

RNase H

使用说明书

货号/规格: E1016-A/100 U, E1016-B/500 U

浓度: 5 U/ μ L

产品简介

核糖核酸酶 H (RNase H) 可特异性降解 RNA-DNA 杂交体中的 RNA 链。该酶不会水解单链和双链 DNA 及 RNA 中的磷酸二酯键。

产品组成

组分	E1016-A	E1016-B
RNase H (5 U/ μ L)	20 μ L	100 μ L
10X RNase H Buffer	1 mL	1 mL

含 BSA

储存条件

保存于-20°C。

来源

E. coli MRE-600 菌株。

单位定义

一个单位是指在 37° C 下 20 分钟内催化形成 1nmol 的酸溶性产物所需的酶量。

在以下混合物中测定酶活性: 20 mM Tris-HCl (pH 7.8)、40 mM KCl、8 mM MgCl₂、1 mM DTT, 24 μ M [³H]-poly (A) · poly (dT), 0.03 mg / mL BSA, 4% (v/v) 甘油。

适用范围

- 在合成第二链 cDNA 之前去除 mRNA
- RT-PCR 和 qRT-PCR: 在第一链 cDNA 合成后去除 RNA

- 与 Oligo(dT) 杂交后去除 mRNA 的 poly(A) 序列
- 定点切割 RNA
- 体外聚腺苷酸化反应产物研究

抑制与失活

- 抑制剂: 金属螯合剂、SH 封闭试剂。
- 在 65°C 下加热 10 分钟。

使用方法

第二链 cDNA 合成

- 根据针对特定逆转录酶的建议进行第一链 cDNA 合成反应。
- 将以下物质 (在冰上) 加入 20 μ L 第一链 cDNA 合成反应混合物中:

Component	Amount
10X reaction buffer for DNA Polymerase I*	8 μ L
RNase H (5 U/ μ L)	0.2 μ L
DNA Polymerase I	30 U
ddH ₂ O	To 100 μ L

* 10X reaction buffer for DNA Polymerase I: 500 mM Tris-HCl (pH 7.5 at 25 °C), 100 mM MgCl₂, 10 mM DTT.

- 温和混匀并分离。
- 15°C 温育 1 h。温度不要高于 15°C。
- 加入 2.5 μ L (12.5 U) T4 DNA Polymerase (#K011), 15°C 温育 5 min。
- 通过加入 5 μ L 0.5 M EDTA (pH 8.0) 终止反应。苯酚/氯仿纯化的平末端 cDNA 可用于进一步的克隆相关程序, 例如接头连接、磷酸化、大小分离、连接和转化。

本品仅供科学研究使用。