

UCF.ME[®] UltraNuclease GMP-grade 全能核酸酶

产品信息

| 产品名称 | 产品编号 | 规格 |
|---|-----------|----------------|
| UCF.ME [®] UltraNuclease GMP-grade 全能核酸酶 | 20157ES25 | 25 KU |
| | 20157ES50 | 50 KU |
| | 20157ES60 | 100 KU |
| | 20157ES80 | 1 MU (1000 KU) |
| | 20157ES90 | 5 MU (5000 KU) |

产品描述

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, 能够在非常广泛的条件下 (6 M Urea, 0.1 M Guanidine HCl, 0.4% Triton X-100, 0.1% SDS, 1 mM EDTA, 1 mM PMSF) 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。

本品经基因工程改造在 *Escherichia coli* (*E. coli*) 中表达纯化并在 GMP 环境下制备, 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 (20 mM Tris-HCl pH 8.0, 2 mM MgCl₂, 20 mM NaCl, 50%甘油) 中, 无色透明液体。

产品性质

| | |
|----------------------------|--|
| 来源 | <i>E. coli</i> |
| 分子量 (Molecular Weight) | 26.5 kDa |
| 等电点 | 6.85 |
| 纯度 (Purity) | ≥ 99% (SDS-PAGE) |
| 酶活 (Enzyme Activity) | 250-300 U/μL |
| 比活 (Specific Activity) | ≥ 1.5×10 ⁶ U/mg 蛋白 |
| 最适 pH (Optimum pH) | 8.0 (工作范围 pH 6-10) |
| 最适温度 (Optimum Temperature) | 37°C (工作范围 0-42°C) |
| 辅助因子 (Cofactor) | 1-10 mM Mg ²⁺ |
| 蛋白酶活性 (Protease) | 阴性 |
| 无菌检查 (Sterility) | 阴性 |
| 内毒素 (Endotoxin) | < 0.25 EU/1000 U |
| 宿主蛋白残留 (Host protein) | < 10 ppm (μg/mL) |
| 储存缓冲液 (Storage Buffer) | 20 mM Tris-HCl pH 8.0, 2 mM MgCl ₂ , 20 mM NaCl, 50%甘油 |
| 活性单位定义 (Unit Definition) | 在 37°C, pH 8.0 反应条件下, 2.625 mL 反应体系中, 在 30 min 内使 ΔA ₂₆₀ 吸收值变化 1.0 (相当于完全消化 37 μg 鲑鱼精 DNA 成为寡核苷酸) 所用的酶量定义为一个活性单位 (U)。 |

运输和保存方法

干冰运输。-15°C ~ -25°C 保存，有效期 2 年。若是打开包装后并 4°C 放置超过一周，建议过滤除菌防止微生物污染。

注意事项

为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

推荐使用条件

| 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 |
| DTT | 0-100 mM | >0 mM |
| 巯基乙醇 | 0-100 mM | >0 mM |
| 单价阳离子 | 0-20 mM | 0-150 mM |
| 磷酸根离子 | 0-10 mM | 0-100 mM |

在最佳条件下推荐的使用量及处理时间（37°C，2mM Mg²⁺，pH 8.0）

| UltraNuclease 用量（终浓度） | 处理时间 |
|-----------------------|--------|
| 0.25 U/mL | > 10 h |
| 2.5 U/mL | > 4 h |
| 25 U/mL | 30 min |

使用方法

1、样本准备

贴壁细胞：去除培养基，用 PBS 清洗细胞，去除上清。

悬浮细胞：离心收集细胞，用 PBS 清洗细胞，6,000 rpm 离心 10 min，收集沉淀。

大肠杆菌：离心收集菌体，用 PBS 清洗 1 次，8,000 rpm 离心 5 min，收集沉淀。

2、样品处理

将收集到的细胞沉淀按照质量（g）与体积（mL）比 1: (10~20) 的比例进行裂解处理，也可通过在冰上或室温通过机械或化学方法裂解细胞（1 g 细胞约为 10⁹ 个）。

3、酶的添加

1) 添加适量 MgCl₂ 将反应体系中的 Mg²⁺ 浓度调整在 1-5 mM 范围内，将 pH 调整成 8-9。

2) 按照 250 Units 消化 1 g 细胞沉淀的比例添加 UltraNuclease，37°C 孵育 30min 以上。也可以根据上表中的推荐使用量自行选定添加方案，在一定范围内增加酶量，消化所需时间相应减少。

【注】全能核酸酶的酶活受离子浓度、反应温度及 pH 等因素的影响，初次使用时建议摸索最适浓度。

4、上清获取

以 12,000 rpm 的转速离心 30min 获得细胞裂解液上清，再进行后续相关实验。

【注】若溶液为高盐溶液，偏酸性或者偏碱性，含有较高浓度的去垢剂、变性剂，应当适当增加酶的用量或延长孵育时间。