

Tth RNase H

目录号：AE2352

使用前请仔细阅读说明书

产品说明

Tth RNase H 特异性识别并切割 RNA-DNA 杂交体中 RNA 序列的磷酸二酯键，同时保持 DNA 序列完整。这种热稳定的核酸酶具有与大肠杆菌 RNase H 相同的酶学性质，但在更高的温度下具有活性，最适活性在 60 -70°C。这些特性允许在需要更高的检测温度的应用中使用。适合于 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 Tth RNase H 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 单位指在温度为 50°C，1× Tth RNase H 反应缓冲体系的条件下，20min 内水解 40 pmol 荧光标记的 25 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), ≥50°C 温育。

浓度：10U/μl

保存条件：-20°C 保存

特点

- 不消化单链 RNA、单链或双链 DNA
- 高温酶 35-75°C 都有活性，活性随温度升高而增加，推荐温度为 50-65°C

适用范围

- cDNA 第二链合成时除去 mRNA
- RT-PCR 去除 RNA/DNA 杂合双链的 RNA 链，提高 PCR 效果
- RT-LAMP、RT-RPA 等恒温扩增中去除 RNA/DNA 杂合链的 RNA 链，提高恒温扩增效果
- 杂交到 Oligo(dT) 上的 mRNA poly(A) 尾的去除
- 高严谨度的 RNA 结构图谱制备和 RNA 位点特异性切割

产品包装规格及组成

Component	AE2352A	AE2352B
Tth RNase H	250U	1250U
10× Tth 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

50mM Tris-HCl, 1 M NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM Triton® X-100, 50% Glycerol, pH 7.5@ 25°C。

注意事项

- RNase H 活性不受核酸酶抑制剂蛋白的抑制
- 高温酶，与 PCR 酶的反应温度兼容匹配
- 蛋白酶 K 处理或添加过量 EDTA 使其失活

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
Tth RNase H	1
Taq DNA 聚合酶(5U/ul)	0.5
H ₂ O	Variable
总体积	50

2) 65°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× Buffer	5
Primer-F (10uM)	2
dNTP (2mM)	5
RT 反转录产物	100-200ng
Tth RNase H	1
Pfu DNA 聚合酶(2U/ul)	0.5
H ₂ O	Variable
总体积	50

2) 50-65°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。