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

碧云天网站 微信公众号

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。

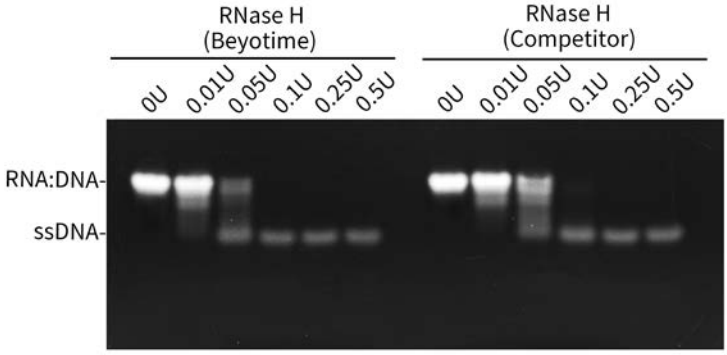

图1. 碧云天生产的RNase H催化降解RNA:DNA杂合双链中RNA链的效果图。使用本产品或N公司(Competitor)的RNase H，在20μl反应体系(50mM Tris-HCl pH8.3, 75mM KCl, 3mM $MgCl_2$, 10mM DTT)中，加入400ng RNA:DNA杂合双链，以及图中指定量的本产品或国外N公司的RNase H，37°C孵育20分钟进行反应，反应完毕后立即冰浴3-5分钟并加入1μl 0.5M EDTA以终止反应。取出5μl反应液，加入1μl 6X DNA Loading Buffer (D0071)，然后进行15%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(180V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 50μl in 20minutes at 37°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，200μg/ml BSA，50% (v/v) glycerol, (pH7.4 @25°C)。
- **Reaction Buffer (10X)：**500mM Tris-HCl，750mM KCl，30mM $MgCl_2$，100mM DTT, (pH8.3 @25°C)。
- **失活或抑制：** 65°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/μl)	50μl
R7088S-2	10X Reaction Buffer	250μl
—	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 $MgCl_2$，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：

1. 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。
2. 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。
3. 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

Version 2024.03.12