

RNase H

产品编号	产品名称	包装
R7088S	RNase H	250U
R7088M	RNase H	1000U
R7088L	RNase H	5000U

产品简介:

- 碧云天生产的RNase H, 即Ribonuclease H, 中文名为核糖核酸酶H, 是从大肠杆菌表达纯化获得的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。RNase H广泛用于消化降解cDNA第二链合成后形成的DNA和RNA杂合双链中的RNA, 或用于去除杂交到oligo (dT)上的mRNA poly(A)等。
- 碧云天生产的RNase H催化降解RNA:DNA杂合双链中RNA链的效果请参考图1。

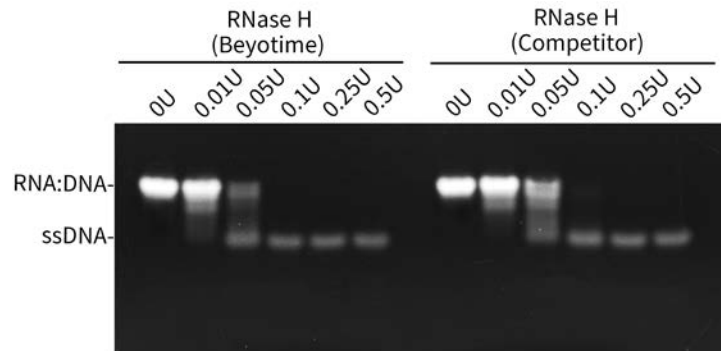


图1. 碧云天生产的RNase H催化降解RNA:DNA杂合双链中RNA链的效果图。使用本产品或N公司(Competitor)的RNase H, 在20 μ l反应体系(50mM Tris-HCl pH8.3, 75mM KCl, 3mM MgCl₂, 10mM DTT)中, 加入400ng RNA:DNA杂合双链, 以及图中指定量的本产品或国外N公司的RNase H, 37 $^{\circ}$ C孵育20分钟进行反应, 反应完毕后立即冰浴3-5分钟并加入1 μ l 0.5M EDTA以终止反应。取出5 μ l反应液, 加入1 μ l 6X DNA Loading Buffer (D0071), 然后进行15%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(180V电泳45分钟)之后, 用NA-Red (D0128/D0130) (1:2000稀释)室温染色7分钟, 随后拍照观察结果。如图所示, 本产品与N公司的产品相比, 具有类似的催化效果。图中效果仅供参考。

- **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RNA; RT-PCR/RT-qPCR实验中, cDNA一链合成后去除RNA; 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; DNA-RNA杂合双链的鉴定。
- **来源:** 纯化自携带编码大肠杆菌RNase H核糖核酸内切酶基因的*E.coli*重组菌株。
- **分子量:** 约18.4kDa (单体)。
- **活性定义:** One unit is defined as the amount of enzyme required to produce 1nmol of ribonucleotides from 20 picomoles of a fluorescently labelled 50 base pair RNA-DNA hybrid in a total reaction volume of 50 μ l in 20minutes at 37 $^{\circ}$ C.
- **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:** 10mM Tris-HCl, 50mM KCl, 1mM DTT, 0.1mM EDTA, 200 μ g/ml BSA, 50% (v/v) glycerol, (pH7.4 @25 $^{\circ}$ C)。
- **Reaction Buffer (10X):** 500mM Tris-HCl, 750mM KCl, 30mM MgCl₂, 100mM DTT, (pH8.3 @25 $^{\circ}$ C)。
- **失活或抑制:** 65 $^{\circ}$ C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, 加入EDTA至终浓度为至少5mM可抑制RNase H的酶活性。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R7088S-1	RNase H (5U/ μ l)	50 μ l
R7088S-2	10X Reaction Buffer	250 μ l
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7088M-1	RNase H (5U/μl)	200μl
R7088M-2	10X Reaction Buffer	1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R7088L-1	RNase H (5U/μl)	1ml
R7088L-2	10X Reaction Buffer	5ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，2年有效。

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-20°C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：

1. 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，70°C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. 37°C 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。

2. 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，70°C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. 15°C 孵育 2 小时。(注意：反应温度不能超过 15°C)

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 25°C), 100mM MgCl₂, 10mM DTT。

其他用途请参考上述用途或相关文献资料进行。

常见问题：

- 解冻10X Reaction Buffer反应缓冲液时为什么有时会出现白色沉淀，如何解决？
白色沉淀物是10X Reaction Buffer缓冲液中的DTT，解冻和混合后会再次悬浮。重新悬浮的缓冲液完全可以满足其预期用途。
- RNase H切割RNA碱基的哪一侧？
RNase H裂解RNA的3'-O-P键，生成3'羟基和5'磷酸盐产物。
- 30°C时RNase H的活性怎么样？
在30°C下，RNase H的活性约为90%。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
ST576	RNase A (10mg/ml, DNase free)	1ml
ST578	RNase A (10mg/ml)	1ml
ST579	RNase A (100mg/ml)	0.5ml
D7089	RNase H	100U
R7090FT	Thermostable RNase H	50U
R7090S	Thermostable RNase H	250U
R7090M	Thermostable RNase H	1000U
R7090L	Thermostable RNase H	5000U
R7092M	RNase R	2KU
R7092L	RNase R	10KU
R7096S	RNase T1	100000U
R7096M	RNase T1	500000U

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 2022.11.14