

Thermostable RNase HII

REF: EG24212S

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
Thermostable RNase HII (2 U/μl)	100 μl
HII Dilution Buffer	2×1 ml
10× RHII Buffer	1 ml

产品简介

本产品来源于极端耐热菌 *Pyrococcus abyssi* (*P.abbyssii*), 经重组表达纯化后获得。Thermostable RNase HII 是一种核酸内切酶, 识别并切割 RNA/DNA 杂合链中的 RNA 链, 不切割 ssDNA、dsDNA, 对单链 RNA 切割活性极低。Thermostable RNase HII 在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 Thermostable RNase HII 在 60~80°C 具有最佳活性, 在 37°C~95°C 间均具有活性, 在室温下活性低。本品极度耐热, 95°C 温育 15 min 后, 几乎没有活性损失, 可与 PCR 各反应体系兼容。

活性定义

一个单位 (U) 是指在 60°C 下, 30 min 切割 100 pmol 含有单个核糖核苷酸的嵌合 DNA/RNA 杂交双链体底物所需的酶量。

建议反应条件

1× RHII Buffer;
60°C 温育。

失活条件

终浓度 1% SDS, 95°C 15 min。

产品应用

1. RNase HII 依赖性 PCR (rhPCR)。
2. 减少或去除 PCR 反应中的引物二聚体。
3. 提高多重 PCR 产物的准确性。
4. 区分异种同源基因。
5. SNP 检测和稀有等位基因检测。
6. 降解冈崎片段的 RNA 部分。
7. LAMP 高灵敏度探针法检测。
8. 与 T7 Endo I 一起使用时, 在掺入的核糖核苷酸位点产生双链断裂。

质量控制

蛋白纯度

经 SDS-PAGE 凝胶电泳检测, 蛋白纯度不低于 95%。

非特异性内切酶活性

37°C 下, 在 20 μl 反应体系中将 2 U Thermostable RNase HII 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 共同温育 4 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 少于 20% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

DNase 活性

37°C 下, 在 20 μl 反应体系中将 2 U Thermostable RNase HII 与 15 ng 双链 DNA 片段共同温育 16 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 双链 DNA 片段无变化。

RNase 活性

37°C 下, 在 10 μl 反应体系中将 2 U Thermostable RNase HII 与 500 ng RNA 共同温育 1 h, 使用琼脂糖凝胶电泳检测, 超过 90% 的 RNA 保持完整。

宿主 DNA 残留

采用中国药典 2020 版四部通则 3407 外源性 DNA 残留量测定法第三法定量 PCR 法, 本品中大肠杆菌宿主细胞 DNA 残留量低于 1 拷贝 / 2 U。

使用方法

1. 以 rhPCR 流程为例:

(1) 以配合本公司的 Taq-Plus PCR Master Mix (2×) (货号: EG15117M) 使用为例:

试剂	使用量
上游引物 (10 μM)	1 μl
下游引物 (10 μM)	1 μl
模板 DNA	x μl
Taq-Plus PCR Master Mix (2×)	25 μl
Thermostable RNase HII	20~200 mU
ddH ₂ O	Up to 50 μl

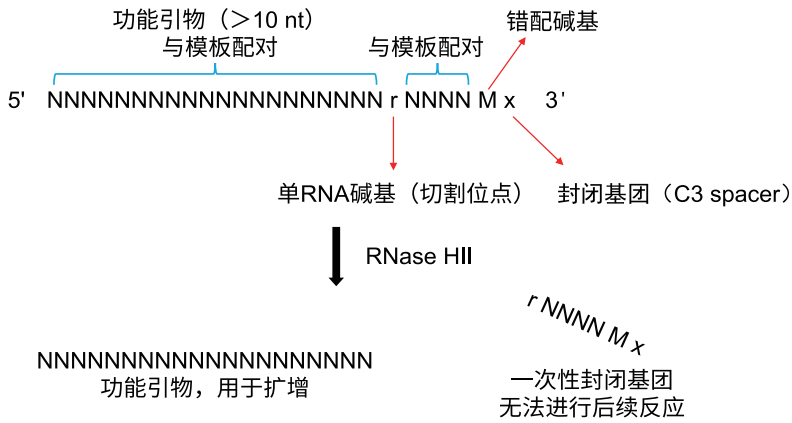
(2) 轻柔吸打或轻弹管壁以混匀 (切勿涡旋), 然后瞬时离心以收集挂壁液滴;

(3) 设置 PCR 反应

步骤	温度	时间
预变性	95°C	3~5 min
变性	95°C	30 s
退火	55~65°C	30 s
延伸	72°C	30~60 s/kb
终延伸	72°C	5 min

← 30~35 Cycles

2. rhPCR 引物设计



注意事项

1. 该酶用于 rhPCR 时, 需要使用 3' 端带封闭基团的 PCR 引物。
2. 该酶在 37~80°C 均有活性, 其用量可根据不同的应用进行调节。
3. 该酶可兼容大多数 PCR 体系, 同时对 Mg^{2+} 浓度无严格要求, 在 1~6 mM 范围内均可正常发挥活性。