

全能核酸酶

I. 产品信息

目录号: MR2019 规格: 10kU, 25kU, 50kU, 100kU, 1000kU
CAS: 9025-65-4 纯度: $\geq 97\%$ (SDS-PAGE)
分子量: 27.9 kD 酶活: ≥ 100 U/ μ l
储存液: 20 mM Tris-Cl (pH8.0)、2 mM MgCl₂、2 mM NaCl 和 50%甘油
保存条件: -20°C可保存 2 年

II. 产品简介

全能核酸酶又称广谱核酸酶, 是一种来源于 *Serratia marcescens*, 经基因工程改造的核酸内切酶。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), 生成 3 - 5 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 (如 6 M urea, 0.1 M Guanidine HCl, 0.4% Triton X-100, 0.1% SDS, 1 mM EDTA, 1 mM PMSF) 都能保持很高的稳定性和消化活力, 高效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, 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。

活性单位定义: 在 37°C, pH 8.0 反应条件, 2.625 ml 反应体系中, 在 30 分钟内使 Δ A260 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)。本产品在使用时可用稀释缓冲液(20 mM Tris-Cl (pH8.0)、2 mM MgCl₂、2 mM NaCl)稀释后, 再使用。

III. 反应条件

条件	最优条件	有效条件
Mg ²⁺	1-2 mM	1-10 mM
pH	8.0-9.2	6.0-10.0
温度	37°C	0-42°C
Dithiothreitol (DTT)	0-100 mM	>100 mM
8-Mercaptoethanol	0-100 mM	>100 mM
一价阳离子浓度 (如 Na ⁺ 、K ⁺)	0-20 mM	0-150 mM
PO ₄ ³⁻ 浓度	0-10 mM	0-100 mM

注: 最优条件为全能核酸酶释放 $\geq 90\%$ 活力的条件, 有效条件为全能核酸酶释放 $\geq 15\%$ 活力的条件。

IV. 产品应用

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。

5. NGS 样本制备、蛋白组学样本制备等前沿研究

V. 使用方法

1. 细胞处理

a. 贴壁细胞去除培养基，用 PBS 洗涤后，加入 1 ml RIPA 裂解液（或其他哺乳动物细胞裂解液）及 0.5 - 5 μ l 全能核酸酶，室温或冰上孵育 30 分钟，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 0.5 - 5 μ l 全能核酸酶，室温或冰上孵育 30 分钟，收集裂解液，离心取上清即可进行下游实验。

2. 组织样品处理

将 30 - 100 mg 动物或者植物组织研磨充分后，加入 100 - 200 μ l 裂解液，同时加入 0.5 - 5 μ l 全能核酸酶，室温或冰上孵育 30 分钟，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处理

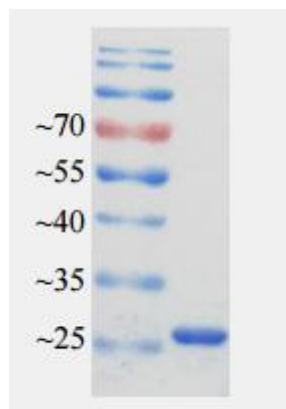
细菌离心收集后，用裂解液裂解或者研磨破碎后，每 1 ml 加 0.5 - 5 μ l 全能核酸酶，室温孵育 30 分钟，收集裂解液，离心取上清即可进行下游实验。

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，或使用低温孵育，应适当增加酶量(2-5 倍)或延长孵育时间(1-3h)。

VI. 结果示例

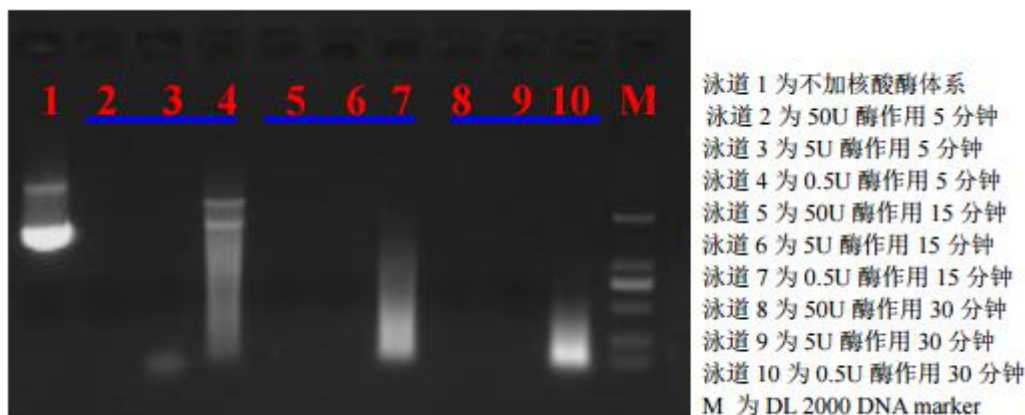
全能核酸酶纯度分析

10 μ l 全能核酸酶溶液采用 12% SDS-PAGE，通过考马斯亮蓝染色，脱色后用 BandScan 进行纯度分析。



质粒 DNA 消化实验

10 μg pUC19 质粒 DNA 在不同用量的全能核酸酶、不同时间的反应体系(10 mM Tris-HCl pH 8.0, 2 mM MgCl_2 , 反应体系 50 μl)下进行酶切。取 10 μl 产物在 1% 的琼脂糖凝胶上进行电泳分析。



VII. 常见问题

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;核蛋白需要浓度为 100 U/mL;病毒表达蛋白纯化需要浓度为 12.5 U/mL;疫苗产品需要浓度为 0.9 - 1.1 U/mL。

Q. 产品能否减少用量?

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:一价阳离子高于 150 mM,磷酸盐高于 100 mM,硫酸铵高于 100 mM,盐酸胍高于 100 mM,SDS 高于 0.1%,Triton X-100 高于 1%,Tween 20 高于 1%。

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 且浓度高于 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 Mg^{2+} 。

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. 怎样灭活全能核酸酶?如何去除?

A: 采用 EDTA 螯合金属离子能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 分钟等。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。