

mRNA Interferase™ -MazF

Code No. 2415A **Size:** **1,000 U**
Conc.: **20 U/μl**

Supplied Reagent:
5X MazF Buffer **1 ml**

Description:

MazF is a toxin protein in the toxin-antitoxin module of *E. coli*, having endoribonuclease activity which specifically cleaves single-stranded RNA at 5' end of ACA sequence. This enzyme does not cleave double-stranded RNA, double-stranded DNA or single-stranded DNA. This product, mRNA Interferase-MazF, is supplied as a fusion protein of *E. coli* MazF and trigger factor which is one of *E. coli* chaperon proteins.

Storage Buffer:

20 mM Sodium phosphate, pH 6.0
0.01% Tween 20
50% Glycerol

Storage: -20°C

Source: Expressed as a recombinant protein in *Escherichia coli*

Unit definition:

One unit is the amount of enzyme that cleaves 1 pmol of standard substrate (ROX-5'-GATAUACATATCT-eclipse; the underlined region are composed of RNA) for 10 min at 37°C and pH 7.5.

Buffer composition for unit definition:

40 mM Sodium phosphate, pH 7.5
0.01% Tween 20

Supplied reagent: 5X MazF Buffer

200 mM Sodium phosphate, pH 7.5
0.05% Tween 20

Quality Control Data :

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

Application: Limited digestion of ssRNA

Application Example:

1) Cleavage of 30 base ssRNA including one ACA sequence

30 base ssRNA* (100 pmol/μl)	1.0 μl
mRNA Interferase-MazF (20 U/μl)	1.0 μl
5X MazF Buffer	2.0 μl
DEPC-treated water	6.0 μl
Total	10.0 μl

* RNA sequence: 5'-UAAGAAGGAGAUUAACAAUGAAUCAAUC-3'

The ssRNA was completely cleaved into 16 bases and 14 bases after incubation at 37°C for 10 min.

2) Cleavage of 584 base ssRNA including ACA sequence at 13 sites

584 base ssRNA (1 pmol/μl)	0.5 μl
mRNA Interferase-MazF (20 U/μl)	1.0 μl
5X MazF Buffer	1.0 μl
RNase-free water	2.5 μl
Total	5.0 μl

The ssRNA was cleaved into each fragment after the incubation for 15 min at 37°C.

Note:

1. This enzyme specifically cleaves at ACA sequence of ssRNA, but it may cleave AC site depending on the sequences around the AC site.
2. This enzyme does not cleave dsRNA. Accordingly it may not cleave at all ACA sequences included in RNA due to the influence of the secondary structure of the substrate.
3. The addition of salt, especially divalent cation, e.g. Mg²⁺, into the reaction mixture inhibits the enzyme activity. DTT does not have any effect on the reaction.
4. The cleaved fragment by this enzyme cannot be applied directly to ligate by RNA ligase, because it has 2', 3'-cyclic phosphate at one of its termini and 5'-OH at the other.

References:

- 1) Zhang Y, Zhang J, Hara H, Kato I, and Inouye M. *J Biol Chem.* (2005) **280**: 3143-3150.
- 2) Zhang Y, Zhang J, Hoeflich K P, Ikura M, Qing G, and Inouye M. *Mol Cell.* (2005) **12**: 913-923.
- 3) Munoz-Gomez A J, Santos-Sierra S, Berzal-Herranz A, Lemonnier M, and Diaz-Orejas R. *FEBS Lett.* (2004) **567**: 316-320.

Interferase is a trademark of Takara Bio Inc.

1. PURCHASER shall not transfer or sell copies of PRODUCT, component of PRODUCT or derivatives of PRODUCT, or products obtained through the use of PRODUCT to any other party.

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.takara-bio.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.

mRNA Interferase™ -MazF

Code No. 2415A 容量： 1,000 U
濃度： 20 U/μl

添付試薬： 5 × MazF Buffer 1 ml

●製品説明

MazFは大腸菌のトキシン-アンチトキシンモジュールのトキシンタンパク質で、1本鎖RNA中のACA配列の5'側を特異的に切断するエンド型リボヌクレアーゼ活性を有する¹⁾²⁾。2本鎖RNA、2本鎖DNAおよび1本鎖DNAは切断しない。本製品は、MazFを大腸菌のシャペロンであるトリガーファクターとの融合タンパク質として提供している。

●形状

20 mM リン酸ナトリウム緩衝液、pH6.0
0.01% Tween 20
50% グリセロール

●保存 - 20℃

●起源 組換え体大腸菌で発現

●活性の定義

37℃、pH7.5において、10分間に1 pmolの標準基質 (ROX-5'-GATAUACATATCT-eclipse；下線部分はRNA) を切断する酵素活性量を1 unit とする。

●活性測定用バッファー組成

40 mM リン酸ナトリウム緩衝液、pH7.5
0.01% Tween 20

●添付試薬組成：5 × MazF Buffer

200 mM リン酸ナトリウム緩衝液、pH7.5
0.05% Tween 20

●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のドキュメントセンターからダウンロードできます。

●用途 1本鎖RNAの限定分解

●反応例

1) ACA配列を1カ所含む30 basesの1本鎖RNAの切断

30 base ssRNA* (100 pmol/μl)	1.0 μl
mRNA Interferase-MazF (20 U/μl)	1.0 μl
5 × MazF Buffer	2.0 μl
DEPC処理水	6.0 μl
Total	10.0 μl

*: RNA配列: 5'-UAAGAAGGAGAUUAUACAUAUGAAUCAAAUC-3'

37℃にて10分間反応すると、16 basesと14 basesに完全に分解された。

2) ACA配列を13カ所含む584 basesの1本鎖RNAの切断

584 base ssRNA (1 pmol/μl)	0.5 μl
mRNA Interferase-MazF (20 U/μl)	1.0 μl
5 × MazF Buffer	1.0 μl
RNase-free水	2.5 μl
Total	5.0 μl

37℃にて15分間反応すると、各断片に分解された。

●使用上の注意

1. 本酵素は1本鎖RNAのACA配列を特異的に切断するが、周辺配列によってはAC配列も切断する場合があることが報告されている³⁾。
2. 本酵素は2本鎖RNAを切断しないため、基質の高次構造の影響等により、RNA中のすべてのACA配列を切断しない場合もある。
3. 反応系への塩類、特にMg²⁺などの2価カチオンの添加は、本酵素反応を抑制する。DTTは影響しない。
4. 本酵素による切断末端は2', 3'-cyclic phosphate および5'-OHとなるため、そのままRNA ligaseでライゲーションすることはできない。

●参考文献

- 1) Zhang Y, Zhang J, Hara H, Kato I, and Inouye M. *J Biol Chem.* (2005) **280**: 3143-3150.
- 2) Zhang Y, Zhang J, Hoeflich KP, Ikura M, Qing G, and Inouye M. *Mol Cell.* (2005) **12**: 913-923.
- 3) Munoz-Gomez A J, Santos-Sierra S, Berzal-Herranz A, Lemonnier M, and Diaz-Orejas R. *FEBS Lett.* (2004) **567**: 316-320.

1. 本製品は研究目的のみ使用が許可されています。本製品または、本製品を利用して製造したものを商業目的で使用するには、別途、商業利用契約の締結が必要となります。
2. 本製品、その構成部分またはその誘導体、ならびにこれらで製造されたものを第三者に譲渡（無料配付、販売）することは許可されておりません。

●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。