

# Salt Active Universal Nuclease (GMP Grade)

## 耐高盐全能核酸酶

使用前请仔细阅读说明书

目录号: LN301

版本号: Version 1.0

保存: -18°C及其以下温度下保存两年。

浓度: 25 units/ $\mu$ l

### 产品说明

Salt Active Universal Nuclease (GMP Grade) (耐高盐全能核酸酶)是一种来源于深海噬盐发光菌 (*Photobacterium Profundum*), 经基因工程改造并在大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 中表达的非特异性广谱核酸内切酶。该耐高盐全能核酸酶通过切割核酸链中的磷酸二酯键, 将长链核酸降解为长度为2-5个碱基、具有5'-磷酸基和3'-羟基的短链寡核苷酸。该酶可高效降解所有类型 (单链、双链、线性或环状) 的DNA和RNA, 在高盐浓度下 (500 mM NaCl/KCl) 具有最佳活性。

### 产品组成

Component	LN301-01 (2.5 KU)	LN301-02 (25 KU)
Salt Active Universal Nuclease	100 $\mu$ l	1000 $\mu$ l

### 活性定义

在37°C, 25 mM Tris-HCl, pH 8.0 (25°C), 500 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>反应体系中, 1U耐高盐全能核酸酶在30分钟内消化50  $\mu$ g/ml的小牛胸腺DNA (Sigma, D-1501), 产生OD<sub>260nm</sub>处1A的吸光值变化。

### 酶储存缓冲液

25 mM Tris-HCl, 500 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50% Glycerol, pH 7.5, @25°C

### 推荐使用条件

本产品在较为广泛的盐浓度、温度、pH、Mg<sup>2+</sup>浓度条件下都能保持很高的稳定性和反应活性, 以下为本产品推荐使用条件:

条件参数	最适条件	有效条件
NaCl/KCl	350-750 mM	0-1000 mM
温度	10-45°C	0-50°C
pH	7.7-9.5	> 6.5
Mg <sup>2+</sup>	1-50 mM	-

\*注意: 本说明书中提及的最适条件下本产品酶活 $\geq$ 80%, 有效条件下酶活 $\geq$ 20%。

此外本产品能够与多种还原剂、表面活性剂、蛋白变性剂及其它常见试剂等兼容。以下为本产品可耐受的部分条件参数:



条件参数	最适条件	有效条件
甘油	0-10%	0-30%
磷酸根离子 (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )	0-70 mM	0-170 mM
EDTA	0-2 mM	0-5 mM
NH <sub>4</sub> Cl	50-180 mM	0-300 mM
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0-120 mM	0-250 mM
咪唑	0-100 mM	0-500 mM
尿素	0-2 M	0-4 M
盐酸胍	0-100 mM	0-250 mM
SDS	0.002%	0-0.003%
Triton X-100	0-3.5%	0-15%
Tween 20	0-3%	0-10%
DTT	0-1 mM	0-10 mM
TCEP	0.1 mM	0-5 mM
PMSF	0-1 mM	-
蛋白酶抑制剂	≤2 mM EDTA	-

### 参考反应体系

从细胞抽提物或细胞裂解液中去除核酸，本产品的使用量受到多种因素的影响，如实验目的、细胞类型、裂解液组成、NaCl浓度、Mg<sup>2+</sup>浓度、裂解液pH、核酸浓度、反应温度等。对于缓冲液组分为25 mM Tris -HCl, 500 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 8.0的样品，参考反应体系如下表：

实验目的	样品类型	推荐酶量 (U/ml)	反应条件
核酸去除	蛋白溶液	100	25-37°C, 30 min
	试剂	100	25-37°C, 30 min
	细胞裂解物	1000	25-37°C, 60 min或4°C过夜
	上清组分	500	25-37°C, 60 min或4°C过夜
降低黏度	细胞裂解物	25-50	25°C, 10-20 min

\*建议：

- 如下情况需适当提升酶量或延长孵育时间：pH < 8.0, NaCl浓度大于或小于500 mM, 反应温度低于25°C。
- 反应温度高于25°C可适当减少酶量或缩短孵育时间。

### 推荐使用方法

#### 1. 核酸去除

- 添加适量MgCl<sub>2</sub>将反应体系中的Mg<sup>2+</sup>浓度调整在1-15 mM范围内，pH调整至7.7-8.5之间；
- 按照上表推荐的用量加入本产品进行反应，也可根据上述自行调整反应条件和一定范围内调整酶量。

#### 2. 灭活

通过添加还原剂 (TCEP或DTT) 实现本产品的灭活。不同工艺流程中，通过改变温度、孵育时间、还原剂浓度等来灭活该产品。一般情况下，25-37°C反应5-10分钟，可以灭活99%以上的酶。灭活反应可参考下表：



灭活条件 (温度/时间)	DTT	TCEP
4°C/18 hr	/	10 mM
25°C/60 min	10 mM	5 mM
30°C/30 min	10 mM	5 mM
40°C/30 min	5 mM	1 mM
50-70°C/30 min	1 mM	1 mM

### 适用范围

1. 蛋白纯化或组织细胞样品蛋白提取时，用于去除核酸污染、降低样品黏度，便于下游操作；
2. 在细胞或细菌裂解液中加入本产品，用以去除粗提物中的核酸、降低溶液黏度；
3. 去除带负电的核酸对双向SDS-PAGE中蛋白样品的影响，改善蛋白分离效果并增强二维电泳分辨率；
4. 病原微生物诊断应用，如宏基因组测序 (mNGS) 样品去除宿主核酸；
5. 应用于疫苗生产、病毒纯化、蛋白和多糖类制药工业作为宿主残留核酸去除试剂，降低宿主核酸残留至皮克 (pg) 级别，提高生物制品功效和安全性；
6. 其它去除宿主核酸的应用。

### 注意事项

1. 若溶液偏酸性，或含有较高浓度的表面活性剂、蛋白变性剂等，应适当增加酶量或延长孵育时间；
2. 若样品为含有单量蛋白、细胞壁或其它组分的粗制品，会一定程度抑制酶活，因此也需要提高酶量；
3. 耐高盐全能核酸酶的活性受到离子浓度、反应温度、pH等因素的影响，初次使用建议摸索最适用量。

### 常见问题&解决方案

1. 在高盐浓度下进行实验有哪些好处？

在高盐浓度下 ( $\geq 200$  mM NaCl) 进行纯化流程，可以通过破坏分子间静电相互作用，使核酸从蛋白或病毒上脱离。另外高盐浓度可减少由于静电作用导致的蛋白聚集等。由于上述原因，多种生物学实验方法需要在高盐条件下进行。全式金耐高盐全能核酸酶可直接用于这些高盐条件下，降低溶液黏度、去除核酸。

2. 该产品可以在低盐条件下使用吗？

可以。全式金耐高盐全能核酸酶在250 mM NaCl或KCl条件下仍具有60%的活性；在0 mM NaCl或KCl条件下，仍具有15%的活性。根据实验目的，该产品在低盐条件下需要适当提高酶用量、延长孵育时间。

3. 当反应温度低于25°C时，如何保证消化效果？

在反应体系固定的情况下，该产品的消化效果主要取决于酶的用量、反应温度以及反应时间，当反应温度较低时，建议适当延长反应时间，尽量不采用加入过量耐高盐全能核酸酶来提高消化效果，因为会造成耐高盐全能核酸酶残留问题。

4. 如何去除样品中的该产品？

由于该产品具有较高的pI值，与阳离子交换柱结合力较强，因此可以使用常用的阳离子交换层析去除。



## 质量控制

项目	标准
产品外观	无色透明
分子量	30 kDa
等电点	9.2
纯度	≥95% (SDS-PAGE)
酶活	25 U/μl
比活	≥2.0×10 <sup>5</sup> U/mg蛋白
辅助因子	1~15 mM Mg <sup>2+</sup>
工作pH	最适8.0 (有效工作范围6.5-9.5)
工作温度	最适37°C (有效工作范围0-50°C)
蛋白酶活性	未检出

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1.0-202503

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 [complaints@transgen.com](mailto:complaints@transgen.com)

