Gebrauchsanweisung

Ribonuklease H

5 U/µl, für die Molekularbiologie

RNase H ist eine 18,9 kDa rekombinante Endoribonuklease. Das RNase H-Gen (*rnh*) wird in *Escherichia coli* überexprimiert und aufgereinigt. RNase H hydrolysiert spezifisch Phosphodiester-Bindungen von RNA die mit der DNA hybridisiert ist und produziert 5'-Phosphat-terminierte Oligoribonukleotide und einzelsträngige DNA.Es wird keine einzel- und doppelsträngige DNA oder unhybridisierte RNA abgebaut. RNase H wird vor allem bei der Entfernung von mRNA nach der Erststrang cDNA Synthese eingesetzt. Der Einsatz der RNase H in der cDNA Synthese kann die Sensitivität erhöhen indem diese die Bindung von RNA an die cDNA und somit die Blockade für Primer verhindert. Eine Behandlung mit RNase H ist vor allem bei der Amplifikation längerer cDNA Fragmente notwendig. Zusätzlich kann die RNase H bei der Entfernung von Poly(A)-Schwänzen an mRNAs oder für eine ortsspezifische enzymatische Spaltung von RNA eingesetzt werden.

Lagerpuffer: 20 mM Tris-HCl (pH 7.9), 100 mM KCl, 10 mM $MgCl_2$, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM DTT, 50 % (v/v) Glycerol

10x Reaktionspuffer: 200 mM Tris-HCl (pH 8.4), 500 mM KCl, 50 mM $MgCl_2$, 200 mM DTT

Unit Definition: Eine Einheit katalysiert die Hydrolyse von 1 nmol RNA in [3H] -markiertem Poly(A)×Poly(dT) zu säurelöslichen Ribonukleotiden in einem Gesamtreaktionsvolumen von 50 µl in 20 min bei 37°C in 1x RNase H-Reaktionspuffer

Lagerung: Lagern Sie dieses Produkt bei -80 °C oder -20 °C

Anwendungen:

- Entfernung der RNA nach der Erststrang-cDNA-Synthese
- Entfernung der Poly(A)-Sequenzen der mRNA nach Hybridisierung mit Oligo(dT)
- Ortspezifische Spaltung von RNA

Protokoll:

- Verwenden Sie 5 U RNase H in einem 20 µl Ansatz
- Für einen 50 µl Ansatz setzen Sie 12.5 U RNase H ein
- Inkubation bei 37 °C für 20 Minuten

Weitere Informationen:

- Die Aktivität der RNase H wird durch Metallchelatbildner (z.B. EDTA) und Sulfhydryl-SH-blockierende Reagenzien gehemmt
- Inaktivierung der RNase H bei 65 °C für 10 Minuten
- Der Kit enthält:
  RNase H (5 U/µl)
  Reaktionspuffer (10x)

Ribonuklease H	**250 U**	**Kunststoff**	**3728.1**
	1250 U	**Kunststoff**	**3728.2**

Instructions for use

Ribonuclease H

5 U/µl, for molecular biology

RNase H is an 18.9 kDa recombinant endoribonuclease. The RNase H gene (*rnh*) is overexpressed and purified in *Escherichia coli*. RNase H specifically hydrolyses phosphodiester bonds of RNA hybridised to DNA and produces 5'-phosphate terminated oligoribonucleotides and single-stranded DNA. RNase H is mainly used to remove mRNA after first strand cDNA synthesis. The use of RNase H in cDNA synthesis can increase sensitivity by preventing the binding of RNA to cDNA and thus blocking primers. Treatment with RNase H is especially necessary for the amplification of longer cDNA fragments. Additionally, RNase H can be used for the removal of poly(A) tails from mRNAs or for site-specific enzymatic cleavage of RNA.

Storage buffer: 20 mM Tris-HCl (pH 7.9), 100 mM KCl, 10 mM $MgCl_2$, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM DTT, 50 % (v/v) Glycerol

10x Reaction buffer: 200 mM Tris-HCl (pH 8.4), 500 mM KCl, 50 mM $MgCl_2$, 200 mM DTT

Storage: Store this product at -80 °C or -20 °C

Application:

- Removal of RNA after first strand cDNA synthesis
- Removal of the poly(A) sequences of mRNA after hybridization with oligo(dT)
- Site-specific cleavage of RNA

Protocol:

- Use 5 U RNase H in 20 µl
- For a 50 µl preparation use 12.5 U RNase H
- Incubate at 37 °C for 20 minutes

Further information:

- The activity of RNase H is inhibited by metal chelating agents (e.g. EDTA) and sulfhydryl-SH blocking reagents
- Inactivation of RNase H at 65 °C for 10 minutes
- The kit contains:
  RNase H (5 U/µl)
  Reaction buffer (10x)

Ribonuklease H	**250 U**	**plastic**	**3728.1**
	1250 U	**plastic**	**3728.2**

Carl Roth GmbH + Co. KG

Schoemperlenstraße 3-5 • 76185 Karlsruhe
P.O. Box 100121 • 76231 Karlsruhe
Phone: +49 (0) 721/ 5606-0
Fax: +49 (0) 721/ 5606-149
info@carlroth.com • www.carlroth.com

ip 07/2021

The company is a limited partnership with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRA 100055. Roth Chemie GmbH, with headquarters in Karlsruhe, reg. court Mannheim HRB 100428, is the personally liable partner. Managing Director: André Houdelet. Sales tax identification number: DE 143621073.