

RNase HII

目录号: AE2354

使用前请仔细阅读说明书

产品说明

RNase HII 是一种内切核糖核酸酶，在 DNA 双链的背景下，它优先将 5'端剪断到一个核糖核酸上。该酶留下 5'磷酸和 3'羟基末端。RNase HII 还将沿着冈崎片段的 RNA 部分切割多个位点。本公司 RNase HII 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

37°C、1× AM BufferB 反应缓冲体系下，30 min 内切断 100 pmole 含有单个核糖核苷酸的合成双链 DNA 所需的酶量。

活性测定条件

AM BufferB, 100ug/ml BSA, 37°C温育。

浓度: 5U/μl

保存条件: -20°C可保存 2 年，避免反复冻融

特点与适用范围

- 切割含有核糖核苷酸的 dsDNA 产物
- 当与 T7 Endo I 一起使用时，在掺入的核糖核苷酸的位点产生双链断裂
- 冈崎片段 RNA 部分的降解

产品包装规格及组成

Component	AE2354A	AE2354B
RNase HII	250U	1250U
10× AM BufferB	0.3ml	1.5ml

质量控制

经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

酶贮存缓冲液

20mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 7.5@ 25°C。

注意事项

- 与 RNaseH 相比，RNaseHII 表现出较低的 RNA/DNA 杂交链内切酶活性
- 冈崎片段优先在 RNA/DNA 序列交界处的核糖核酸处产生 5'缺口
- 与 RNA/DNA 杂交底物或 Okazaki 片段相比，RNaseHII 更喜欢含有单个核苷酸的双链 DNA
- 0.1%SDS 孵育足以灭活核糖核酸酶 HII。

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

2) 37°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、dsDNA 中单一核糖的切割

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× Buffer	2
含单一 RNA 碱基的 dsDNA	10-50pmole
EcRNase HII (5U/ul)	1
H ₂ O	Variable
总体积	20

2) 37°C 反应 15-30min;

3) 8M 尿素变性 PAGE 电泳检测 dsDNA 切割结果，或进行后续实验

3、与 T7 Endo I 一起在 dsDNA 核糖核苷酸的位点产生双链断裂

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× Buffer	3
含单一 RNA 碱基的 dsDNA	10-50pmole
T7 endo I (10U/ul)	1
EcRNase HII (5U/ul)	1
H ₂ O	Variable
总体积	30

2) 37°C 反应 15-30min;

3) 8M 尿素变性 PAGE 电泳检测 dsDNA 切割结果，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。