

M5 HiPer Benzonase Nuclease

全能核酸酶使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer Benzonase Nuclease	25KU	MF841-01

【储存条件】

-20°C。

【产品简介】

全能核酸酶，又称广谱核酸酶，英文名称 Benzonase Nuclease，一种来源于 *Serratia Marcescens* 的基因工程酶。它可以降解所有形式的 DNA 和 RNA，包括单链、双链、线状、环状、天然以及变性的核酸，将它们消化成 3-8 个碱基长度的 5-单磷酸寡核苷酸，且不具有碱基识别特异性。另外，全能核酸酶在非常广泛的条件下（6M urea, 0.1 M Guanidine HCl, 0.4% Triton X100, 0.1% SDS, 1 mM EDTA, 1 mM PMSF）都能保持很高的稳定性和消化活力，非常适用于作为各类科学研究以及疫苗、蛋白、多糖类制药工业的首选酶制剂，去除样本或制品中的核酸残留，提升样本纯度和制品生物功效。

【产品用途】

1) 用于除去生物制品中的 DNA/RNA

美国 FDA 对治疗用每剂量的生物制品的核酸含量要求为低于 10 pg，国内对此相应的要求为低于 100 pg。全能核酸酶可用于疫苗、多糖、蛋白等工业生物制品中核酸的去除，使生物制品的最终核酸含量符合要求，同时提高生物制品功效。

2) 用于降低细胞破碎后的粘度

全能核酸酶可以降解所有形式的核酸，降低细胞裂解液的粘度，提高蛋白得率，改善分离效果，使之易于过滤（尤其是超滤），利于下游层析纯化操作。

3) 用于细胞培养来源产物的纯化过程

核酸很容易粘附在病毒样颗粒（VLP）、病毒粒子、包涵体等细胞生成颗粒的表面，使颗粒大小或电荷发生改变，造成这些颗粒的聚集，如外周血单细胞（PBMC）存放过程中的结块现象。全能核酸酶可有效降解核酸，避免核酸对细胞产物的影响以及纯化效率，利于提高细胞产物纯化效率。

4) 用于生化分析样品的制备

在 ELISA、色谱分析、双相电泳和足迹分析等过程中，用全能核酸酶处理含有核酸的蛋白样品，可提高分辨率，并提高回收率。

【活性定义】

在 37°C, pH 8.0 反应条件, 2.625 mL 反应体系中, 在 30 min 内使 ΔA_{260} 吸收值变化 1.0（相当于完全消化 37 μ g 鲑鱼精 DNA 成为寡核苷酸）所用的酶量定义为一个活性单位（U）。根据测试，本产品酶活 ≥ 250 U/ μ L，比活 $\geq 1.0 \times 10^6$ U/mg 蛋白。

【产品特性】

CAS 号 (CAS NO.): 9025-65-4

分子量 (Molecular Weight): 27.9 kDa

来源 (Source): 真核酵母表达

最适 pH (Optimum pH): 8.0 (工作范围 pH 6-10)

最适温度 (Optimum Temperature): 37°C (工作范围 0-42°C)

辅助因子 (Cofactor): 1-10 mM Mg²⁺

储存缓冲液 (Storage Buffer): 20 mM Tris-Cl pH8.0, 2 mM MgCl₂, 2 mM NaCl, 50%甘油

稀释缓冲液 (Dilution Buffer): 20 mM Tris-Cl pH8.0, 2 mM MgCl₂, 2 mM NaCl

【反应条件】

1) 细胞处理:

a. 贴壁细胞去除培养基, 用 PBS 洗后, 1 mL RIPA 裂解液 (或其他哺乳动物细胞裂解液) 加 10-20 uL 全能核酸酶, 室温或冰上孵育 5-30 min, 收集裂解液, 离心取上清即可进行下游实验。

b. 悬浮细胞离心收集后, 在离心管中加 1 mL RIPA 裂解液 (或其他哺乳动物细胞裂解液) 加 10-20 uL 全能核酸酶, 室温或冰上孵育 5-30 min, 收集裂解液, 离心取上清即可进行下游实验。

2) 组织样品: 将 30-100 mg 动物或者植物组织研磨充分后, 加入 100-200 uL 裂解液, 同时加入加 5-10 uL 全能核酸酶, 室温或冰上孵育 5-30 min, 收集裂解液, 离心取上清即可进行下游实验。

3) 大肠杆菌或者其他细菌: 细菌离心收集后, 用裂解液裂解或者研磨破碎后, 每 1 mL 加 1-5 uL 全能核酸酶, 室温孵育 30 min, 收集裂解液, 离心取上清即可进行下游实验。

注: 若溶液为高盐溶液, 偏酸性或者偏碱性, 含有较高浓度的去垢剂、变性剂, 应适当增加酶量或孵育时间。

全能核酸酶在非常广泛的条件下, 都能保持很高的稳定性和消化活力。表 1 中列举了全能核酸酶可发挥核酸消化作用的部分条件参数。除此之外, 全能核酸酶还可耐受 6 M Urea, 0.1 M Guanidine HCl, 0.4% Triton X100, 0.1% SDS, 1 mM EDTA, 1 mM PMSF, 0.4% Sodium deoxycholate。

条件参数	最适条件	可作用条件
Mg ²⁺	1-2 mM	1-10 mM
pH	8.0-9.2	6.0-10.0
Temp	37°C	0-42°C
DTT	0-100 mM	>100 mM
β-Mercaptoethanol	0-100 mM	>100 mM
Monovalent cation (Na ⁺ , K ⁺)	0-20 mM	0-150 mM
PO ₄ ³⁻	0-10 mM	0-100 mM

注: 1) 最适条件为全能核酸酶释放≥90%活力的条件, 可作用条件为全能核酸酶释放≥15%活力的条件;

【常见 FAQ】

Q. 产品应如何稀释?

A: 正常建议稀释比例(终浓度)为 1:1000-1:20000, 其中时间、温度、稀释比例为影响反应的正面因素。

Q. 产品能否可以减少用量?

A: 如希望减少用量, 可酌情提高反应温度或延长时间。

Q. 使用该产品进行消化反应的抑制因子有哪些?

A: 在含有以下物质的体系中,全能核酸酶的活性会降低 50%或以上:>150 mM 一价阳离子,>100 mM 磷酸盐,>100 mM 硫酸铵, >100 mM 盐酸胍, >0.1% SDS, >1% Triton X-100, >1% Tween 20。

Q. 怎样灭活全能核酸酶? 如何去除?

A: 采用 EDTA 螯合金属离子会可逆地抑制全能核酸酶活性, 极端条件会造成不可逆失活, 例如 100 mM NaOH, 70°C处理 30 min 等。全能核酸酶可采用阴离子交换柱或气相色谱法从目的产物中分离出去。

Q. 全能核酸酶与蛋白酶抑制剂混合物是否兼容?

A: 全能核酸酶与不含 EDTA 的蛋白酶抑制剂混合物兼容。若含有 EDTA 且浓度>1 mM 时, 会抑制核酸酶活性, 建议: 如果必须加 EDTA, 按照 2 倍 EDTA 浓度补加 Mg²⁺。

Q. 产品的用量是多少?

A: 需要根据重悬菌体所需裂解液的体积来确定需要酶的量。若普通蛋白纯化, 则需要浓度为 25 U/mL; 核蛋白则需要 100 U/mL; 病毒表达蛋白纯化需要浓度为 12.5 U/mL; 疫苗产品需要量为 0.9-1.1 U/mL。

Q. 产品的稳定性如何, 如果不小心在室温放置几天后, 酶活性会受到怎样的影响?

A: 室温 2-3 天, 对活力影响不大。

Q. 全能核酸酶能在尿素环境消化核酸吗?

A: 全能核酸酶在尿素浓度为 6 M 时活性先增加, 随着时间延长活性又有降低; 在尿素为 7 M 时, 全能核酸酶 15 分钟后出现变性并失活。但是在酶失活前多数核酸已经降解了。可通过提高全能核酸酶使用浓度补偿 7 M 尿素的影响。



【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。