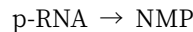


XRN-1

产品编号	产品名称	包装
R7040S	XRN-1	20U
R7040M	XRN-1	100U
R7040L	XRN-1	500U

产品简介:

➤ 碧云天生产的XRN-1, 又称5' -Phosphate Dependent Exonuclease (5' -磷酸依赖的核酸外切酶)。它是由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台通过大肠杆菌表达、纯化获得的一种高活性的5' -3' 核糖核酸外切酶(5' -3' Exoribonucleases), 并要求底物RNA的5' 端为单磷酸修饰, 是一种可用于催化5' 端单磷酸化RNA (p-RNA)以5' →3' 方向降解为NMP的5' 核酸外切酶。XRN-1也可以消化具有5' 端单磷酸化的单链DNA (ssDNA), 但酶切效率较低[1]。XRN-1不能消化具有5' 端三磷酸(5' -ppp)、5' 端二磷酸(5' -pp)、5' 加帽(5' -cap)和5' 端羟基(5' -OH)的RNA、双链DNA (dsDNA) 和5' 端为羟基、三磷酸或二磷酸的单链DNA, XRN-1也不能消化5' 磷酸末端凹陷的双链RNA、DNA与RNA杂合链或形成类似二级结构中的5' 磷酸RNA [1-3]。XRN-1发挥活性需要Mg²⁺ [3], 其催化的反应如下:



- XRN-1的酶学性质使得其可以被应用于选择性消化核糖体RNA (rRNA), 在不依赖于oligo-dT磁珠或琼脂糖凝胶的情况下, 可以从总RNA中分离和富集信使RNA (mRNA), 以便于构建mRNA测序文库[4]。XRN-1也可以用于RNA的5' 末端分析等。
- 碧云天XRN-1水解5' 端单磷酸化RNA的荧光实时分析请参考图1。

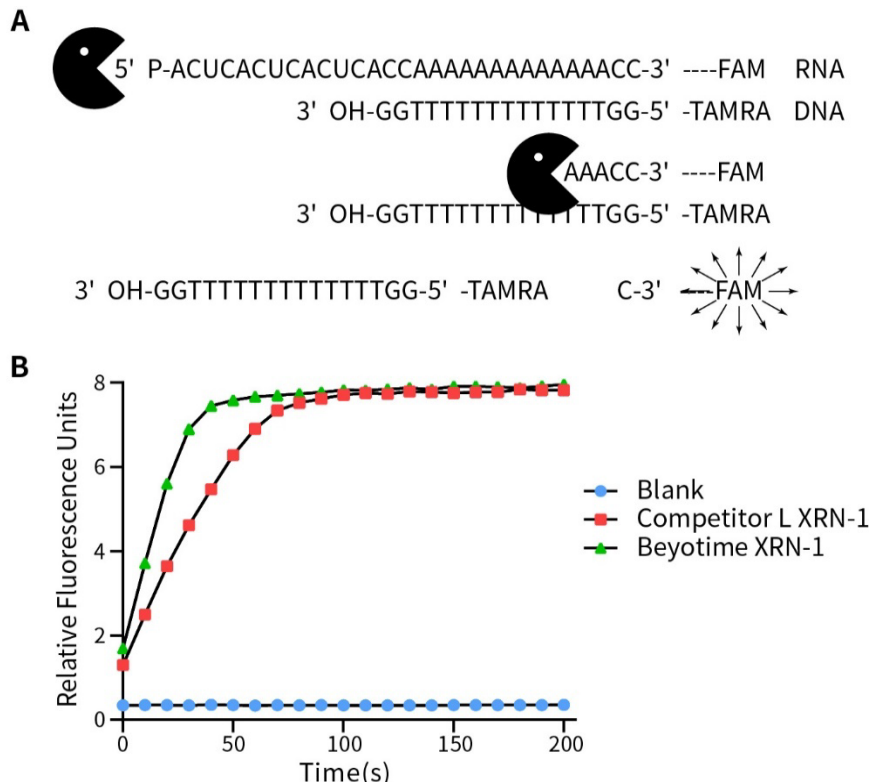


图1. 碧云天XRN-1 (R7040)与国外L公司(Competitor L)的XRN-1对5'端单磷酸化RNA水解效果对比图。图A, 发光原理。分别合成带有荧光基团的单链RNA-FAM和单链DNA-TAMRA, 通过退火得到RNA/DNA杂交链[5], TAMRA由于靠近FAM基团, 可猝灭FAM的荧光。随着XRN-1消化RNA, FAM从退火的双链寡核苷酸中释放, 并在520nm波长处可检测到FAM荧光。图B, 荧光法活性检测。配制100μl反应体系: 50mM Tris-HCl (pH8.0), 100mM NaCl, 2mM MgCl₂, 20U RNase Inhibitor (R0102), 250nM底物RNA/DNA, 0或20nM XRN-1。检测条件: 激发波长494nm, 发射波长520nm, 温度30°C, 每10秒检测一次, 共检测200秒。碧云天与L公司的XRN-1相比, 图中对5' 端单磷酸化RNA的水解效果更优。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。

➤ 碧云天XRN-1对哺乳动物细胞中提取的总RNA中rRNA的水解效果请参考图2。

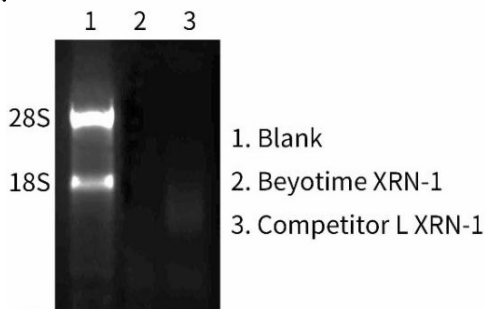


图2. 碧云天XRN-1 (R7040)对哺乳动物细胞总RNA中rRNA的水解效果图。反应体系为20μl, 总RNA含量为1μg, XRN-1为1μl, 反应条件为30°C孵育120分钟, 反应完毕后加入2X RNA Loading Buffer (R0215)终止反应, 随后取20μl用1.5%琼脂糖凝胶电泳检测。如图所示, 1μl XRN-1在30°C条件下, 120分钟可以消化95%以上的rRNA。碧云天与L公司的XRN-1相比, 对rRNA的水解效果基本一致。图中数据仅供参考, 不同实验条件下获得的数据会有一些的差异。

- **来源:** 由大肠杆菌表达, 表达基因为酵母的XRN-1基因。
- **分子量:** 约175kDa。
- **活性定义:** One unit digests 1μg of rRNA substrate into acid-soluble nucleotides in 60 minutes at 30°C under standard assay conditions.
- **纯度:** 不含自身活性之外的RNA酶, 不含自身活性之外的DNA内切酶和外切酶。
- **Storage (Dilution) Buffer:** 20mM Tris-HCl (pH7.5), 500mM NaCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1% Triton X-100 and 50% Glycerol.
- **10X Reaction Buffer:** 500mM Tris-HCl (pH8.0), 1M NaCl, 20mM MgCl₂.
- **失活或抑制:** 反应体系中超过1mM EDTA会对XRN-1的酶活造成抑制[3]。此外, 70°C孵育10分钟可使XRN-1失活。RNase Inhibitor例如碧云天生产的R0102不会抑制其酶活性。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R7040S-1	XRN-1 (1U/μl)	20μl
R7040S-2	10X Reaction Buffer	200μl
R7040S-3	Storage (Dilution) Buffer	200μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7040M-1	XRN-1 (1U/μl)	100μl
R7040M-2	10X Reaction Buffer	1ml
R7040M-3	Storage (Dilution) Buffer	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7040L-1	XRN-1 (1U/μl)	500μl
R7040L-2	10X Reaction Buffer	5ml
R7040L-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. 参考下表在冰浴中配制如下反应体系:

Reagent	Control		Sample	
	Volume	Conc. or	Volume	Conc. or

		amount		amount
Ultrapure Water	(16.5-X) μ l	-	(16.5-X) μ l	-
10X Reaction Buffer	2 μ l	1X	2 μ l	1X
RNase Inhibitor (40U/ μ l)	0.5 μ l	20U	0.5 μ l	20U
RNA Sample	X μ l	1 μ g	X μ l	1 μ g
Storage (Dilution) Buffer	1 μ l	-	-	-
XRN-1 (1U/ μ l)	-	-	1 μ l	1U
Total Volume	20 μ l	-	20 μ l	-

注1: 由于涉及RNA操作, 需要严格按照RNA操作的规范进行, 避免RNase污染, 相关试剂与耗材需要确保是RNase free的。

注2: 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。

注3: 该反应体系中RNase Inhibitor不会抑制XRN-1, 添加是为了防止非特异性RNA降解。

注4: EDTA过多会抑制XRN-1活性, 因此, 不能使用TE等含有EDTA的缓冲液溶解RNA样品, 反应底物RNA样品溶解在RNase free Ultrapure Water中即可; 同时, 该反应体系对RNA样品的纯度与质量要求较高, 否则会影响消化反应结果。

注5: 若需彻底水解5'端三磷酸化转录本, 可额外添加RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH) (R7035)。

2. 反应条件: 30°C孵育60分钟。如果发现效果欠佳, 可以适当延长孵育时间至2-6小时。
3. 孵育完成后, 按照1:1比例加入2X RNA Loading Buffer (R0215)混匀, 根据核酸片段大小选择1.5%琼脂糖凝胶或者15%尿素(7M)聚丙烯酰胺变性胶进行电泳鉴定。

参考文献:

1. Stevens A, Poole TL. J Biol Chem. 1995. 270(27):16063-9.
2. Furuichi Y, LaFiandra A, Shatkin AJ. Nature. 1977. 266(5599):235-9.
3. Langeberg CJ, Welch WRW, McGuire JV, Ashby A, Jackson AD, et al. Biochemistry. 2020. 59(15):1493-1507.
4. Mironov KS, Shumskaya M, Los DA. Biochimie. 2020. 177:63-67.
5. Sinturel F, Pellegrini O, Xiang S, Tong L, Condon C, et al. RNA. 2009. 15(11):2057-62.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D2308-10 μ g	pT3/SP6/T7-RNA Linearized Template (RNA体外转录质粒)	10 μ g
D2310-1 μ g	pT3/SP6/T7-RNA-Template (RNA体外转录质粒)	1 μ g
D2310-100 μ g	pT3/SP6/T7-RNA-Template (RNA体外转录质粒)	100 μ g
D2312-1 μ g	pRNA-T3-T7 (RNA体外转录质粒)	1 μ g
D2312-100 μ g	pRNA-T3-T7 (RNA体外转录质粒)	100 μ g
D2314-1 μ g	pRNA-SP6-T7 (RNA体外转录质粒)	1 μ g
D2314-100 μ g	pRNA-SP6-T7 (RNA体外转录质粒)	100 μ g
D6128S	BsaI	1kU
D6128M	BsaI	5kU
D6128L	BsaI	20kU
D6128XL	BsaI	200kU
D7383-1ml	NTP set (100mM each, Nuclease free)	4 \times 250 μ l
D7385-500 μ l	NTP Mix (10mM each, Nuclease free)	500 μ l
D7385-2ml	NTP Mix (10mM each, Nuclease free)	2ml
D7387-250 μ l	NTP Mix (25mM each, Nuclease free)	250 μ l
D7387-1ml	NTP Mix (25mM each, Nuclease free)	1ml
R0016	Trizol (总RNA抽提试剂)	100ml
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0051	Annealing Buffer for RNA Oligos (5X)	1ml
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
R0215-1ml	2X RNA Loading Buffer	1ml
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
R7035	RNA 5' Pyrophosphohydrolase (RppH)	200U
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 2023.04.14