

Benzonase Nuclease 全能核酸酶

产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存条件
Benzonase Nuclease 全能核酸酶	BN24031-25KU	25KU	-20 °C 保存
Benzonase Nuclease 全能核酸酶	BN24031-50KU	50KU	-20 °C 保存
Benzonase Nuclease 全能核酸酶	BN24031-100KU	100KU	-20 °C 保存

产品描述

Benzonase, 中文名全能核酸酶, 或广谱核酸酶, 一种源于粘质沙雷氏菌 (*Serratia Marcescens*, 又称为灵杆菌) 的非特异性核酸内切酶, 由两个完全一样的亚基构成, 每个亚基大约 30kDa, 含有 245 个氨基酸和两个必需的二硫键。可以切割和降解各种形式的 DNA 和 RNA (单链, 双链, 线性, 环状, 或超螺旋形式), 生成含有 5'-磷酸末端的 3-5 个寡核苷酸残基片段, 并且在很多种操作条件下有效。对核酸碱基序列无特异性要求, 可在链内任意核苷酸间进行切割, 广泛用于去除生物制品中的核酸。

本品经基因工程改造的真核生物酵母菌表达纯化所得, 不含原核生物表达系统携带的细菌内毒素。不仅可以作为培养细胞上清和细胞裂解液去粘度的首选酶制剂, 去除核酸干扰提高后续蛋白纯化或功能研究; 而且可应用在疫苗工业、蛋白和多糖类制药工业, 去除宿主核酸残留, 使得疫苗和蛋白类核酸污染显著降低至皮克级别, 提供生物功效。

本品以无菌液体酶的形式提供, 储存缓冲液为 20mM Tris-Cl pH8.0, 2mM MgCl₂, 2mM NaCl, 50%甘油。

产品特性

- 1) CAS NO: 9025-65-4
- 2) 同义名: BenzNuclease; Universal Nuclease; Benzonase endonuclease
- 3) 分子量: 27.9kDa
- 4) 纯度: ≥90% (SDS-PAGE)
- 5) 酶活性值: ≥250 U/μL
- 6) 比活性值: ≥1.0×10⁶ U/mg 蛋白
- 7) 蛋白酶: 未检出
- 8) 内毒素: 未检出 (鲎试剂法)
- 9) 最适 pH: 8.0 (工作范围 pH6-10)
- 10) 最适温度: 37°C (工作范围 0-42°C)
- 11) 辅助因子: 1~10 mM Mg²⁺
- 12) 稀释缓冲液: 20mM Tris-Cl pH8.0, 2mM MgCl₂, 2mM NaCl
- 13) 活性单位定义: 在 37°C, pH8.0 反应条件, 2.625ml 反应体系中, 30min 内使 ΔA₂₆₀ 吸收值变化 1.0 (相当于完全消化 37μg 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)。

保存与运输方法

保存: -20°C 冻存, 1 年稳定。【注】: 不要置于 -70°C, 因冻结结冰会造成酶活性的丧失。

运输: 冰袋运输。

注意事项

为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

产品使用

本品为即用型溶液，可根据终浓度直接加入反应体系，或稀释到一个中间浓度后直接加入反应体系【稀释方法，见附录 FAQs】。对于不同的应用，酶使用量有所差别，建议用量参考下表，具体实验请做优化调整。

应用试验	建议工作浓度	工作条件*
常规蛋白纯化	25U/ml	37°C 30-60min
核蛋白纯化	100U/ml	37°C 10min; 4°C 30min;
病毒纯化	12.5U/ml	37°C 30min

【*】 Benzonase Nuclease 的有效工作温度是 0-42°C，最佳工作温度是 37°C。低温使用酶活性有所降低，可通过多添加 2-5 倍 Benzonase Nuclease 或延长消化时间（2-3h）来进行活力补偿。

附录 Benzonase 全能核酸酶常见问题（FAQs）

问 1: 在实验的哪一步加入 Benzonase 全能核酸酶?	答 1: 根据具体应用有所变化，但是总的原则是，在发酵步骤之后和蛋白收集之前加入 Benzonase。
问 2: 如何稀释 Benzonase 全能核酸酶?	答 2: 一般建议按照 1:1000-1:20000 来稀释，具体根据实际应用浓度、反应体系、反应温度、作用时间等参数来灵活变动。使用稀释缓冲液 20mM Tris-Cl pH8.0, 2mM MgCl ₂ , 2mM NaCl 来稀释，4°C 保存几天稳定。最好现配现用。或使用贮存缓冲液 20mM Tris-Cl pH8.0, 2mM MgCl ₂ , 2mM NaCl, 50%甘油来稀释到一个中间浓度，-20°C 保存长期稳定。
问 3: Benzonase 全能核酸酶是否无蛋白酶活性?	答 3: 本品未检测到蛋白酶活性，因此使用过程中不会被降解。但是样品自身含有的蛋白酶可能会对本品造成不可逆的降解。
问 4: Benzonase 全能核酸酶是否安全?	答 4: 内部毒性测试数据，单次注射小鼠和大鼠：发现在很高浓度下都没有毒性效应。另，极高浓度静脉注射小鼠未观察到致突变性。

问 5: 为什么 Benzonase 全能核酸酶不工作? 什么会抑制其活性?

答 5: 在宽广的作用条件下 Benzonase 都具有活性【见下表】, 然而, 1-2mM Mg²⁺对酶活性维持是十分必要的。Mn²⁺可替代 Mg²⁺, 但 Benzonase 只有在 Mg²⁺存在下才能达到最佳工作活性。当单价阳离子浓度 > 300mM, 磷酸盐浓度 > 100mM, 硫酸铵浓度 > 100mM 的情况下, 酶活性被抑制约 50%。另外, > 1mM EDTA 也会抑制酶活性。

条件	最佳工作范围	有效工作范围
Mg ²⁺	1-2mM	1-10mM
pH	8.0-9.2	6.0-10.0
温度	37°C	0-42°C
二硫苏糖醇 DTT	0-100mM	> 100mM
巯基乙醇 β-ME	0-100mM	> 100mM
单价阳离子浓度 (Na ⁺ , K ⁺ 等)	0-20mM	0-150mM
PO ₄ ³⁻ 浓度	0-10mM	0-100mM
最佳工作范围: 指的是在此条件下 Benzonase 具有≥90%的酶活性;		
有效工作范围: 指的是在此条件下 Benzonase 具有≥15%的酶活性;		

问 6: 发现 Benzonase 全能核酸酶活性丧失, 为什么?

答 6: Benzonase 通常很稳定, 但是某些稀少情况会发生活力损失。有几种可能原因: 由于样品中变性剂比如蛋白酶的存在或不正确保存方法引起的不可逆酶活性丧失; 由于螯合剂如 EDTA 存在引起可逆失活, 因其去除维持酶活必须的 Mg²⁺。

问 7: 一不小心将 Benzonase 全能核酸酶置于工作台上整周, 是否能继续使用?

答 7: Benzonase 稳定性测试显示其十分稳定。25°C (湿度 60%) 保存数周酶活性不受影响。

问 8: 如何抑制 Benzonase 全能核酸酶活性?

答 8: 操作体系中添加剂/试剂都有可能影响 Benzonase 活性——比如, 高盐 (单价阳离子浓度 > 300mM, 磷酸盐浓度 > 100mM, 硫酸铵浓度 > 100mM)。其他已知抑制剂如螯合剂 EDTA, 导致 Mg²⁺损失 (EDTA > 1mM 即可抑制酶活性), 这一抑制可通过添加 MgCl₂ 来解除。

问 9: 如何去除体系中的 Benzonase 全能核酸酶?

答 9: 通过以下几种下游的操作方法来去除, 比如澄清用的深度过滤法; TFF (Tangential flow filtration); 色谱纯化 (IEX, SEC, HIC) 等。

问 10: Benzonase 全能核酸酶与蛋白酶抑制剂 cocktail 兼容吗?

答 10: 兼容。但需注意很多商业化的蛋白酶 cocktails 含有 EDTA。> 1mM EDTA 会抑制酶活性。