

产品简介

RNase HII 来源于含有 RNase HII 基因与特殊融合标签共表达载体的大肠杆菌 *E.coli* 重组发酵表达，经过切除特殊融合标签后获得 RNase HII 蛋白。RNase HII 对单链 RNA 切割活性极低，该 RNase HII 酶在 DNA/RNA 杂交链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。其对单链 RNA 切割活性极低，且对 dsDNA、ssDNA 无切割活性。该酶在 50°C 到 75°C 间均具有活性，在 70-75°C 活性最佳，但其在室温下活性极低。RNase HII 可识别单个核糖核苷酸并进行切割，而 RNase HI 识别四个连续核糖核苷酸；另外，RNase HII 可降解冈崎片段，而 RNase HI 无此活性。

产品组成

组分	E207 (250 U)
RNase HII (5 U/μl)	50 μl
10 × HII Reaction Buffer	2 × 750 μl

储存条件

-20°C 保存，于 -20 ~ 0°C 运输。▲ 避免反复冻融。

单位定义

在合适的反应缓冲液体系中，37°C 孵育 30 min，可特异切割 100 pmol 包含有靠近猝灭基团核糖核苷酸的 dsDNA (携带一对荧光基团/猝灭基团) 的酶量被定义为一个活性单位。

质量控制

核酸外切酶残留检测：200 U 本品和 50 pmol 线性 DNA 底物在 37°C 下孵育 16 h，经琼脂糖凝胶电泳，DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：200 U 本品和 0.5 μg 质粒 DNA 在 37°C 下孵育 4 h，经琼脂糖凝胶电泳，质粒的电泳谱带不发生变化。

RNase 残留检测：200 U 的本品和 1 μg 单链 RNA 在 37°C 下孵育 30 min，经琼脂糖凝胶电泳，RNA 的电泳谱带不发生变化。

产品应用

LAMP 高灵敏度探针法检测

切除聚合酶聚合过程中错配形成的核糖核苷酸

冈崎片段 RNA 部分的降解

配合 End I 可特异切割嵌入有核糖核苷酸的 dsDNA，造成双链断裂

实验案例

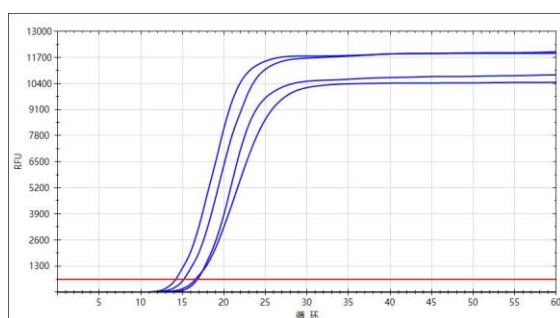
1. 以 RT-LAMP (ATG#M502)为例，按以下体系组分添加，检测两种浓度 RNA 样本
(1000 copies/ml 和 200 copies/ml)

组分

2 x LAMP basic Reaction mix	20 μ l
RT LAMP Enzyme Mix	2 μ l
primer mix	2 μ l
RNase HII	0.4 μ l
HII Probe	2 μ l
RNA 模板	10 μ l
ddH ₂ O	To 40 μ l

注：一般来说该反应体系中各引物终浓度为 0.8 μ M FIP/BIP primers, 0.2 μ M LF/LB primers, 0.1 μ M F3/B3 primers。注：以上浓度为建议参考值，实际添加量按实验优化结果为准。

2. 60-65 $^{\circ}$ C 孵育 20 min，得到结果如图 1 所示，由图 1 表明 1000 copies/ml 和 200 copies/ml RNA 样本均可被快速检出，CT 值 < 16，灵敏度可达 2 copies/test；另设阴性对照组，无假阳性检出。



注意事项

1. 该酶在 50-75 $^{\circ}$ C 均有活性，其用量可根据不同的应用进行调节。
2. 该酶与绝大多数的 PCR, LAMP 等缓冲体系兼容，对 Mg²⁺ 浓度要求也比较宽泛，在 1~6 mM 之间均可发挥活性。
3. 该酶极其耐热，95 $^{\circ}$ C 15 min 活性无明显降低，故不可通过热失活，0.1% SDS 可将其失活。