碧云天 Beyotime
碧云天网站 微信公众号
碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-1683301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

RNase H

产品编号	产品名称	包装
D7089	RNase H	100U

产品简介：

- RNase H，即Ribonuclease H，中文名为核糖核酸酶H，是一种核糖核酸内切酶，可以特异性地水解DNA-RNA杂合链中的RNA。RNase H不能水解单链或双链DNA或RNA中的磷酸二酯键，即不能消化单链或双链DNA或RNA。
- **特点：**特异性消化DNA-RNA杂合链中的RNA，常用于cDNA第二链的合成。
- **用途：**DNA-RNA杂合链中去除RNA，例如cDNA第二条链合成前去除mRNA；通过互补的DNA序列实现对RNA的定点剪切；除去杂交到poly(dT)上的mRNA中的poly(A)；体外多腺苷酸化反应(polyadenylation reaction)产物研究。
- **来源：***E.coli* MRE-600细胞。
- **分子量：**约18.4kDa (单体)。
- **活性定义：**37ºC20分钟内，能够催化1nmol杂合双链中的RNA形成酸可溶性核糖核苷酸形式所需的酶量定义为1个活性单位。
- **活性检测条件：**20mM Tris-HCl (pH7.8)，40mM KCl，8mM $MgCl_2$，1mM DTT，24µM [3H]-poly(A).poly(dT)，0.03mg/ml BSA ，4% (v/v) glycerol。
- **纯度：**不含DNA内切酶和外切酶，不含其它核糖核酸酶。
- **酶储存溶液：**25mM HEPES-KOH (pH8.0)，50mM KCl，1mM DTT，1mM EDTA，0.1mg/ml BSA，50% (v/v) glycerol。
- **Reaction Buffer (10X)：**200mM Tris-HCl (pH7.8)，400mM KCl，80mM $MgCl_2$，10mM DTT。
- **失活或抑制：**65ºC加热10分钟可使RNase H失活。金属离子螯合剂和巯基封闭剂均能抑制RNase H活性。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D7089-1	RNase H (5U/µl)	100U
D7089-2	Reaction Buffer (10X)	0.2ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20ºC保存。

注意事项：

- 酶使用时宜存放在冰盒内或冰浴上，使用完毕后宜立即放置于-20ºC保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

DNA-RNA杂合链中去除RNA：

a. 用反转录酶，例如BeyoRT M-MuLV反转录酶或BeyoRT M-MuLV反转录酶(RNase H-)合成cDNA第一条链，70ºC孵育10分钟终止反应。

b. 在冰浴上向已经合成第一条链的20µl反应体系中依次加入如下试剂：

Reaction Buffer (10X)	2µl
无核酸酶去离子水	17.8µl
RNase H (5U/µl)	0.2µl

c. 按上述体系配好之后，轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用 Vortex 在最低速度轻轻混匀)，随后离心沉淀液体。

d. 37ºC 孵育 1 小时。

e. 加入 2.5µl 0.5M EDTA(pH8.0)混匀，以终止反应。

f. 后续可以使用酚氯仿抽提、乙醇沉淀等方法纯化合成的双链 cDNA，也可以使用适当的 DNA 纯化试剂盒进行纯化。DNA 纯化试剂盒(D0033)可以向碧云天订购。

说明：其他情况DNA-RNA杂合链中去除RNA的条件可以参考上述条件进行。RNase H反应的pH范围约在7.5-8.3均可。

杂合链中RNA的去除和cDNA第二链的合成：

a. 用反转录酶，例如BeyoRT M-MuLV反转录酶(D7153)、BeyoRT M-MuLV反转录酶(RNase H-)(D7159)或BeyoRT cDNA第一

链合成试剂盒(RNase H-)(D7166)合成cDNA第一条链，70ºC孵育10分钟终止反应。

b. 在冰浴上向已经合成第一条链的20μl反应体系中依次加入如下试剂：

Reaction Buffer (10X) for DNA Polymerase I	8μl
无核酸酶去离子水	68.8μl
RNase H (5U/μl)	0.2μl
DNA Polymerase I, E.coli	3μl (30U)

c. 按上述体系配好之后，轻轻混匀(可以用移液器吹打混匀或用 Vortex 在最低速度轻轻混匀)，随后离心沉淀液体。

d. 15ºC 孵育 2 小时。(注意：反应温度不能超过 15ºC)

e. 加入 5μl 0.5M EDTA(pH 8.0)混匀，以终止反应。

f. 后续可以使用酚氯仿抽提、乙醇沉淀等方法纯化合成的双链 cDNA，也可以使用适当的 DNA 纯化试剂盒进行纯化。DNA 纯化试剂盒(D0033)可以向碧云天订购。

注：Reaction Buffer (10X) for DNA Polymerase I：500mM Tris-HCl(pH 7.5 at 25ºC)，100mM $MgCl_2$，10mM DTT。

其他用途请参考上述用途或相关文献资料进行。

使用本产品的文献：

1. Wu Y, Dong X, Kadowaki T.Characterization of the Copy Number and Variants of Deformed Wing Virus (DWV) in the Pairs of Honey Bee Pupa and Infesting Varroa destructor or Tropilaelaps mercedesae.Front Microbiol . 2017 Aug 22;8:1558.

Version 2021.09.01