

RNase H

目录号：AE2351

使用前请仔细阅读说明书

产品说明

核糖核酸酶 H (RNase H) 是一种核糖核酸内切酶，它能够特异性地水解杂交到 DNA 链上的 RNA 的磷酸二酯键。该酶不能消化单链 RNA、单链或双链 DNA。主要用于 cDNA 第二链合成时除去 mRNA；以及一步法 RT-PCR 中去除 mRNA 链，生成 cDNA 单链，提高 cDNA 与引物的配对效果，改善 RT-PCR 效果。

本公司 RNase H 是重组表达，并经多步纯化制备的大肠杆菌 RNase H 重组蛋白。

活性定义

1 单位指在温度为 37°C，1× RNase H 反应缓冲体系的条件下，20min 内能水解 20 pmol 荧光标记的 50 bp RNA-DNA 杂交链成 1 nmol 核苷酸所需的酶量。

活性测定条件

50 mM Tris-HCl, 75 mM KCl, 3 mM MgCl₂, 10 mM DTT(pH 8.3 @ 25°C), 37°C 温育。

浓度：5U/μl

保存条件：-20°C 保存

特点

- 不消化单链 RNA、单链或双链 DNA
- 热失活：65°C×20 分钟

适用范围

- 除去杂交到 poly(dT) 上的 mRNA poly(A)
- 在 cDNA 第二链合成时除去 mRNA

产品包装规格及组成

Component	AE2351A	AE2351B
RNase H	250U	1250U
10× RNase H Buffer	0.2ml	1.0ml

质量控制

相关测试表明无外源内切、外切脱氧核糖核酸酶、RNase 污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

酶贮存缓冲液

10mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 200 μg/ml BSA, 50% Glycerol, pH 7.4 @ 25°C。

注意事项

- 本 RNase H 为常温酶，在 16-42°C 范围内具有高活性，最佳反应温度为 32-37°C。
- 本酶不耐高温，因此反应温度不能高于 42°C。

应用实例

1、RT-PCR 去除 RNA/DNA 杂合双链的 RNA 链

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× PCR Buffer	5
Primer-F (10uM)	2
Primer-R (10uM)	2
dNTP (2mM)	5
RT 反转录产物	100-200ng
RNase H (5U/ul)	1
Taq DNA 聚合酶(5U/ul)	0.5
H ₂ O	Variable
总体积	50

2) 35°C 反应 5-10min;

3) PCR 反应。

4) 琼脂糖电泳检测 DNA，或进行后续实验

2、cDNA 第二链合成时除去 mRNA

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× EcDNApol Buffer	5
Primer-F (10uM)	2
dNTP (2mM)	5
RT 反转录产物	100-200ng
RNase H (5U/ul)	1
Ec DNA 聚合酶大片段(10U/ul)	1
H ₂ O	Variable
总体积	50

2) 35°C 反应 15-30min;

3) 琼脂糖电泳检测 DNA，或进行后续实验

警告: 本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。