)	1μl	0.5μg	1μl	0.5μg
Storage (Dilution) Buffer	1μl	-	-	-
RppH (Diluted)	-	-	1μl	0.125-4U
XRN-1 (1U/μl)	2μl	2U	2μl	2U
Total volume	10μl	-	10μl	-

注：Ultrapure Water推荐使用碧云天的ST876 BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)。RNase Inhibitor推荐使用碧云天的R0102；XRN-1推荐使用碧云天的R7040。

- 反应条件：37°C孵育30分钟。
- 95°C加热5分钟，每个样品中加入2μl DNA上样缓冲液(6X) (D0071)，进行1.5%琼脂糖凝胶电泳，全部上样，160V电泳6分钟。

参考文献：

- Deana A, Celesnik H, Belasco IG. Nature. 2008. 451:355-358.
- Bessman MJ, Walsh JD, Dunn CA, Swaminathan J, Weldon JE, Shen J. J Biol Chem. 2001. 12;276(41):37834-8.
- Vasilyev N, Serganov A. J Biol Chem. 2015. 290(15):9487-99.
- Gao A, Vasilyev N, Kaushik A, Duan W, Serganov A. Nucleic Acids Res. 2020. 48(7):3776-3788.
- Stevens A. J Biol Chem. 1980. 255(7):3080-5.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D2308-10μg	pT3/SP6/T7-RNA Linearized Template (RNA体外转录质粒)	10μg

D2310-1μg	pT3/SP6/T7-RNA-Template (RNA体外转录质粒)	1μg
D2310-100μg	pT3/SP6/T7-RNA-Template (RNA体外转录质粒)	100μg
D2312-1μg	pRNA-T3-T7 (RNA体外转录质粒)	1μg
D2312-100μg	pRNA-T3-T7 (RNA体外转录质粒)	100μg
D2314-1μg	pRNA-SP6-T7 (RNA体外转录质粒)	1μg
D2314-100μg	pRNA-SP6-T7 (RNA体外转录质粒)	100μg
D6128S	BsaI	1kU
D6128M	BsaI	5kU
D6128L	BsaI	20kU
D6128XL	BsaI	200kU
D7383-1ml	NTP set (100mM each, Nuclease free)	4×250μl
D7385-500μl	NTP Mix (10mM each, Nuclease free)	500μl
D7385-2ml	NTP Mix (10mM each, Nuclease free)	2ml
D7387-250μl	NTP Mix (25mM each, Nuclease free)	250μl
D7387-1ml	NTP Mix (25mM each, Nuclease free)	1ml
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0081-1ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	1ml
R0081-5ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	5ml
R0081-20ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	20ml
R0081-100ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	100ml
R0102-2kU	RNase Inhibitor	2000U
R0102-10kU	RNase Inhibitor	10000U
R0102-50kU	RNase Inhibitor	50000U
R0107	氧钒核糖核苷复合物(RNase抑制剂)	2ml
R0108	氧钒核糖核苷复合物(RNase抑制剂)	10ml
R0123	RNase and DNase Away	250ml
R0125	RNase, DNase and DNA Away	250ml
R0127	RNase, DNase, RNA and DNA Away	250ml
R7006S	SP6 RNA Polymerase	1KU
R7006M	SP6 RNA Polymerase	5KU
R7006L	SP6 RNA Polymerase	25KU
R7006XL	SP6 RNA Polymerase	100KU
R7009S	T3 RNA Polymerase	1KU
R7009M	T3 RNA Polymerase	5KU
R7009L	T3 RNA Polymerase	25KU
R7009XL	T3 RNA Polymerase	100KU
R7012S	T7 RNA Polymerase	1KU
R7012M	T7 RNA Polymerase	5KU
R7012L	T7 RNA Polymerase	25KU
R7012XL	T7 RNA Polymerase	100KU
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
R7020S	SP6 High Yield RNA Transcription Kit	25次
R7020M	SP6 High Yield RNA Transcription Kit	100次
R7023S	Pyrophosphatase, Inorganic (<i>E. coli</i>)	10U
R7023M	Pyrophosphatase, Inorganic (<i>E. coli</i>)	50U
R7023L	Pyrophosphatase, Inorganic (<i>E. coli</i>)	200U
R7023XL	Pyrophosphatase, Inorganic (<i>E. coli</i>)	1000U
R7025S	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	10U

R7025M	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	50U
R7025L	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	200U
R7025XL	Pyrophosphatase, Inorganic (yeast)	1000U
R7027S	Thermostable Inorganic Pyrophosphatase	250U
R7027M	Thermostable Inorganic Pyrophosphatase	1250U
R7027L	Thermostable Inorganic Pyrophosphatase	5KU
R7027XL	Thermostable Inorganic Pyrophosphatase	25KU
R7040S	XRN-1	20U
R7040L	XRN-1	100U
R7070S	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	100U
R7070M	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	500U
R7070L	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	2.5kU
R7070XL	<i>E. coli</i> Poly(A) Polymerase	10kU
R7075S	Poly(A) Polymerase Tailing Kit	50-250次
R7090FT	Thermostable RNase H	50U
R7090S	Thermostable RNase H	250U
R7090M	Thermostable RNase H	1000U
R7090L	Thermostable RNase H	5000U
R0722S	Circular RNA Synthesis Kit	20次
R0722M	Circular RNA Synthesis Kit	100次
ST876-500ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	500ml
ST876-100ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml

Version 2023.05.22