

RNA 5' Polyphosphatase

Cellsript



400 Units

Artikel-Nr.: 150810 | Biozym

171,60 €*

*zzgl. MwSt. zzgl. Versandkosten

Beschreibung

Zur Generierung von 5'-monophosphorylierte RNA mit patentierter Enzymtechnologie

RNA 5'-Polyphosphatase ist ein patentiertes Enzym, das die Entfernung von α - und β -Phosphatgruppen aus 5'-triphosphorylierter und 5'-diphosphorylierter RNA katalysiert, wodurch 5'-monophosphorylierte RNA entsteht. Die resultierende 5'-monophosphorylierte RNA kann als Substrat in Workflows zur Zirkularisierung oder Endmarkierung verwendet werden. Gecappte RNA ist kein Substrat für das Enzym, wodurch die spezifische Entfernung von ungecappter RNA aus mRNA-Präparaten ermöglicht wird.

Die Vorteile:

- Flexible Protokolle: Zwei Protokolle für leicht und schwer zu behandelnde Proben.
- Spezifische Entfernung: Entfernen Sie uncapped RNA aus mRNA-Präparaten.
- Ermöglicht Zirkularisierungs-Workflows: Bereiten Sie 5'-End-RNA-Substrate für die RNA-Ligase-basierte Zirkularisierung vor.
- Ermöglicht End-Tagging-Reaktionen: Bereiten Sie 5'-End-RNA-Substrate für T4-RNA-Ligase-basierte Reaktionen vor.

Produktbeschreibung:

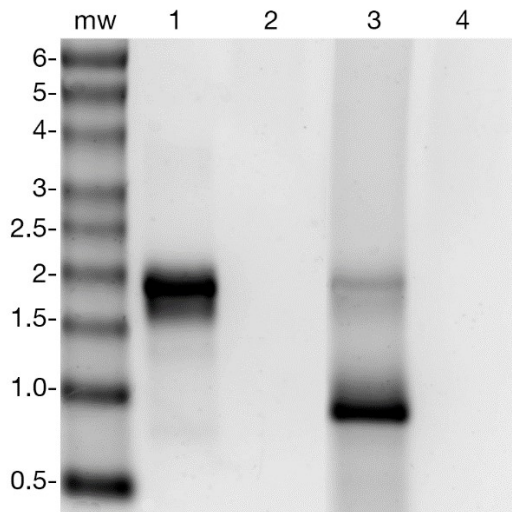
RNA 5'-Polyphosphatase kann für folgende Anwendungen eingesetzt werden:

- Entfernung von ungecappter RNA aus einer mRNA-Präparation in Verbindung mit einer XRN1- (5'-Monophosphat-abhängige Exonuklease) Behandlung.
- Vorbereitung von 5'-End-RNA-Substraten für RNA-Ligase-basierte Zirkularisierungsreaktionen.

- Vorbereitung von 5'-End-RNA-Substraten für T4-RNA-Ligase-basierte Reaktionen (End-Tagging).

RNA 5'-Polyphosphatase aktiv gegen Nukleosidtriphosphate und wird durch anorganisches Phosphat, ein natürliches Reaktionsprodukt, gehemmt. Die Entfernung von nicht eingebauten Nukleotiden und anorganischen Phosphaten aus abgeschlossenen Transkriptionsreaktionen wird empfohlen, um die volle enzymatische Aktivität für das vorgesehene RNA-Substrat zu erreichen.

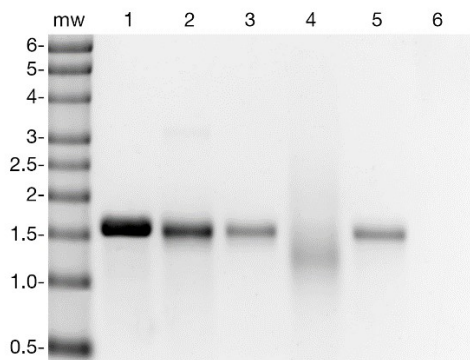
Produkt Performance



mw) RNA molecular weight markers (kb)

- 1) 1.85-kb RNA, treated with XRN1-only
- 2) 1.85-kb RNA, treated with both RNA 5' Polyphosphatase and XRN1
- 3) 0.92-kb RNA, treated with XRN1-only
- 4) 0.92-kb RNA, treated with both RNA 5' Polyphosphatase and XRN1

Abbildung 1. Zwei verschiedene 5'-Triphosphat-Primärtranskript-RNAs wurden mit RNA-5'-Polyphosphatase unter Verwendung des Standardprotokolls (ohne Vorwärmdenaturierung) behandelt. Nach der 30-minütigen Inkubation wurden zusätzliches MgCl₂ (für die Pufferkompatibilität) und XRN1 (5'-Monophosphat-abhängige Exonuklease) zur Reaktion hinzugefügt, um das RNA-5'-Polyphosphatase-Reaktionsprodukt zu verdauen. Nach der Behandlung mit RNA-5'-Polyphosphatase und XRN1 wurden die 1,85-kb-RNA (Spur 2) und die 0,92-kb-RNA (Spur 4) verdaut.



mw) ssRNA molecular weight markers (kb)

- 1) Untreated 1.57-kb IVT RNA
- 2) Treated with XRN1-only (+pre heat denaturation)
- 3) Treated with RNA 5' Polyphosphatase (-pre heat denaturation) and XRN1 (-pre heat denaturation)
- 4) Treated with RNA 5' Polyphosphatase (-pre heat denaturation) and XRN1 (+pre heat denaturation)
- 5) Treated with RNA 5' Polyphosphatase (+pre heat denaturation) and XRN1 (-pre heat denaturation)
- 6) Treated with RNA 5' Polyphosphatase (+pre heat denaturation) and XRN1 (+pre heat denaturation)

Abbildung 2. Eine 1,57-kb-5'-Triphosphat-Primärtranskript-RNA mit stabiler Sekundärstruktur am 5'-Ende wurde mit RNA-5'-Polyphosphatase unter Verwendung des alternativen Protokolls (mit Vorwärmdenaturierungsschritt) behandelt. Nach der 30-minütigen Inkubation wurden zusätzliches MgCl₂ (für die Pufferkompatibilität) und XRN1 (5'-Monophosphat-abhängige Exonuklease) zur Reaktion hinzugefügt, um das RNA-5'-Polyphosphatase-Reaktionsprodukt zu verdauen. Die Hitzedenaturierung vor der Behandlung mit RNA-5'-Polyphosphatase und XRN1 verbesserte die Reaktionseffizienz (Spur 6).

FAQs - Häufig gestellte Fragen zur RNA 5'-Polyphosphatase

Welche nachgelagerten Anwendungen profitieren von der Behandlung mit RNA-5'-Polyphosphatase?

RNA-5'-Polyphosphatase wird häufig in Arbeitsabläufen eingesetzt, die die Zirkularisierung von RNA, Endmarkierung, Adapterligation, RNA-Stabilitätsstudien und die Reinigung von gekapptem mRNA beinhalten. Anwendungsgebiete sind: Forschung sowie die Entwicklung von Therapeutika und Impfstoffen.

Wie beeinflussen RNA-Sekundärstrukturen die Performance des Enzyms?

Stabile Sekundärstrukturen in der Nähe des 5'-Endes, wie Hairpins oder intermolekulare Doppelstränge, können den Zugang des Enzyms einschränken. Eine thermische Denaturierung der RNA vor der Reaktion oder längere Inkubationszeiten können die Umwandlungseffizienz verbessern.

Wie sollte RNA vor der Behandlung vorbereitet werden?

RNA sollte gereinigt werden, um nicht eingebaute Nukleotide und anorganisches Phosphat aus Transkriptionsreaktionen zu entfernen. Gereinigte RNA sollte in RNase-freiem Wasser oder RNase-freiem TE-Puffer (10 mM Tris-HCl, pH 7,5, 1 mM EDTA) resuspendiert werden.

Inhalt des Kits und Lagerung:

Components:

RNA 5' Polyphosphatase, 20 U/μl in 50% glycerol, 50 mM Tris-HCl, pH 7.5, 0.1 M NaCl, 0.1 mM EDTA and 0.1% Triton® X-100.

Volume:

20 μl

Components:

10X RNA 5' Polyphosphatase Reaction Buffer 0.5 M HEPES-KOH, pH 7.5, 1 M NaCl, 10 mM EDTA, 1% β-mercaptoethanol, and 0.1% Triton X-100.

Volume:

100 μl

Wichtig Bei -20 °C in einem Gefrierschrank ohne Abtaufunktion lagern. Nicht bei -70 °C lagern.