

RNase HIII

目录号: AE2355

使用前请仔细阅读说明书

产品说明

RNase HIII 是一种内切核糖核酸酶，与 RNase HII 类似，特异性切割 DNA 双链中 RNA 碱基 5' 端的磷酸二酯键，产生切口，产生 5'磷酸和 3'羟基末端。RNaseHIII 还将沿着冈崎片段的 RNA 部分切割多个位点（即 RNase H 活性）。该酶不水解纯 DNA 链、单链 RNA。RNase HIII 偏好 Mn^{2+} 离子，RNase HII 偏好 Mg^{2+} 离子。

本公司 RNase HIII 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

在 37°C，1× AM Buffer E 缓冲液中，30 分钟内切断 100pmole 含有单个核糖核苷酸的双链 DNA 底物所需酶量。

活性测定条件

AM Buffer E ， 37°C 温育。

浓度：5U/ μ l

保存条件：-20°C

特点

- 偏好 Mn^{2+} 离子
- 同时具有 RNase H 活性

适用范围

- 切割含有核糖核苷酸的双链 DNA
- 当与 T7 Endo I 一起使用时，在掺入的核糖核苷酸的位点产生双链断裂
- 冈崎氏片段 RNA 部分的降解

产品包装规格及组成

Component	AE2355A	AE2355B
RNase HIII	200U	1000U
10× AM Buffer E (Polymerase Buffer)	0.2ml	1.0ml

质量控制

相关测试表明无外源内切、外切脱氧核糖核酸酶、RNase 污染。PCR 方法检测无宿主残余 DNA。

酶贮存缓冲液

20mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 7.5@ 25°C。

注意事项

- 与 RNaseH 相比，RNaseHIII 表现出较低的 RNase H 活性
- 冈崎片段优先在 RNA/DNA 序列交界处的核糖核酸处产生 5' 缺口
- 与 RNase HII 偏好 Mg^{2+} 离子不同，RNase HIII 偏好 Mn^{2+} 离子
- 与 RNA/DNA 杂化底物或冈崎片段相比，RNase HIII 更喜欢含有单个核苷酸的 dsDNA 双链

应用实例

1、RT-PCR 去除 RNA/DNA 杂合双链的 RNA 链

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× PCR Buffer	5
Primer-F (10uM)	2
Primer-R (10uM)	2
dNTP (2mM)	5
RT 反转录产物	100-200ng
RNase HIII (5U/ul)	1
Taq DNA 聚合酶 (5U/ul)	2.5U
H ₂ O	Variable
总体积	50

2) 37°C 反应 5-10min;

3) PCR 反应。

4) 琼脂糖电泳检测 DNA，或进行后续实验

2、dsDNA 中单一核糖的切割

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× Buffer	2
含单一 RNA 碱基的 dsDNA	10-50pmole
RNase HIII (5U/ul)	1
H ₂ O	Variable
总体积	20

2) 37°C 反应 15-30min;

3) 8M 尿素变性 PAGE 电泳检测 dsDNA 切割结果，或进行后续实验

3、与 T7 Endo I 一起在 dsDNA 核糖核苷酸的位点产生双链断裂

1) 按下表配制反应体系

反应组分	体积/ul
10× Buffer	3
含单一 RNA 碱基的 dsDNA	10-50pmole
T7 endo I (10U/ul)	1
RNase HIII (5U/ul)	1
H ₂ O	Variable
总体积	30

2) 37°C 反应 15-30min;

3) 8M 尿素变性 PAGE 电泳检测 dsDNA 切割结果，或进行后续实验

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。