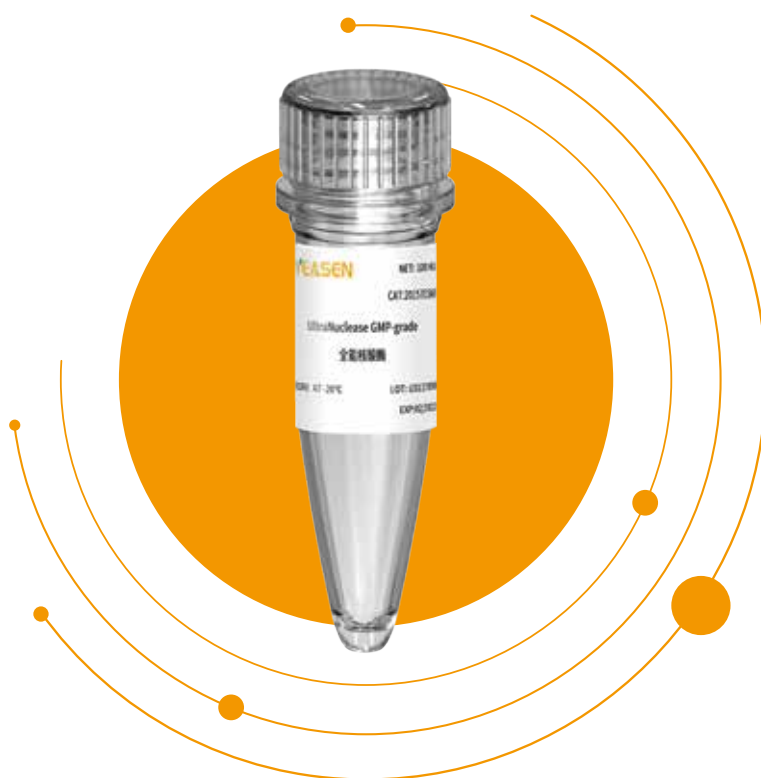


降解核酸的最佳选择

UCF.ME[®] UltraNuclease 全能核酸酶

DMF备案号：MF037298



公司简介



翌圣生物科技(上海)股份有限公司(Yeasen Biotechnology (Shanghai) Co., Ltd.) 成立于2014年,是一家专注于工具酶原料及抗原抗体研发与生产的高新技术型企业,致力于为生命科学领域内科研客户及精准医疗相关行业的工业客户提供高质量的产品和优质的服务。



翌圣提供GMP级别产品

翌圣生物是中国首家以分子酶产品通过ISO 13485质量管理体系认证的公司。翌圣生物自成立以来便逐步建立严格规范的生产质量管理体系,对工作人员、机器设备、材料、制度、生产和工作环境等各方面进行严格规范的管理。以分子酶产品通过ISO 13485质量管理体系认证标志着翌圣生物分子酶的研发、生产、销售全流程受到了国际官方组织的认可。武汉超洁净分子酶产业化中心位于武汉光谷生物城,占地3000平,拥有百升级发酵线、工业级AKTA纯化线、全自动包装线等设备,严格执行ISO 13485质量管理体系标准,保证了分子酶类产品标准化、规模化、品质化。

“GMP级别”是翌圣生物的品牌用语,用来描述由本公司已获得ISO 13485认证的武汉超洁净分子酶产业化中心所生产的产品。翌圣生物GMP级别产品符合ISO 13485质量管理体系标准,生产与变更控制严格,批次记录与历史文件完整,满足客户审计需求。



UCF.ME[®] UltraNuclease全能核酸酶

成功加入FDA DMF II类备案



Application Type/Number:

MF037298



目录

01 UCF.ME® UltraNuclease ----- 01-09

- 产品介绍 ----- 01
- 产品特点 ----- 02
- 产品质量标准 ----- 03
- 应用场景 ----- 04
- 产品性能 ----- 05-09
 - UCF.ME® UltraNuclease稳定性研究 ----- 05
 - 不同条件对UCF.ME® UltraNuclease酶活的影响 ----- 06-07
 - 最适反应条件 ----- 08

02 UCF.ME® UltraNuclease ELISA kit ---- 09-15

- 产品介绍 ----- 09
- 产品详情 ----- 10
- 产品优势 ----- 11
- 产品性能 ----- 12-15

03 FAQ ----- 16

04 参考文献 ----- 17

05 产品订购信息 ----- 18

产品介绍

UltraNuclease（全能核酸酶），又称非限制性核酸内切酶、广谱核酸酶；是一种来源于 *Serratia Marcescens* 的非特异性核酸内切酶，可在链内任意核苷酸间进行切割，将核酸完全消化成 2-5 个碱基长度的 5'-单磷酸寡核苷酸，本品经基因工程改造在 *E.coli* 中表达纯化并在 GMP 环境下制备，能够在非常广泛的条件下降解各种形式的（双链，单链，线状，环状，天然或变性）DNA 和 RNA，广泛用于去除生物制品中的核酸。

因其能高效降解任何形式的DNA和RNA，又被称为“全能核酸酶”。

作用

可将核酸完全消化成2-5个碱基长度的5'-单磷酸寡核苷酸

别名

全能核酸酶、广谱核酸酶、非限制性核酸内切酶

酶的来源

最初来源于 *Serratia Marcescens* 由Yeasen研发团队经过重组构建后在 *E.coli* 大量表达

酶的性质

分子量:26.5 kD
电点:6.85

应用场景

广泛用于去除生物制品中的核酸



产品特点

应用广泛

可降解所有形式的
DNA 和 RNA

高纯度、高酶活

纯度 $\geq 99\%$
比活 $\geq 1.5 \times 10^6$ U/mg

符合药典

无动物源性、
无抗生素、无内毒素



GMP生产

生产标准高，满足从研发到
生产的大规模使用需求

符合资质

审计资料齐全
产品申报无忧

适应性强

稳定性高，耐受性强
适应多种操作条件

产品质量标准

检测项目	质量标准	检测方法	参照标准
外观	液体无色透明、标签清晰	目测法	2020中国药典第四部通则0902
鉴别	符合标准	SDS-PAGE法	企业标准
比活	$\geq 1.5 \times 10^6$ U/mg	酶活/蛋白浓度	企业标准
酶活	250-300 U/ μ L	通用底物法	企业标准
蛋白纯度	≥ 99 %	HPLC-SEC法	2020中国药典第四部通则0516
蛋白酶残留	阴性	通用底物法	企业标准
细菌内毒素	<0.25 EU/1000 U	凝胶法	2020中国药典第四部通则1143
大肠杆菌宿主蛋白	<10 ppm (μ g/mL)	ELISA法	2020中国药典第四部通则3412
无菌检测	无菌生长	培养法	2020中国药典第四部通则1101
支原体检测	阴性 (不得检出)	扩增法	企业标准
病原体检测 (HIV/HBV/HCV)	阴性 (不得检出)	PCR法	2020中国药典第四部通则3306
重金属	符合标准	重金属检查法	2020中国药典第四部通则0821

应用场景

1. 病毒的纯化

- 多应用于慢病毒、AAV、重组腺病毒疫苗、灭活病毒、溶瘤病毒等。

病毒类型	酶的用量	处理温度	处理时间
重组腺相关病毒 (rAAVs) ^[1]	50 U/mL	37 °C	30 min
人狂犬疫苗病毒 ^[2]	50 U/mL	37 °C	24 h
流感病毒浓缩液 ^[3]	25 U/mL	37 °C	4 h
慢病毒 ^[4]	15-50 U/mL	37 °C	15-30 min

2. 大肠杆菌表达的重组蛋白纯化

- 对于某些大肠杆菌表达的蛋白，很容易形成包涵体，在纯化的过程中常常与宿主DNA缠绕在一起，破碎的菌体往往非常粘稠，大大降低了蛋白的纯化效率。
- 超声破碎菌体时，在菌液中添加10-50 U/mL UCF.ME®UltraNuclease，破碎完成后，将样本置于37°C孵育30 min，或4°C过夜，可有效降低菌液的粘度，大大提高纯化效率。

3. 防止细胞结团

- 近年来，冷冻保存的外周血单核细胞（PBMC）在免疫分析中的应用急剧增加。PBMC细胞最大的特性是在复苏后极易结团，容易导致细胞质量低，检测结果不可信。
- 在细胞复苏时将适当浓度（25-50 U/mL）^{[5],[6]}的全能核酸酶加入到培养基中和细胞共培养，可以有效防止细胞结团。

UCF.ME® UltraNuclease稳定性研究

1. 储存和冻融稳定性

将酶分别储存在-20 °C、4 °C、37 °C，检测酶活性的变化趋势(图1a);将酶在-80°C~25°C下反复冻融10次，检测酶活性的变化趋势(图1b)：

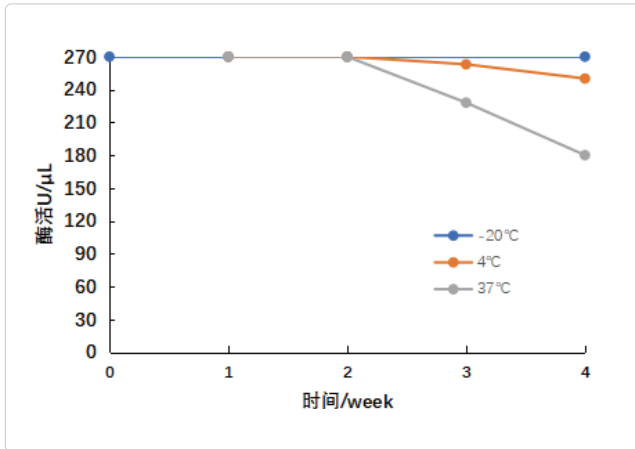


图1a: -20°C、4°C储存四周酶活无变化，37°C下两周酶活无变化

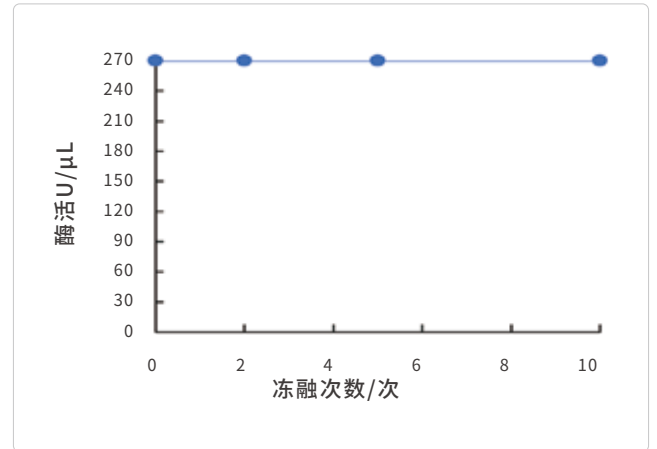


图1b: -80°C~25°C下反复冻融10次后，酶活不受影响

2. 运输稳定性

采用干冰混合冰袋的运输方式，检测酶活性的变化趋势：

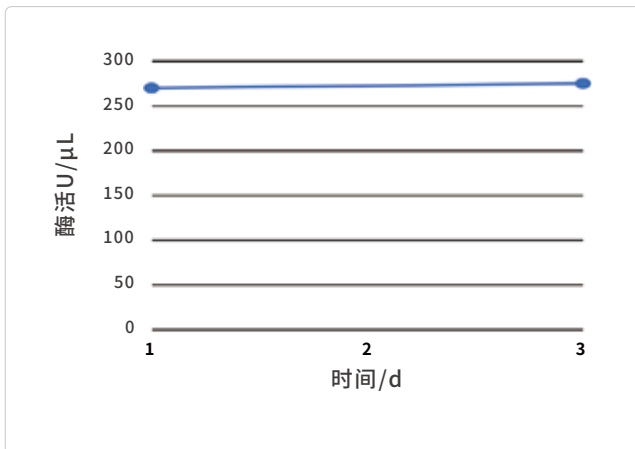


图2a: 干冰混合冰袋运输3天，酶活性不受影响

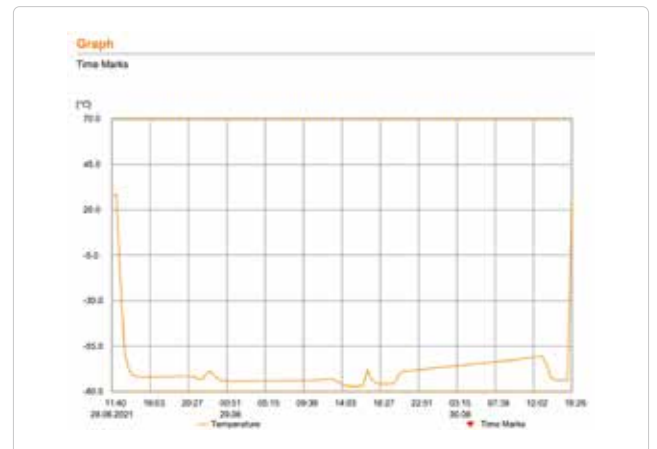


图2b: 运输过程实时温度记录

不同反应条件下对酶活性的影响

1. 反应温度和pH对酶活性的影响

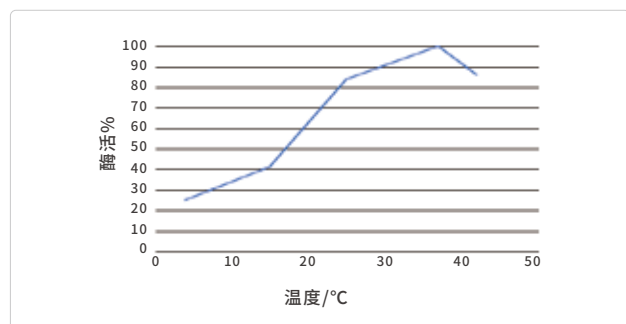


图1a: 酶活随温度升高而增大, 最佳温度为37 °C

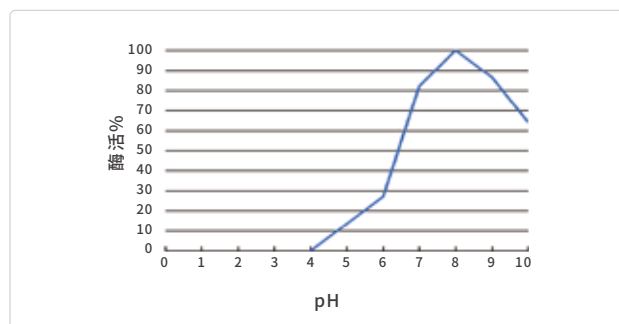


图1b: 酶在pH 4-10范围内具有酶活性, 最适pH 8.0

2. 离子对酶活性的影响

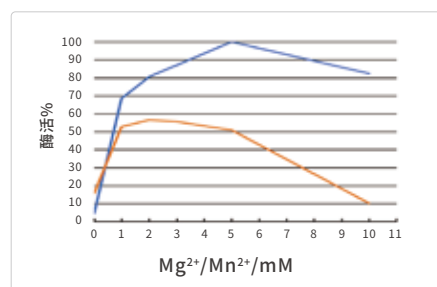


图2a: 在5mM Mg²⁺条件下, 核酸酶能发挥最大活性, 在没有镁离子存在的条件下, 1-2mM Mn²⁺也能帮助酶发挥作用

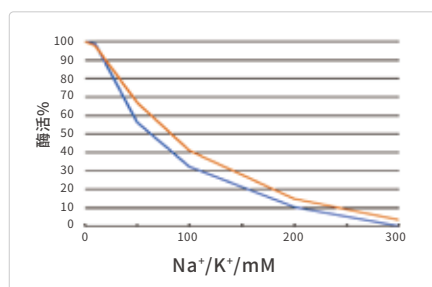


图2b: Na⁺/K⁺会抑制酶的活性, 浓度超过300 mM时活性完全丧失

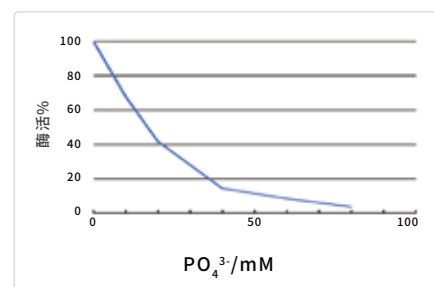


图2c: PO₄³⁻浓度越高对酶活抑制程度越显著

3. 常用表面活性剂对酶活性的影响

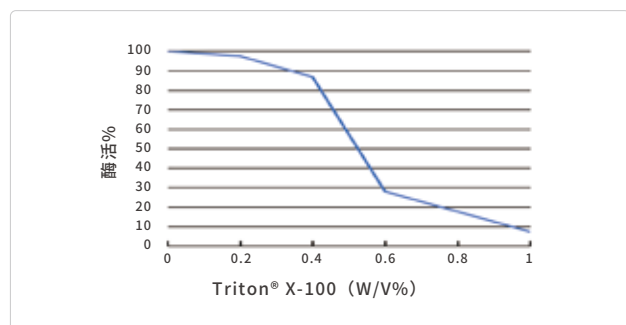


图3a: Triton® X-100会影响酶活, 需控制在较低浓度

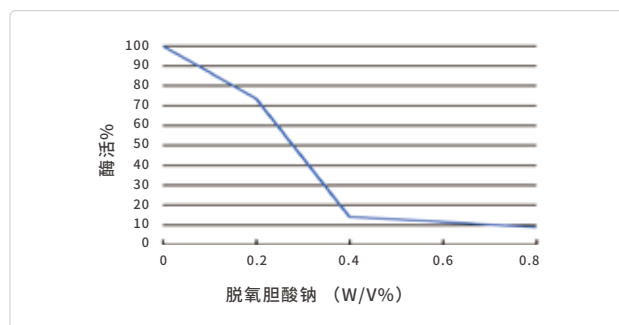


图3b: 脱氧胆酸钠会影响酶活, 需控制在较低浓度

4. 常用的蛋白变性剂对酶活性的影响

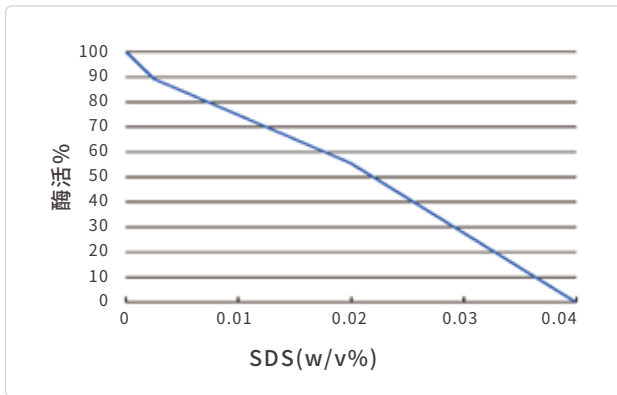


图4a: 低浓度SDS强烈抑制酶活

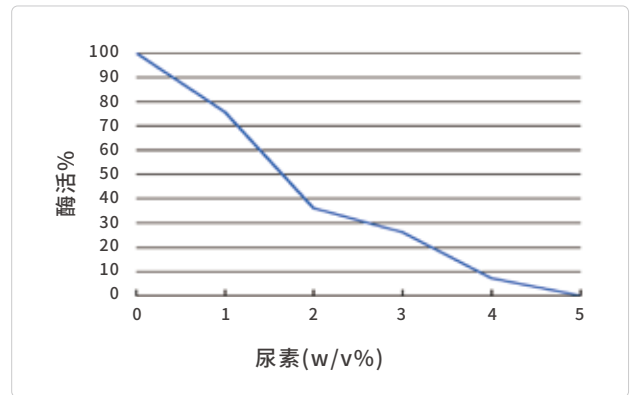


图4b: 1 M尿素条件下酶活保持在70%，5 M尿素完全抑制酶活

5. 其他常用试剂对酶活性的影响

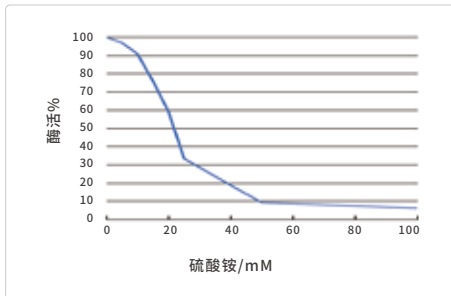


图5a: 酶活受硫酸铵浓度影响较大

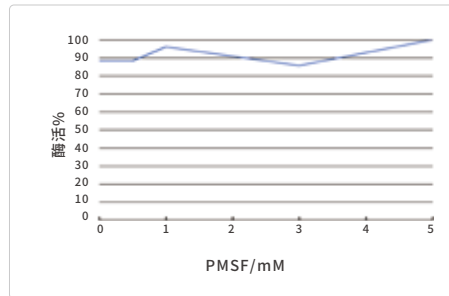


图5b: PMSF几乎不影响酶活

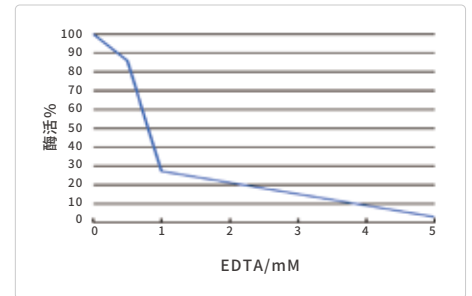


图5c: 低浓度的EDTA基本不会影响酶活性 (≤ 0.5 mM), 5 mM的EDTA几乎完全抑制酶活性



最适反应条件

条件参数	最佳条件	有效条件
Mg ²⁺	1-5 mM	1-10 mM
pH	8-9	6-10
温度	37 °C	0-42 °C
Na ⁺ /K ⁺	0-20 mM	0-150 mM
PO ₄ ³⁻	0-10 mM	0-100 mM
EDTA	0-0.5 mM	0-5 mM
Triton®X-100	0%-0.4%	0%-1%

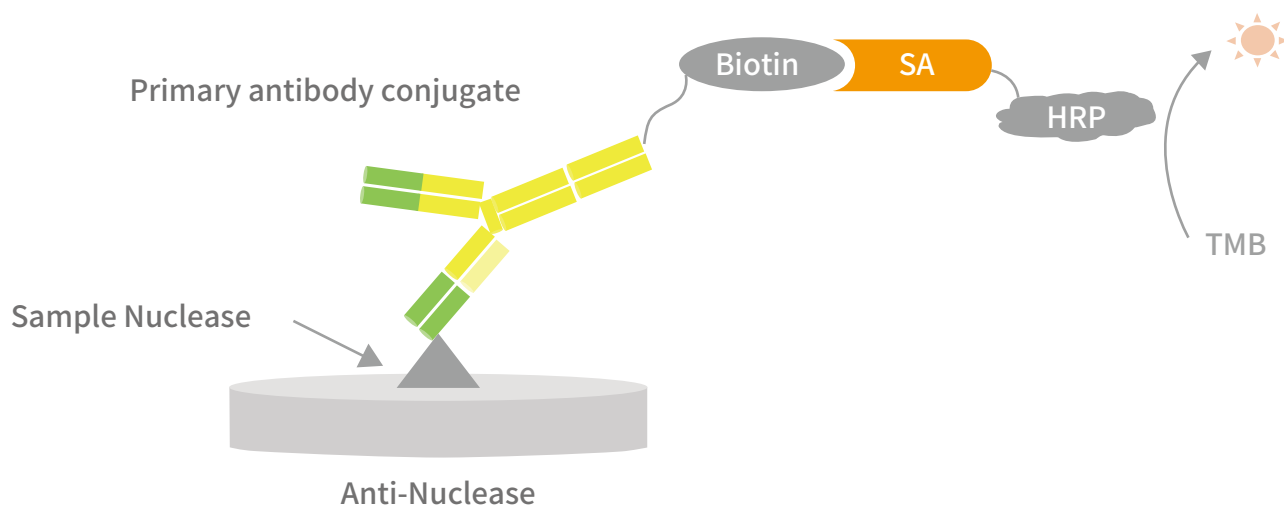
产品介绍

UCF.ME[®] UltraNuclease ELISA kit



在使用了全能核酸酶的生物制品如病毒疫苗、重组蛋白中，全能核酸酶作为一种工艺杂质，虽然容易被去除，但依然需要对最终产品进行全能核酸酶残留检测，确保没有残留而不会影响产品性能。另外，对工艺中间产品进行全能核酸酶残留检测也可以作为纯化工艺优化的参考。

UCF.ME[®] UltraNuclease ELISA试剂盒是用于定量检测生物制品中天然和重组全能核酸酶残留的完整试剂盒。该产品利用夹心ELISA法，通过预包被在微孔板上的抗全能核酸酶抗体对样品中的全能核酸酶进行捕获，随后偶联生物素的抗全能核酸酶抗体结合到被捕获的全能核酸酶上，再通过与偶联辣根过氧化物酶（HRP）的链霉亲和素结合，HRP催化TMB底物产生颜色变化，从而实现全能核酸酶残留的定量检测。



产品详情

检测限LOD:	23 pg/mL (范围 0.047~3 ng/mL)
实验时间:	<4 hours
实验原理:	夹心ELISA法
信号放大系统:	生物素-链霉亲和素系统
应用:	生物制品中全能核酸酶残留量检测
检测波长:	450nm
组分:	

- A: 酶标板
- B: Detection Antibody: Biotin-conjugated Rabbit Anti-UltraNuclease Antibodies
- C: Standard: UltraNuclease
- D: HRP-conjugated Streptavidin
- E: Dilution Buffer 1
- F: 20× Wash Buffer
- G: Dilution Buffer 2
- H: TMB
- I: Stop Solution
- J: 封板膜

产品优势

01 高灵敏

最低可以检测到生物制品中间产品和终产品中23 pg/mL的全能核酸酶残留

02 准确性好

能够准确检测全能核酸酶残留回收率在80%-110%范围内

03 专属性好

与翌圣全能核酸酶搭配使用可以准确检测全能核酸酶残留而不与其他工程细胞蛋白产生交叉反应

04 批间差异小

试剂盒批次间差异很小,37°C条件下保存6天,不影响产品性能

05 稳定的信号收集系统

使用生物素-链霉亲和素系统使检测信号可以被稳定放大

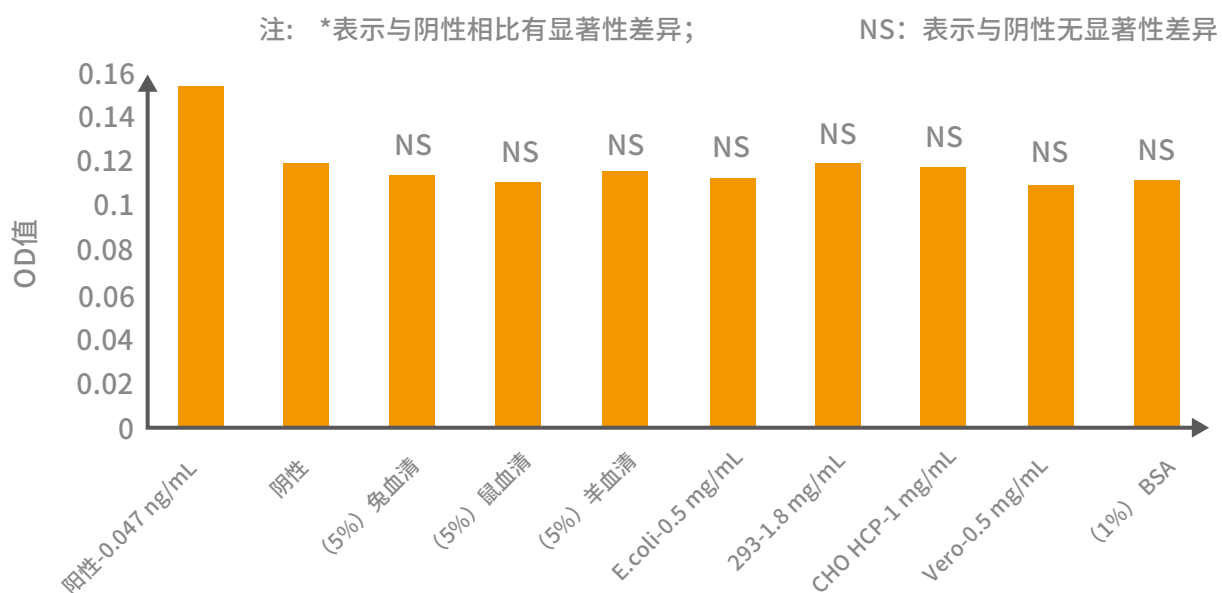
06 完整的试剂盒

所有必须试剂都已包含在试剂盒内,无需额外购买试剂

产品性能

1. 特异性

使用UCF.ME® UltraNuclease ELISA kit对8份模拟样本进行检测，同时检测阴性对照和阳性对照。结果显示8份模拟样本检测结果与阴性对照无显著差异，没有交叉反应。



2. 精密度

2.1 重复性

板内差异：在同一个ELISA板上重复6次标准品的曲线构建， $CV < 5\%$ 。

浓度 ng/mL	同一个板6次重复数据						CV值
3	1.4555	1.4336	1.4012	1.4126	1.3777	1.4916	2.61 %
1.5	1.0222	1.0406	0.9958	1.0072	0.9744	1.0641	2.88 %
0.75	0.6909	0.6856	0.6546	0.664	0.6449	0.6951	2.83 %
0.375	0.4552	0.4461	0.4472	0.4326	0.4161	0.4453	2.89 %
0.1875	0.3117	0.3043	0.292	0.2871	0.2958	0.3169	3.53 %
0.094	0.2456	0.2323	0.2236	0.2261	0.2249	0.2326	3.23 %
0.047	0.2092	0.1958	0.1967	0.1923	0.1959	0.1961	2.71 %
0	0.1646	0.1574	0.1563	0.1536	0.1675	0.1622	3.05 %

2.2 中间精密度

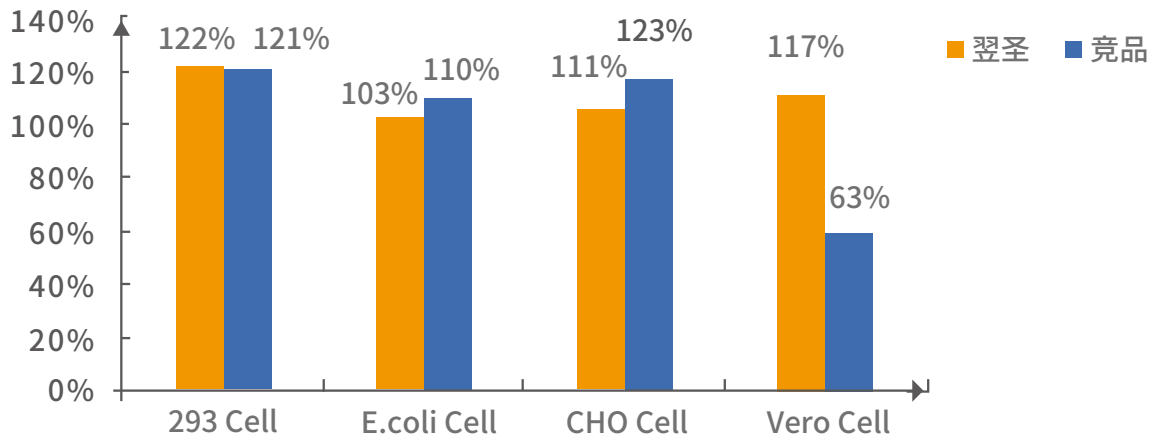
3名实验员分别独立检测含1.5 ng/mL、0.375 ng/mL、0.094 ng/mL UCF.ME® UltraNuclease的样本，检测结果 $CV < 15\%$ 。

样本	实验员一	实验员二	实验员三	均值	标准差	CV值
1.5 ng/mL	1.388	1.458	1.318	1.388	0.070	5.04 %
0.375 ng/mL	0.382	0.363	0.37	0.372	0.010	2.59 %
0.094 ng/mL	0.079	0.068	0.063	0.07	0.008	11.69 %

3. 准确度

3.1 模拟样本回收实验

分别取100 μL含有1.5 ng/mL浓度UCF.ME® UltraNuclease核酸酶的HEK293、E.coli、CHO和Vero样本进行4次检测,分析样本回收率和CV%。对于不同浓度的UCF.ME® UltraNuclease核酸酶样本回收率均在70 %~130 %之间,且优于其他品牌。



翊圣KIT回收率优于竞品

细胞裂解液浓度: 5μg/mL; Nuclease用量1.5ng/mL

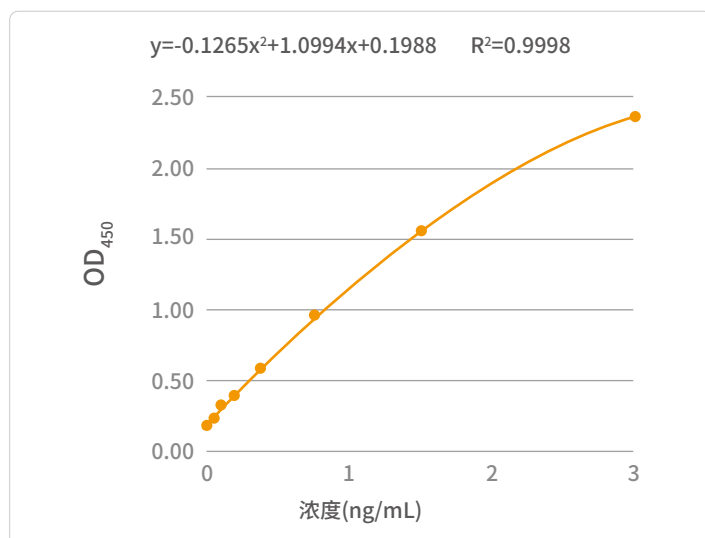
3.2 实际样本回收实验:

对客户赠予的实际样本,加入UCF.ME® UltraNuclease,浓度以3 ng/mL开始2倍稀释加入,在核酸酶浓度3~0.093 ng/mL之间,试剂盒检测回收率均在80 %~110 %之间。

标准品浓度 ng/mL	样本稀释标准品				检测结果	
	孔1	孔2	孔3	平均值	浓度	回收率
3	2.057	2.026	2.061	2.048	2.468	82 %
1.5	1.311	1.332	1.283	1.309	1.277	85 %
0.750	0.825	0.832	0.801	0.819	0.676	90 %
0.375	0.521	0.512	0.492	0.508	0.337	90 %
0.188	0.346	0.357	0.350	0.351	0.175	93 %
0.093	0.275	0.277	0.263	0.272	0.096	103 %
0	0.184	0.195	0.187	0.189	0	0

4. 标曲线性

试剂盒检测范围是:0.047-3 ng/mL, $R^2 \geq 0.99$ 。



Conc. (ng/mL)	OD450
3	2.359
1.5	1.559
0.750	0.960
0.375	0.585
0.188	0.397
0.093	0.326
0.047	0.242
0	0.160

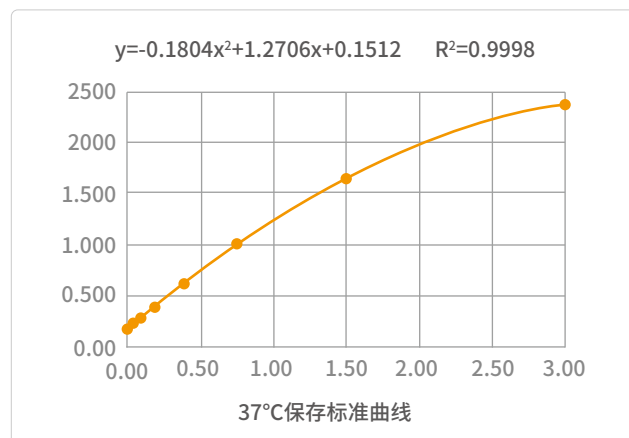
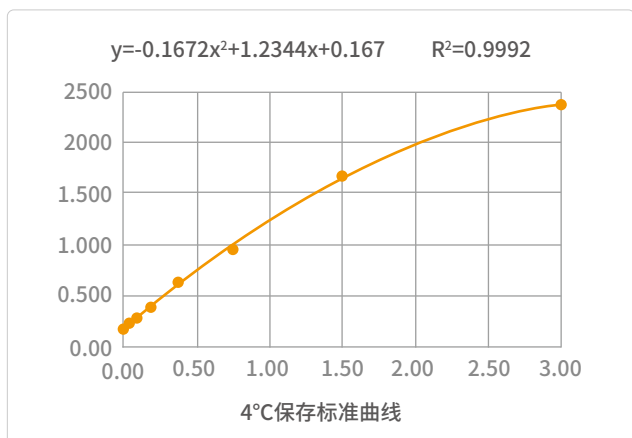
5. 稳定性-批间差

批间差异：对客户赠予的未经纯化的腺病毒收获液，加入UCF.ME®UltraNuclease，浓度以3 ng/mL开始2倍稀释加入，在核酸酶浓度3~0.186 ng/mL之间，试剂盒检测回收率均在70%~110%之间，CV<10%。

测试	样本回收率				
	3 ng/mL	1.5 ng/mL	0.75 ng/mL	0.375 ng/mL	0.1875 ng/mL
1	80.67 %	88.73 %	93.27 %	92.53 %	83.20 %
2	86.17 %	93.40 %	91.07 %	90.93 %	81.07 %
3	75.20 %	83.27 %	98.08 %	97.33 %	86.08 %
平均值	75.21 %	83.00 %	99.91 %	98.40 %	86.33 %
标准差	0.055	0.051	0.040	0.033	0.025
CV值	7.29 %	6.11 %	3.99 %	3.38 %	2.91 %

6. 稳定性-温度

将包被好的板条以及通用试剂在37 °C放置6天，再转移至4 °C放置1天后检测，结果显示试剂盒性能未有明显下降， $R^2 > 0.99$ 。



FAQ

Q 在哪一步中加入 UCF.ME® UltraNuclease?

Q 这取决于您处理的样本。在病毒纯化时，一般在病毒澄清后加入；大肠杆菌蛋白纯化时，可以在菌体裂解时就加入；在处理细胞结团问题时，可以直接加入培养基中与细胞共培养。

Q 如果反应温度无法达到37 °C，该如何使用？

Q UCF.ME® UltraNuclease的酶活性受到温度、处理时间、酶活单位的影响，如果温度无法达到37 °C，可以适当添加酶的用量，或者延长孵育时间。

Q UCF.ME® UltraNuclease是否与蛋白酶抑制剂兼容？

Q 可以兼容，但需要注意的是许多蛋白酶抑制剂含有EDTA。EDTA 开始高于1 mM时，EDTA将抑制部分核酸酶的活性。

Q 按照规定用量添加了UCF.ME® UltraNuclease，为什么降解核酸的效果不佳？

Q UCF.ME® UltraNuclease 的活性受到许多因素的影响。首先，反应体系中必须含有1-5 mM的Mg²⁺；此外，如果反应体系中单价阳离子浓度>300 mM、磷酸盐浓度>100 mM和EDTA浓度>1 mM时活性会被抑制。

Q 如何去除UCF.ME® UltraNuclease？

Q 可以采用多种方式去除。例如深层过滤、切向流过滤、浓缩和透析过滤、色谱层析等方式。

Q UCF.ME® UltraNuclease ELISA kit可否用于其他品牌全能核酸酶残留的检测？

Q 我们不建议这样做。ELISA kit 完全是基于UCF.ME® UltraNuclease开发，能够对UCF.ME® UltraNuclease进行准确定量。其他品牌的全能核酸酶在序列、生产工艺等方面可能与UCF.ME® UltraNuclease有所不同，检测结果可能不准确。

参考文献

- [1]Miguel S E, Guangping G. Purification of Recombinant Adeno-Associated Viruses (rAAVs) by Iodixanol Gradient Centrifugation[J]. Cold Spring Harbor protocols, 2020, 2020年2020卷2期:095612页
- [2]Sastry L, Xu Y, Cooper R, et al. Evaluation of plasmid DNA removal from lentiviral vectors by benzonase treatment. [J]. Human Gene Therapy, 2004, 15(2):221-6.
- [3]纪燕燕. Vero细胞流感减毒活疫苗生产工艺的研究[D]. 贵州大学, 2018.
- [4]Sastry L , Xu Y , Cooper R , et al. Evaluation of plasmid DNA removal from lentiviral vectors by benzonase treatment.[J]. Human Gene Therapy, 2004, 15(2):221-6.
- [5] Lin D, Gupta S, Maecker H T Intracellular Cytokine Staining on PBMCs Using CyTOF™ Mass Cytometry[J]. BIO-PROTOCOL, 2015, 5(1).
- [6] Smith J , Liu X , Kaufhold R , et al. Development and Validation of a Gamma Interferon ELISPOT Assay for Quantitation of Cellular Immune Responses to Varicella-Zoster Virus[J]. clinical & diagnostic laboratory immunology, 2001.



产品订购信息

产品名称	产品货号	产品规格
UCF.ME® UltraNuclease GMP-grade全能核酸酶	20157ES25/60/80/90	25 KU/100 KU/1 MU/5 MU
UCF.ME® UltraNuclease ELISA kit	36701ES59	96 T



聚焦生命科学工具，让世界更健康更快乐



扫码关注
了解更多工业资讯



扫码进入翌圣商城
查看更多活动信息

Tel: 400-6111-883

E-mail: marketing@yeasen.com