

产品说明

Benzonase 核酸酶，是一种核酸内切酶，可将核酸降解成 2~5 个碱基的 5'单磷酸核苷酸，因其能高效降解任何形式（双链，单链，线状，环状）的 DNA 和 RNA 而没有蛋白裂解活性，又被称为“全能核酸酶”。Benzonase 核酸酶能有效降低蛋白样品粘度，去除蛋白样品中核酸的污染，且无蛋白酶活性残留，核酸酶活性达 2×10^5 U/mg 蛋白。Benzonase 核酸酶在降低粘性的同时，也具有多种其他用途，如：减少了样品处理时间，增加了蛋白产量，离心时时沉淀和上清分离的更彻底，更便于溶液的离心（尤其是超滤）；提高色谱纯化的效率等。

本公司 Benzonase 核酸酶为 His 标签的 Benzonase 核酸酶（科研级别），重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

1 活性单位指在 37°C、pH8.0 下，1× Benzonase 核酸酶反应缓冲体系下，30 min 内使 A260 值降低 1.0 (相当于完全消化 37 μg DNA) 所需的酶量。

活性测定条件

10 mM Tris-HCl (pH 8.3 @ 25°C), 20 mM KCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄, 0.01% Tween 20, 1.5 mM MgCl₂.

浓度：250U/μl

保存条件：-20°C可保存 2 年，避免反复冻融

特点与应用

- 蛋白提取时去除核酸污染：蛋白提取时有效降解核酸，降低样品粘度，提高蛋白纯度
- 与裂解液配合使用，去除样品中核酸，降低样品粘性，利于 WB、IP、Co-IP 等下游操作
- 疫苗和病毒样品制备中 DNA 污染的去除
- 降解核酸，提高蛋白包涵体的质量和纯度
- 去除带负电荷的核酸，消除对双向电泳蛋白样品的影响，改善分离效果，增强电泳分辨率
- 减少存放的外周血单细胞的结块现象

产品包装规格及组成

| Component | AE2001A | AE2001B | AE2001C |
|----------------------|---------|---------|---------|
| Benzonase 核酸酶 | 25KU | 125KU | 500KU |
| Benzonase 核酸酶 Buffer | 0.3ml | 1.5ml | 5ml |

质量控制

经过严格的质控检测，确保该产品具有最高的活性和纯度。

注意事项

- 含大量蛋白、细胞壁、其它盐分的粗制品，对酶活性有部分抑制作用，使用时需要增加用量。
- 部分化学成分会抑制 benzonase 酶活性，详见附表
- 若需从样品中去除 benzonase，可利用镍柱或离子交换树脂去除
- **推荐用量**

| 细胞数量 | 1X10 ⁶ 个细胞 (10mg 组织) | 1g 湿重 (重悬液 10mL) | | 1L 发酵上清液 | 1L 培养物 |
|------|---|------------------|---------|----------|---------|
| 最低用量 | 125U | 25U/mL | 25U/mL | 0.1U/mL | 0.1U/mL |
| 推荐用量 | 500U | 250U/mL | 250U/mL | 25U/mL | 5U/mL |
| 作用时间 | 通常作用时间 37°C 在 15-60min; 25°C 在 30-120min; | | | | |

使用实例：

1. 小量样本的核酸去除实验

1) 按下表配制反应体系

| 反应组分 | 体积或浓度 |
|------------|---------|
| 含核酸的蛋白裂解液 | 19ul |
| 酶(250U/μl) | 0.1-1ul |
| 总体积 | 20ul |

- 2) 37℃×30-60min 反应，
- 3) 75℃×15min 失活酶，
- 4) 蛋白电泳。

2. 病毒样本中核酸的去除实验

1) 按下表配制反应体系

| 反应组分 | 体积或浓度 |
|------------|--------|
| 病毒粗提液 | 1ml |
| 酶(250U/μl) | 2-10ul |
| 总体积 | 1ml |

- 2) 37℃×30-60min 反应，
- 3) 后续病毒纯化操作。

Benzonase 抑制剂：

Benzonase 在非常广泛的条件下，都能保持很高的稳定性和活性，使其与多种细胞裂解液，如 RIPA，或含有多种离子和非离子型去污剂、还原剂的蛋白提取试剂等兼容。例如：1mM 的 PMSF 不会抑制核酸酶活性，浓度 <0.4% 的 Triton® X-100 对核酸酶活性几乎无影响，<0.4% 的脱氧胆酸钠使核酸酶可保持 70% 的活性，超过该临界值之后核酸酶活性会急剧降低，1% 的浓度会使活性丧失 70%；0.05% 的 SDS 对核酸酶活性几乎无影响，而 SDS 浓度在 0.1%-1% 之间时，核酸酶在变性后活性会急剧降低。另外，核酸酶可耐受 6M 尿素，当尿素达到 7M 时，核酸酶在变性后活性会急剧降低。大于 100mM 的盐酸胍会完全抑制 Benzonase 活性。1mM 的 EDTA 会部分抑制 Benzonase 活性，5mM 的 EDTA 会使活性丧失 90%，

| 条件参数 | 最适条件 | 可作用条件范围 |
|--|---------|---------|
| Mg ²⁺ | 1-2mM | 1-10mM |
| pH | 8.0-9.2 | 6-10 |
| 温度 | 37℃ | 0-42℃ |
| DTT | 0-100mM | >100mM |
| β-Mercaptoethanol | 0-100mM | >100mM |
| 一价阳离子浓度（如 Na ⁺ , K ⁺ ） | 0-20mM | 0-150mM |
| PO ₄ ³⁻ | 0-10 mM | 0-100mM |

Benzonase核酸酶的去除：

对于不带标签的 Benzonase 核酸酶，可通过色谱纯化去除核酸酶。常见的色谱纯化方式有阳离子交换介质和阴离子交换介质，具体的 Benzonase 去除条件如下表：

| 阳离子交换介质 | pH | 样品和平衡缓冲液 | Benzonase 核酸酶 |
|----------------------------------|----|---------------------------|-----------------|
| 磺酸基 SO ₃ ⁻ | 6 | 20mM phosphate/100mM NaCl | bound |
| 磺酸基 SO ₃ ⁻ | 6 | 20mM phosphate/200mM NaCl | not bound |
| 磺酸基 SO ₃ ⁻ | 5 | 20mM acetate/200mM NaCl | bound |
| 磺酸基 SO ₃ ⁻ | 5 | >20mM acetate/700mM NaCl | not bound |
| 磺酸基 SO ₃ ⁻ | 4 | >20mM acetate/300mM NaCl | bound |
| 磺酸基 SO ₃ ⁻ | 4 | 20mM acetate/800mM NaCl | not bound |
| 羧酸基 COO ⁻ | 6 | 20mM phosphate/0mM NaCl | not bound |
| 羧酸基 COO ⁻ | 5 | 20mM acetate/40mM NaCl | bound |
| 羧酸基 COO ⁻ | 5 | 20mM acetate/100mM NaCl | not bound |
| 羧酸基 COO ⁻ | 4 | >20mM acetate/150mM NaCl | partially bound |
| 羧酸基 COO ⁻ | 4 | 20mM acetate/400mM NaCl | not bound |

| 阴离子交换介质 | pH | 样品和平衡缓冲液 | Benzonase 核酸酶 |
|---------|----|-----------------------|---------------|
| TMAE | 7 | 50mM Tris/200mM NaCl | not bound |
| TMAE | 7 | 50mM Tris/50mM NaCl | not bound |
| TMAE | 8 | 50mM Tris/250mM NaCl | not bound |
| TMAE | 8 | >50mM Tris/100mM NaCl | not bound |
| TMAE | 9 | >50mM Tris/200mM NaCl | not bound |
| TMAE | 9 | 50mM Tris/100mM NaCl | not bound |
| DEAE | 7 | 50mM Tris/200mM NaCl | not bound |
| DEAE | 7 | 50mM Tris/50mM NaCl | not bound |
| DEAE | 8 | 50mM Tris/250mM NaCl | not bound |
| DEAE | 8 | >50mM Tris/100mM NaCl | not bound |
| DEAE | 9 | >50mM Tris/250mM NaCl | not bound |
| DEAE | 9 | 50mM Tris/50mM NaCl | not bound |
| DMAE | 8 | >50mM Tris/250mM NaCl | not bound |
| DMAE | 8 | 50mM Tris/50mM NaCl | not bound |

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断。