

Benzonase 核酸酶使用说明书

产品及特点	<p>Benzonase 是由粘质沙雷氏菌 (<i>Serratia marcescens</i>) 分泌的、由两个大小为 26 kD 的亚基组成的一种广谱核酸酶,由 Benzon 公司最先商品化,故名 Benzonase。其活力比 DNase I 强 34 倍,能以相同的效率酶切单联和双链 DNA 和 RNA,将其消化成 3-5 碱基长度(杂交限度以下)的 5' -单磷酸寡核苷酸。其活性需要 Mg^{2+},最佳 pH 在 6-10 之间,最适温度在 35-44℃。本产品是在野生型的 Benzonase 的基础上经过基因工程改进而得,它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none">1. 微量本产品就能高效降解所有形式(包括单链,双链,线性和环状)的 DNA 和 RNA,尤其适合从细胞裂解物中去除核酸,降低样品粘度而不影响蛋白电泳图谱。2. 在有变性剂存在的条件下(如 4M 尿素)还有活性,可以直接加入很多蛋白裂解液中。3. 降解核酸完全,符合 FDA 关于核酸污染的处理规程,可以用于工业生产。4. 可以用于蛋白提取、2D 凝胶电泳、Western Blot、免疫沉淀等实验。						
规格及成分	<table border="1"><thead><tr><th>成份</th><th>500 U 包装</th></tr></thead><tbody><tr><td>Benzonase 核酸酶 (1 U/uL)</td><td>500 uL</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>1 份</td></tr></tbody></table> <p>酶储备液的配方是: 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 20 mM NaCl, 2mM $MgCl_2$, 50%甘油。</p> <p>酶单位定义: 在标准反应体系内 30 分钟内使 OD260 改变 1.0 的酶量,相当于彻底降解 37 ug DNA 的酶量。标准反应体系是: 1mg/mL 的超声打断的 DNA 片段, 50 mM Tris-HCl pH8.0, 0.1 mg/mL BSA, 1mM $MgCl_2$, 37℃保温。</p>	成份	500 U 包装	Benzonase 核酸酶 (1 U/uL)	500 uL	使用手册	1 份
成份	500 U 包装						
Benzonase 核酸酶 (1 U/uL)	500 uL						
使用手册	1 份						
运输及保存	低温运输、-20℃保存,有效期两年。注意:不能放在-70℃保存。						

使用方法

一、酶的稀释

本产品浓度为 1 U/uL, 如果需要稀释 Benzonase, 需要自备酶稀释液, 稀释液的配方是: 50 mM Tris-HCl pH8.0, 20 mM NaCl, 2 mM MgCl₂。在稀释液中的 Benzonase 只能在 4°C 放置数天。

二、用于去除核酸的标准试验 (用户可以以此为参考设计自己的实验)

将 500 ng 鲑鱼精 DNA 溶解在 50 mM Tris-HCl pH8.0, 1 mM MgCl₂, 0.1 mg/mL BSA 中, 然后加入 90U 的 Benzonase, 37°C 保温 4 小时, 只剩下 0.2 ng 可以杂交检测的 DNA, 如果 23°C 保温 4 小时, 只剩下 0.5 ng 可以杂交检测的 DNA。如果 0°C 保温 4 小时, 只剩下 1 ng 可以杂交检测的 DNA。

二、用于降低 *E.coli* 裂解液的粘度的标准试验 (用户可以以此为参考设计自己的实验)

将 7.5 g *E.coli* 悬浮于 15 mL 悬浮液 (10 mM Tris-HCl pH 9.0, 1 mM EDTA, 6 mM MgCl₂) 中, 加入适量的本产品, 然后将悬浮液经过弗氏压碎器破碎后迅速置于 0°C 冰上。

客户可以根据下表自行选择加入本产品的量

本产品 在裂解液 中的浓度	得到不粘稠裂解液所需 孵育时间 (不粘稠是以得到可滴落的 <i>E.coli</i> 裂解液为标准)
0.24U/mL	>60 min
2.4 U/mL	15 min
8 U/mL	5 min
24.0 U/mL	1.25 min

关联产品

DNase I (BTN101004); RNase-free DNase I (BTN90903)

答客问

Q: 什么情况下应该使用 Benzonase 核酸酶?

A: Benzonase 核酸酶的应用领域包括: 降低样品粘度以利操作 (例如重组蛋白纯化, 哺乳动物细胞裂解特下游要求粘度较低等情况): 减少存放的外周血单核细胞 (PBMC) 的结块现象, 蛋白复性前高质量包涵体的制备, 去除带负电荷的核酸对双向 SDS-PAGE 蛋白样品的影响。

Q: 怎样灭活 Benzonase 核酸酶? 如何去除?

A: 采用 EDTA 螯合金属离子会可逆地抑制 Benzonase 活性, 极端条件会造成不可逆失活, 例如 100mM NaOH, 70°C 处理 30 分钟等, Benzonase

可以用色谱法从目的产物中分离出去，由于这种核酸内切酶极其稳定，建议在终产物中要求不含有核酸酶的应用中不要使用 Benzonase 。

Q: 我的 Benzonase 核酸酶遗忘在桌上了，还能用吗?

A: 根据破坏性稳定性测试，Benzonase 核酸酶非常稳定，即使在 37°C 下孵育数月仍能保持 >90% 的活性。

Q: 我需要使用别的缓冲液，哪些条件是 Benzonase 核酸酶必需的？哪些条件会降低它的活性?

A: Benzonase 核酸酶的活性需要 1-2 mM Mg^{2+} ，而在单价阳离子浓度 >50%，磷酸浓度 >20 mM，硫酸铵浓度 >25 mM 等情况下，Benzonase 的活性会降低 50%

Q: Benzonase 核酸酶与蛋白酶抑制剂混合物兼容吗?

A: 可以兼容，但是对于含有 EDTA 配方的蛋白酶抑制剂混合物要特别小心，EDTA 浓度大于 1mM 时会抑制 Benzonase 的活性。

Q: 我的目的蛋白不溶，需要进行变性条件纯化，Benzonase 核酸酶能在尿素环境消化核酸吗?

A: 实际上 Benzonase 核酸酶在有尿素（浓度可达 6M）的情况下会增加活性，在尿素浓度为 6M 时活性先增加，随着时间处长活性又有降低。尿素 7M 时，Benzonase 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。如果 Benzonase 核酸酶的原浓度较高时会部分补偿 7M 尿素的影响。
