

Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0

Code No. 2315A **Size:** **5,000 U**
Conc.: **40 U/μl**

Description:

Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0 is an updated product of the recombinant protein of porcine liver RNase inhibitor. While this product maintains characteristics similar to RNase inhibitors from porcine liver and human placenta,^{1,2)} the stability of this protein has been increased by introducing a mutation in one of the cysteine residues, which is responsible for the denaturation due to its easy oxidation.^{3,4)} It forms a 1 : 1 complex with RNase A to inhibit RNase activity.⁵⁾ This reaction is reversible, and the inhibitor can be irreversibly inactivated to restore ribonuclease activity by dissociating the complex with urea or sulfhydryl reagent. Moreover, unlike other non-protein competitive inhibitors (e.g., nucleotides and inorganic phosphates), it can easily be removed from the reaction system by phenol extraction. In addition, this product does not inhibit RNase H activity. This product can be directly added in various reaction mixtures such as *in vitro* transcription and RT-PCR, where the integrity of RNA is indispensable.

Storage Buffer: 20 mM HEPES-KOH, pH 7.5
 50 mM KCl
 5 mM DTT
 50% Glycerol

Storage: -20°C

Source:

E. coli carrying the plasmid containing the gene for ribonuclease inhibitor from porcine liver

Properties:

Molecular mass : approx. 52 kDa
Optimum pH : Maximum at pH 7 - 8, though the inhibition is observed in a broad pH range

Unit Definition:

One unit is defined as the amount of protein that inhibits 50% of RNase A activity, when 2',3'-cyclic CMP is used as the substrate for 5 ng of RNase A.

Quality Control Data:

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Precaution for Use:

1. Don't mix the protein vigorously.
2. Include some DTT in the reaction to secure the activity, as far as its concentration doesn't interfere with the reaction (e.g., 1 mM).

Applications:

1. *In vitro* transcription/translation (1 U/μl reaction)^{7,8)}
2. *In vitro* transcription/translation with cell-free extract (20 U/μl reaction)⁷⁾
3. RT-PCR (0.5 U/μl reaction)
4. cDNA synthesis (0.5 U/μl reaction)⁹⁾
5. Polysome isolation (1 U/μl reaction)⁸⁾

* The parentheses show the examples of RNase inhibitor concentration in each reaction mixture.

References:

- 1) Burton L E and Fucci N P. *Int J Pept Protein Res.* (1982) **19**: 372-379.
- 2) Blackburn P, Wilson G, and Moore S. *J Biol Chem.* (1977) **252**: 5904-5910.
- 3) Kim B-M, Schultz L W, and Raines R T. *Protein Sci.* (1999) **8**: 430-434.
- 4) Dickson K A, Haigis M C, and Raines R T. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* (2005) **80**: 349-374.
- 5) Turner P M, Lerea K M, and Kull F J. *Biochem Biophys Res Commun.* (1983) **114**: 1154-1160.
- 6) Blackburn P. *J Biol Chem.* (1979) **254**: 12484-12487.
- 7) Eichler D C, Tatar T F, and Lasater L S. *Biochem Biophys Res Commun.* (1981) **101**: 396-403.
- 8) Scheele G and Blackburn P. *Proc Natl Acad Sci USA.* (1979) **76**: 4898-4902.
- 9) de Martynoff G, Pays E, and Vassart G. *Biochem Biophys Res Commun.* (1980) **93**: 645-653.

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6972 or from our website at www.takarabio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0

Code No. 2315A 容量： 5,000 U
 濃度： 40 U/ μ l

● 製品説明

Recombinant RNase Inhibitor ver.2.0は、porcine liverを由来とするRNase inhibitor 組換え体のバージョンアップ製品である。human placenta や porcine liver 由来のRNase inhibitor と非常によく似た性質^{1,2)}は保持しつつ、不活化の原因となりやすいシステイン残基^{3,4)}に変異を導入したことで酸化耐性が向上し、タンパクの安定性が増している。

InhibitorはRNase Aと1:1の複合体を形成し、リボヌクレアーゼ作用に対し阻害活性を示す。⁵⁾しかし、この反応は可逆的であり、尿素あるいはsulfhydryl 試薬で複合体を解離させることによりリボヌクレアーゼ作用は復活し、inhibitorは不可逆的に失活する。また、従来の拮抗性阻害剤(ヌクレオチド類、無機リン酸類)とは異なり、タンパク性であるので、反応系からフェノール処理により容易に除くことが出来る。なお、RNase H活性は阻害しない。

本製品は、RNAの安定性が必要とされる、*in vitro* transcription や RT-PCR といった様々な反応液中で使用できる。

● 形状 20 mM HEPES-KOH, pH7.5
 50 mM KCl
 5 mM DTT
 50% Glycerol

● 保存 - 20°C

● 起源

E. coli carrying the plasmid containing the gene for ribonuclease inhibitor from porcine liver

● 一般的性質

質量 : 約 52 kDa

至適 pH : 阻害活性は広い pH 域で見られるが、pH7~8で最大

● 活性の定義

5 ng の RNase A の活性を 50%阻害するタンパク量を 1 U とする。
(2',3'-cyclic CMP から RNase A により生成する 3'-CMP を定量)⁶⁾

● 品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトからダウンロードできます。

● 使用上の注意

1. 本タンパクの激しい攪拌は行わないでください。
2. 活性維持のため、目的の反応を阻害しない濃度で DTT を反応液に含有してください(例: 1 mM)。

● 用途

1. *In vitro* transcription/translation (1 U/ μ l reaction)^{7,8)}
2. *In vitro* transcription/translation with cell-free extract (20 U/ μ l reaction)⁷⁾
3. RT-PCR (0.5 U/ μ l reaction)
4. cDNA synthesis (0.5 U/ μ l reaction)⁹⁾
5. Polysome isolation (1 U/ μ l reaction)⁸⁾

※ カッコは各反応液での RNase inhibitor の使用濃度例

● 参考文献

- 1) Burton L E and Fucci N P. *Int J Pept Protein Res.* (1982) **19**: 372-379.
- 2) Blackburn P, Wilson G, and Moore S. *J Biol Chem.* (1977) **252**: 5904-5910.
- 3) Kim B-M, Schultz L W, and Raines R T. *Protein Sci.* (1999) **8**: 430-434.
- 4) Dickson K A, Haigis M C, and Raines R T. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* (2005) **80**: 349-374.
- 5) Turner P M, Lerea K M, and Kull F J. *Biochem Biophys Res Commun.* (1983) **114**: 1154-1160.
- 6) Blackburn P. *J Biol Chem.* (1979) **254**: 12484-12487.
- 7) Eichler D C, Tatar T F, and Lasater L S. *Biochem Biophys Res Commun.* (1981) **101**: 396-403.
- 8) Scheele G and Blackburn P. *Proc Natl Acad Sci USA.* (1979) **76**: 4898-4902.
- 9) de Martynoff G, Pays E, and Vassart G. *Biochem Biophys Res Commun.* (1980) **93**: 645-653.

● 注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。

タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。

ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。

本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v202210Da