



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

核糖核酸酶 H

Ribonuclease H

产品介绍:

核糖核酸酶 H (RNase H) 是降解 RNA/DNA 杂合分子的 RNA 链的内切核糖核酸酶。RNase H 消化产生具有 5'-磷酸和 3'-羟基末端的核糖核苷酸分子。

RNase H 对单链或双链 RNA 分子几乎无活性。

5×RNase H Buffer: 500 mM Tris-HCl; 750 mM KCl; 30mM MgCl₂; 100 mM DTT; pH 8.3, 25°C。

酶存储液: 20 mM Tris-HCl; 100mM KCl; 10 mM MgCl₂; 0.1 mM EDTA; 0.1 mM DTT; 50%甘油; pH 7.9, 25°C。

活性定义: 1 单位指 50 μl 反应体系中, 37°C 条件下, 20分钟水解 1 nmol [3H] 标记 poly(rA) 与 poly(dT) 杂交双链中的 RNA 形成酸可溶性核糖核苷酸所需要的酶量。

来源: 重组 E. coli 菌株, 携带有从 E. coli 中克隆的 RNase H (rnh) 基因。

失活: 65°C 20 分钟

产品应用:

1. 除去杂交到 poly(dT) 上的 mRNA poly(A);
2. 在 cDNA 第二链合成时除去 mRNA。

反应条件:

37°C 温浴

质量控制:

1. 单位特性分析: 使用 2 倍连续稀释法测量比活性。在 1×RNase H 反应缓冲液中制备酶的稀释液, 并加入到含有 3 H 标记的 poly (rA), poly (dT) DNA 和 1×RNase H 缓冲液的 50μL 反应中。将反应在 37°C 下温育 20 分钟, 倒在冰上, 并分析 TCA 可溶性计数的释放。

2. 蛋白浓度 (OD₂₈₀) 测量: 通过 OD₂₈₀ 吸光度测定。

3. SDS-PAGE (物理纯度评估): 通过浓缩和稀释的酶溶液的 SDS-PAGE, 随后通过银染检测来评估物理纯度。该测试的验收标准要求浓缩样品中



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

污染物条带的总质量不超过稀释样品中目标蛋白质条带的质量，证实浓缩样品的纯度大于 99%。

污染测试:

1. 单链核酸外切酶活性: 在含有放射性标记的单链 DNA 底物和 10 μ l 酶溶液的 50 μ l 反应物中, 37°C 下孵育 4 小时。结果显示 TCA 可溶性计数的释放小于 5.0%。
2. 双链核酸外切酶活性: 在含有放射性标记的双链 DNA 底物和 10 μ l 酶溶液的 50 μ l 反应物中, 37°C 下孵育 4 小时。结果表明, TCA 可溶性计数的释放小于 1.0%。
3. 双链内切核酸酶活性: 在含有 0.5 μ g pBR322 DNA 和 10 μ l 酶溶液的 50 μ l 反应中, 37°C 温育 4 小时, 通过琼脂糖凝胶电泳测定, 结果显示没有肉眼可见转化为带切口的环状 DNA。
4. 大肠杆菌 16S rDNA 污染检测: 将重复的 5 μ l 酶溶液样品变性并使用对应于 16S rRNA 基因座的寡核苷酸引物在 TaqMan qPCR 测定中筛选污染性大肠杆菌基因组 DNA 的存在。测试的接受标准是由 3 个重复的无模板对照样品的平均值产生的阈值循环计数 (Ct)。基于无模板对照 Ct 值和标准曲线数据之间的相关性, 该测定的检测限为 <10 拷贝基因组/样品。
5. 非特异性 RNase 测定: 使用 RNase Alert 试剂盒 (Integrated DNA Technologies) 根据制造商的指南筛选产物的非特异性 RNase 污染, 未检测到非特异性核糖核酸酶活性。

保存条件: -15°C 到 -25°C 保存。