

Pannarase 耐高盐全能核酸酶(SAN),更高盐耐受型使用说明书



上海逐典生物科技有限公司

Pannarase 耐高盐全能核酸酶(SAN),更高盐耐受型

产品简介

盐耐受全能核酸酶 (Salt Active Nuclease, SAN) 是一种重组非特异性核酸内切酶,与全能核酸酶相比,具有较高盐浓度耐受,广泛应用于生产工艺流程中高盐环境下核酸(包括双链和单链 DNA 和 RNA)污染去除。

本品经基因工程改造,在 *Escherichia coli(E.coli)* 中表达纯化,不仅可在科学研究中降低细胞上清和细胞裂解液的粘度,提高蛋白纯化效率及功能研究;还可以应用在病毒纯化、疫苗生产、蛋白和多糖类制药工业作为宿主残留核酸去除试剂,将宿主残留核酸降至皮克 (pg) 级别从而提高生物制品功效和安全性;并且可以有效防止细胞治疗和疫苗研究中人外周血单核细胞 (PBMC) 的结团。

本品以无菌液体酶的形式提供,储存于缓冲液 (25 mM Tris-HCl, 5mM MgCl₂, 500mM NaCl, 50% Glycerol, pH7.5) 中,在 600-700mM NaCl 条件下具有最佳活性。

产品信息

产品货号	产品名称	产品规格
CYG070F0010	耐高盐全能核酸酶(SAN),更高盐耐受型	100,000U
CYG070F0050	耐高盐全能核酸酶(SAN),更高盐耐受型	500,000U
CYG070F0500	耐高盐全能核酸酶(SAN),更高盐耐受型	5,000,000U

产品性质

同命名:	Endonuclease, Salt active endonuclease
分子量:	24.88 kDa
等电点:	9.61
纯度:	≥95%
酶活:	50 U/μl
工作温度:	25°C (工作范围 0-42°C)
辅助因子:	1-10 mM Mg ²⁺
储存缓冲液:	25 mM Tris-HCl, 5mM MgCl ₂ , 500mM NaCl, 50% Glycerol, pH7.5
活性单位定义:	在底物过量的条件下, 37°C时, 30 min 内 260nm 处吸光值变化 1.0 所需要的酶量, 定义为一个活性单位 (U)

主要用途

1. 疫苗和病毒样品制备中高盐环境下 DNA 污染的去
2. 与细胞或细菌裂解液配合使用, 去除粗提物中的核酸, 降低溶液粘性, 提高蛋白质产量
3. 减少存放的外周血单细胞(PBMC)的结块现象
4. 降解核酸, 利于不可溶性蛋白复性前高质量包涵体制备
5. 有效去除带负电荷的核酸对双向 SDS-PAGE 蛋白样品的影响, 改善蛋白质分离效果, 增强 2-DE 分辨率

储存与运输条件:

干冰运输。-15°C ~ -25°C保存，避免反复冻融，有效期2年。

若是打开包装后于4°C放置超过一周，建议过滤除菌防止微生物污染。

【注】：不要置于-70°C，因冻结结冰会造成酶活性的丧失。

使用说明

核酸的去除

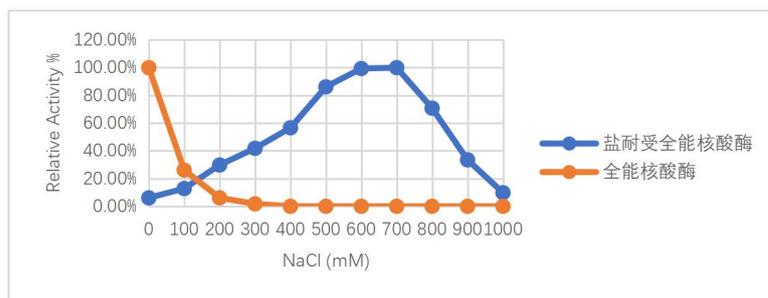
1. 调整细菌/细胞裂解液 NaCl 浓度至 600mM，并于 4°C 孵育过夜；
2. 添加 50-1000U/ml SAN，并于 25°C 反应 30min；
3. 通过琼脂糖凝胶电泳检测核酸的清除效果。

降低粘度

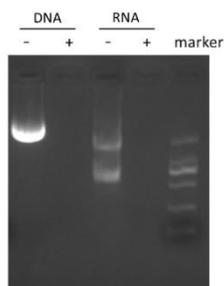
注：为了更好的酶解效果，样品 NaCl 浓度需调整至终浓度为 600mM。如果没有达到该浓度，建议增加 SAN 酶的量或延长时间来达到最佳结果。

1. 向含有 600mM NaCl 样品中，加入 SAN(建议每 ml 裂解液中加入 25U SAN,即 125U/g 细菌湿重。)
2. 于室温震荡孵育 10-30min。

检测数据_产品耐盐曲线



检测数据_酶切效果



常见问题 Q&A:

问题	回答
SAN 的活性降低或者丧失可能原因有哪些?	SAN 通常是非常稳定的, 然而, 由于样品中存在变性剂(如蛋白酶)或由于不正确的储存条件而导致的不可逆失活, 可能会导致活性丧失。SAN 也可以被还原剂、高浓度洗涤剂、甘油或螯合剂的存在所抑制。
SAN 在含有 0.1% Triton® X-100 的溶液中具有活性吗?	是的。不过活性会降低至正常活性的 70%。在 0.5% Triton® 中, 将几乎没有活性。
SAN 在含有 10%甘油的缓冲液中有活性吗?	有活性, 但是活性降低了, 约为与不含甘油样品的 80%活性。在 50%的甘油溶液中, 几乎没有活性。
可以用 SAN 替代 Benzonase 的所有应用场景吗?	需要在高盐缓冲液中作用的非特异性核酸酶的应用中, SAN 可以代替 Benzonase®。
与非盐活性核酸酶相比, 耐高盐活性 SAN 的优点和缺点是什么?	许多蛋白质缓冲液含有高浓度的盐, 以便从蛋白质中释放 DNA。与其他核酸酶相比, SAN 在高盐浓度下具有最佳活性。因为最优活动依赖于盐, 所以在待检测样品中盐含量非常少的情况下, SAN 的活性可能不高。
如何去除 SAN?	DTT 或 TCEP 等还原剂可在中等温度(25 - 55°C)下在 1-10 mM 处使用。加入螯合剂也会抑制 SAN 活性。由于 SAN 的等电点很高(9.6), 可以很容易地用离子交换色谱法去除酶。热灭活不是很有效。在 70°C 时, SAN 的半衰期约为 2 小时, 但 SAN 易受还原剂的影响, 这些还原剂可以增强酶的热失活。
SAN 的最低反应温度是多少?	最佳反应温度为 37°C。SAN 在低温下也很活跃, 但反应会慢一些。4°C时的活性约为 37°C时活性的 5-10%。这可以通过增加反应时间或在反应中使用的酶的量来补偿。
如何较为直观的判断 SAN 是否发挥作用?	随着 SAN 降解 DNA 和 RNA, 细胞裂解液在视觉上变得不那么粘稠。任何核酸检测方法都可以用于检测核酸的消化效果。