RNA 酶残留定量检测试剂盒

产品货号：BP-06-100

珠海宝锐生物科技有限公司
Zhuhai Biori Biotechnology Co.,Ltd
网址：www.biori.com
咨询电话：0756-8699969
邮箱：marketing@biori.com
地址：珠海市香洲区水岸一路88号

RNA 酶残留定量检测试剂盒

产品概述

核糖核酸酶(Ribonuclease，RNase)是一类催化 RNA 降解为小片段的核酸酶。RNase 家族包括 RNase A、RNase B、RNase C、RNase H、S-RNase、RNase P、RNase T 等。其中，Rnase A 是一种广泛应用的核酸内切酶，RNase A 在嘧啶核苷酸残基 C 和 U 的 3'端处高效且专一地催化单链 RNA 骨架上的磷酸二酯键的断裂，形成具有 2'，3'-环磷酸衍生物的寡聚核苷酸。目前，常见的 RNase 残留检测方法主要包括放射性同位素法、分光光度法、荧光淬灭方法和电化学法等等。宝锐生物研发的 RNase 残留定量检测试剂盒是一种用荧光法快速高灵敏检测 RNase A 活性的试剂盒，灵敏度高，最低检出限低至 0.078pg RNase。底物是一种合成的 RNA 寡核苷酸探针，其一端具有 FAM 荧光基团(Fluorophore)又称供体(Donor)，另一端具有 TAMRA 淬灭基团(Quencher)又称受体(Acceptor)。这两个基团的吸收光谱有一定的重叠，当这两个荧光基团间的距离合适时，荧光能量由供体向受体转移，导致供体荧光分子自身的荧光强度衰减。当该底物被 RNase 切割后，底物首尾两端分离，两个基团分开，FAM 的荧光不再被 TAMRA 淬灭，即可检测到 FAM 的荧光，荧光信号的增加速率与酶的数量和活性呈正相关。

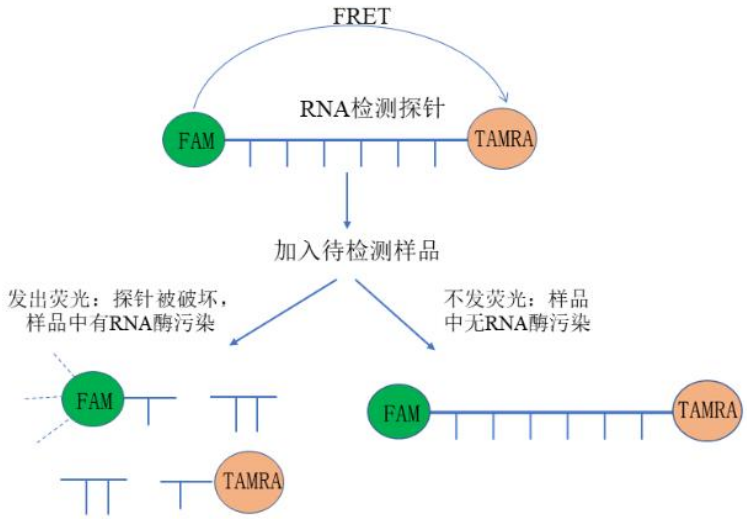


图 1 宝锐 RNA 酶残留检测试剂盒检测原理图

试剂盒组成

产品名称	组分编号	组分名称	规格
RNA 酶残留定量检测试剂盒（BP-06-100）	BP-AS-18	RNase A（10mg/mL）	10μL
	BP-AS-19	RNase Substrate	1mL
	BP-AS-20	10× Reaction Buffer	1mL
	BP-AS-11	RNase-free ddH_2O	1mL*5

保存条件

-20±5°C 保存，一年有效。其中 RNase Substrate（BP-AS19）须避光保存。

实验流程

1. 检测试剂的准备

① 使用前将 10×Reaction Buffer、RNase Substrate 和 RNase-free ddH_2O 等试剂平衡至室温后备用。RNase A (10mg/mL)

珠海宝锐生物科技有限公司
Zhuhai Biori Biotechnology Co.,Ltd
网址：www.biori.com
咨询电话：0756-8699969
邮箱：marketing@biori.com
地址：珠海市香洲区水岸一路88号

存放于冰上备用，使用结束后-20℃保存。

② 将 10×Reaction Buffer 用 RNase-free ddH_2O 稀释为 1×。例如取 500μL 10×Reaction Buffer，加入 4500μL RNase-free ddH_2O，混匀，即得 5mL 的 1×Reaction Buffer。

2. 待测样品的准备

用 1×Reaction Buffer 将待测样品稀释至适当浓度(首次检测不确定浓度范围时，可以进行梯度稀释)，置于冰上备用。

3. RNase A 标准曲线的设置

将 RNase A (10mg/mL)用 1×Reaction Buffer 稀释至适当的浓度梯度。初次检测时可设置为 0、0.0078、0.0156、0.0313、0.0625、0.125、0.25、0.5、1pg/μL，分别取 10μl 加入 96 孔板中，此时，RNase A 量分别为 0、0.078、0.156、0.313、0.625、1.25、2.5、5、10pg。可自行设置适宜的 RNase A 浓度进行标准曲线的设定。

4. 检测体系的设置

参照如下体系依次加入试剂盒各组分及样品；为获得更加可靠的检测结果，建议每个样品设置平行孔或 3 个复孔。

Reagent	Blank Control	Sample	Positive Control
1×Reaction Buffer	90μL	80μL	80μL
RNase A	0	0	10μL
Sample	0	10μL	0
RNase Substrate	10μL	10μL	10μL
Total Volume	100μL	100μL	100μL

注：若已设置 RNase A 标准曲线，则无需设置阳性对照。

5. 检测

① 振荡混匀 1-2 分钟，确保混合充分。

② 混匀后立即使用荧光酶标仪进行荧光测定。设置荧光酶标仪温度为 37°C，激发波长为 490nm、发射波长为 520nm，每 3 分钟或 5 分钟读取一次数值。连续测定的时间可以根据待测样品中 RNase 活性进行调整，但是需确保获得 6 个点以上的数据。

6. 计算

进行 RNase A 检测时，可通过绘制的标准曲线及样品荧光强度值进行样品中 RNase A 酶活的计算。本试剂盒用于 RNase A 标准品的检测结果参考图 2。

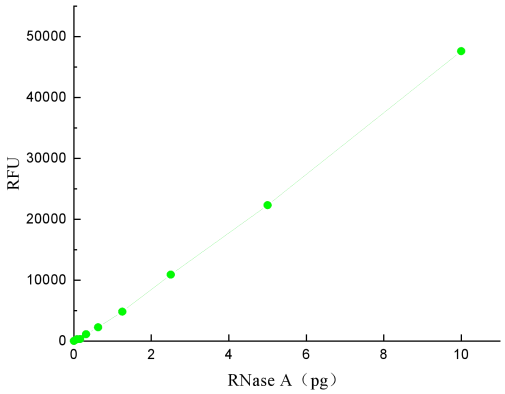


图 2 宝锐 RNA 酶残留检测试剂盒对 RNase A 标准品的检测效果

珠海宝锐生物科技有限公司
Zhuhai Biori Biotechnology Co.,Ltd
网址:www.biori.com
咨询电话:0756-8699969
邮箱:marketing@biori.com
地址:珠海市香洲区水岸一路88号

注意事项

1. 建议在超净工作台或生物安全柜等相对洁净的环境中进行核糖核酸酶的活性检测，以免待检样品受环境中核糖核酸酶的影响。
2. 10×Reaction Buffer、RNase Substrate 和 RNase-free ddH_2O 需完全平衡至室温后再使用。RNase Substrate 首次使用时建议先离心数秒然后再使用。
3. 操作时请注意防止试剂被 RNase 污染，如有必要，每次实验前可使用核酸酶清除剂清除环境中存在的 RNase。
4. 检测时建议使用 96 孔黑板。
5. 实验过程中注意个人防护。
6. 使用前应混匀，避免反复冻融。

珠海宝锐生物科技有限公司
Zhuhai Biori Biotechnology Co.,Ltd
网址：www.biori.com
咨询电话：0756-8699969
邮箱：marketing@biori.com
地址：珠海市香洲区水岸一路88号