

PRODUKT INFORMATION

Ribonuclease A aus Rinderpancreas

Art. No. 34390

Produktbeschreibung:

Allgemeines RNase A ist eine Endoribonuklease, die am 3'-Phosphat des Pyrimidinnukleotids spaltet. Die Sequenz pG-pG-pC-pA-pG wird gespalten in pG-pG-pCp und A-pG. Das Enzym hat die höchste Aktivität gegenüber ssRNA¹.

Eigenschaften

- Aktivität: ca. 70 Kunitz U/mg*, Lyophilisat
- Reinheit: min. 70 %
- Molekulargewicht (Mr): ca. 13700 (Monomer)
- Isoelektrischer Punkt (pI): 9,6
- pH-Optimum: 7,0 (Aktivitätsbereich 6 - 10)

Lagerung und Stabilität RNase A ist ein extrem stabiles Enzym, bemerkenswert hitze-resistent. Nach Behandlung mit den meisten denaturierenden Agenzien erfolgt prompte Renaturierung. Das Lyophilisat sollte bei +2 °C bis +8 °C gelagert werden. Stocklösungen werden in TE-Puffer angesetzt und aliquotiert bei –20 °C gelagert.

Applikation

- Isolierung von Nukleinsäuren für PCR, RT-PCR, NGS
- Entfernung von Proteinverunreinigungen
- Verbesserung der Klonierungseffizienz von PCR-Produkten
- Bestimmung der Enzymlokalisierung auf Membranen
- Antigenrückgewinnung der In-situ-Hybridisierung

Inhibition/ Inaktivierung Ribonuklease Inhibitor, Vanadylribonukleosid-Komplexe, Arabino-nukleoside, Zn²⁺, Cu²⁺, Penicillin, Vitamin B12, SDS, DEPC, 4 M Guanidiniumthiozyanat plus 0,1 M 2-Mercaptoethanol. Die meisten Polyanionen haben einen inhibitorischen Effekt. Inaktiviert durch Phenol/Chloroform-Extraktion.

Reaktionsbedingungen Arbeitskonzentration: 1 – 100 µg/ml (abhängig von Anwendung).

Das Enzym ist in einem weiten Bereich von Reaktionsbedingungen aktiv. Bei geringen Salzkonzentrationen (0 bis 100 mM NaCl) spaltet RNase A ss und dsRNA sowie den RNA-Strang in RNA-DNA-Hybriden. Bei NaCl-Konzentrationen von 0,3 M oder höher spaltet RNase A spezifisch ssRNA².

DNase-freie RNase: Lösen Sie RNase A in TE-Puffer mit einer Konz. Von 1 mg/ml und kochen Sie die Lösung für 10 – 15 Minuten. Lagern Sie die Lösung aliquotiert bei –20 °C.

***Einheitendefinition:** 1 U ist die Aktivität, die imstande ist bei 300 nm innerhalb 1 Minute einen Absorptionsabfall äquivalent zur maximal möglichen Veränderung in einer 0,05 %igen Lösung von Hefe RNA bei 25 °C, pH 5,0 zu verursachen.

¹Burrell, M.M., Enzymes of Molecular Biology, Vol. 16, 263 – 270 (1993).

²Asubel, f. M., et al., Current Protocols in Molecular Biology, vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., Brooklyn, NY, 3.13.1, 1994 - 2005