

## RNase H (RNase-free)

### 产品描述

RNase H, 即核糖核酸酶 H, 是一种核糖核酸内切酶, 可特异性地水解 DNA-RNA 结合链中 RNA 磷酸二酯键。RNase H 具有双二价金属离子催化机制, 如  $Mg^{2+}$  和  $Mn^{2+}$  直接参与催化功能。RNase H 不能水解单链或双链 DNA 或 RNA 中的磷酸二酯键。本试剂盒可用于 cDNA 第二链合成前去除 DNA 与 mRNA 复合结构中的 mRNA、通过互补的 DNA 序列实现对 RNA 的定点剪切、DNA-RNA 杂交体的鉴定、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)产物研究等方面。

### 组分和储存条件

Components	Size	500 U	1000 U	5000 U
RNase H (RNase-free)		0.1 ml	0.2 ml	1 ml
10X RNase H Reaction Buffer		0.5 ml	1 ml	1.5ml x2
Store at -20 °C.				

### 使用方法

1. 用反转录酶合成cDNA第一条链, 70°C孵育10分钟后终止反应。
2. 冰浴下, 向上述20μl反应体系中依次加入如下试剂:

Component	Size
Reaction Buffer(10X)	2 μl
Nuclease-Free H <sub>2</sub> O	17.8 μl
RNase H (5 U/μl)	0.2 μl

3. 体系混匀(移液器吹打或涡旋振荡)后瞬离, 37°C孵育1h。
4. 加入2.5 μl浓度为0.5M的EDTA(pH8.0)后混匀, 以终止反应。
5. 后续可以使用酚氯仿抽提、乙醇沉淀等方法或者相应的DNA纯化试剂盒来纯化合成的双链cDNA。

说明: RNase H反应的pH范围约在7.5-8.3均可; 此体系适合其他类似的DNA-RNA去除RNA的需求。

Tel: 021-55669583; Fax: 021-55669583

<http://www.apexbio.cn/>; Email: [sales@apexbio.cn](mailto:sales@apexbio.cn).

## 产品信息说明

1. 酶活力单位定义: 在 37°C条件下 20min 内, 从 100bp 的 RNA-DNA 杂交链中水解出 1nmol 酸可溶性核糖核苷酸形式所需的酶量。
2. RNase H (RNase-free)中液体成分: 10 mM Tris-HCl (pH 7.4, 25°C), 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.2mg/ml BSA, 50% Glycerol
3. 10X RNase H Reaction Buffer 中 Buffer 成分: 500 mM Tris-HCl (pH 8.3, 25°C), 750 mM KCl, 100 mM DTT, 30 mM MgCl<sub>2</sub>
4. RNase H 品质和实验验证:
  - I. 蛋白纯度>95%。
  - II. 活性验证:
    - 5 U 的 RNase H 和 200ng 的 300 base RNA 底物在 37°C下反应 16 小时, RNA 的电泳谱带不发生变化。
    - 50 U 的 RNase H 和 1 μg 的超螺旋 PhiX174 DNA 在 37°C下反应 4 小时, DNA 的电泳谱带不发生变化。
    - 50 U 的 RNase H 和 1 μg 的 Hind III-λDNA 底物在 37°C下反应 30 分钟, DNA 的电泳谱带不发生变化。
5. RNase H热失活条件: 50°C加热15分钟可使RNase H失活。