

极耐热 RNase H2 (高浓度)

Extreme ThermoStable RNase HII

Cat. No.: C5051B Size: 2500U Store at: -20°C



描述: 该 RNase H2 是来源于极端耐热的菌株的内源性核酶内切酶, 它识别 RNA/DNA 杂交链并切割 RNA 链, 其对单链 RNA 切割活性极低, 且对 dsDNA、ssDNA 无切割活性。该酶在 DNA/RNA duplex 的单核糖核苷酸残基处从 5'端进行切割, 切割后产生一个 5'端磷酸基团和一个 3'端羟基。该 RNase H2 酶在 60-70°C 具有最佳活性, 在 50°C 到 75°C 间均具有活性, 但其在室温下活性非常低。该酶极度耐热, 在 95°C 加热 30min 后仍保留全部活性, 因此其与大多数的 PCR 缓冲体系兼容, 可用于 Rnase HII 依赖性 PCR (rhPCR) 等实验。

组分

名称	数量
ET RNase H2 (100U/μl)	25 μl
10XET RNase H2 Buffer	500 μl

储存: -20°C 可保存 2 年。

单位定义: 一个单位是指在 60°C 下, 15 分钟切割 1nmol 含有单个 RNA 的嵌合 DNA/RNA 杂交双链体底物所需的酶量。

本品为高浓度制品: 使用时通常需要先使用 15% 甘油稀释到 2U/μl 后使用。

10XET RNase H2 Buffer: 200mM Tris-HCl, 500mM KCl, 1% Tween20, 200ug/ml BSA, 50mM Mg²⁺, pH8.5.

使用方法 (一)

DNA/RNA 杂交链	10-200pmol
10XET RNase H2 Buffer	2 μl
ET RNase H2 (2U/μl)	0.5 μl
ddH ₂ O	Up to 20 μl

50-70°C 反应 15min。

使用方法 (二) -rhPCR 扩增

10XPCR Buffer	2 μl
10 μM Blocked PrimerF	0.4 μl
10 μM Blocked PrimerR	0.4 μl
Taq DNA Polymerase	0.5Unit
ET RNase H2 (2U/μl)	0.5 μl
DNA 模板	1 μl
ddH ₂ O	Up to 20 μl

反应: 95°C 1min, 循环 45 次 (95°C 10s, 60°C 30s)。

注意事项

1. 该酶在 50-75°C 均有活性, 其用量可根据不同的应用进行调节, 该酶在室温 25 度情况下活性极低。
2. 该酶用于 rhPCR (依赖于 Rnase H2 的 PCR) 时, 需要使用 3' 端带封闭基团的 DNA 引物 (Blocked 引物)。引物 3' 端可以采用 C3 Spacer 或 NH₂ 封闭, 3' 末端第 5 位为单碱基的 RNA 碱基。
3. 该酶与绝大多数的 PCR 缓冲体系兼容, 最佳 mg²⁺ 浓度 2~3mM。
4. 该酶极其耐热, 95°C 30min 活性无显著降低, 故不可通过热失活, 0.1% SDS 可将其失活。
5. 在 rhPCR 中推荐的使用浓度为 10~50mU/μl。