



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
 订货热线: 400-1683301或800-8283301  
 订货e-mail: order@beyotime.com  
 技术咨询: info@beyotime.com  
 网址: http://www.beyotime.com

## BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)

产品编号	产品名称	包装
D7121-5KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	5KU
D7121-25KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	25KU
D7121-100KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	100KU
D7121-500KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	500KU
D7121-2000KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	2000KU

### 产品简介:

- 碧云天生产的BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%) (BeyoZonase™ Super Nuclease, ≥99%)是一种来源于粘质沙雷氏菌(*Serratia marcescens*)的非特异性核酸内切酶,可在非常宽泛的条件下降解单链、双链、线状、环状、天然或变性等各种形式的DNA或RNA,产生长度为3至5个碱基的5'-单磷酸寡核苷酸。本产品用途广泛,常用于重组蛋白、病毒疫苗等生物制品中去除核酸,以及有效降低细胞、组织、微生物等蛋白裂解液样品的粘度等。
- 本产品为超纯级,纯度≥99%,无蛋白酶活性,内毒素极低,<0.25EU/KU。
- BeyoZonase™超级核酸酶,又称全能核酸酶或广谱核酸酶,与Benzonase endonuclease、TurboNuclease等类似酶的氨基酸序列基本一致(主要是蛋白的氨基端或羧基端所带的标签或残留氨基酸序列略有不同),具有同样的酶催化活性和相同的用途,大多数情况下可以相互替代。具体使用时,需要注意纯度和内毒素水平对于后续分析检测的影响。
- BeyoZonase™超级核酸酶的稳定性非常好。37°C保存3-5周, BeyoZonase™超级核酸酶能保持>90%的酶活性,在25°C保存10周后,酶活性基本没有变化。
- BeyoZonase™超级核酸酶采用碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化,表达纯化获得的重组蛋白与*Serratia marcescens*中的天然核酸内切酶氨基酸序列完全一致,没有额外的标签,没有额外的氨基酸,与天然粘质沙雷氏菌的核酸内切酶相比在生化特性方面相同。和本产品相似的带有His tag的为BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%, with His-tag) (D7126)单独有售。本产品的基本信息如下表:

蛋白信息(About this protein)	
名称(Name)	BeyoZonase™超级核酸酶
别名(Synonyms)	全能核酸酶, 广谱核酸酶, 活性核酸酶, Benzonase Nuclease, Benzonase Endonuclease, TurboNuclease, Universal Nuclease
CAS号(CAS No.)	9025-65-4
分子量(MW)	~26.7kDa
外观(Physical appearance)	液体
活性(Biological activity)	250U/μl
活力单位(Unit definition)	One unit of BeyoZonase™ Super Nuclease is defined as the amount of enzyme that causes a ΔA260 of 1.0 (equivalent to the complete digestion of 37μg DNA) in 30min.
纯度(Purity)	≥ 99% by SDS-PAGE, protease-free
配方(Formulation)	10mM Tris (pH7.4), 500mM NaCl, 2mM MgCl <sub>2</sub> , 50% glycerol
内毒(Endotoxin)	<0.25EU/KU by LAL
产品用途(Applications)	有效去除重组蛋白中的核酸;有效去除病毒疫苗和普通重组病毒中的核酸,使其符合FDA指南中核酸污染的要求;实时定量PCR测定重组病毒滴度时去除病毒包装细胞的核酸和包装质粒;降低细菌或细胞裂解液由核酸导致的粘度使其易于后续操作;防止细胞成团;提高包涵体蛋白(inclusion bodies)复性率;在二维凝胶电泳(two-dimensional electrophoresis, 2-DE)的过程中,提高蛋白质的分离效率和双向电泳的分辨率。

- 本产品内毒素极低。本产品经去内毒素处理,经鲎试剂(Limulus Amebocyte Lysate, LAL)比色法检测内毒素含量<0.25EU/KU。
- 本产品适用范围宽。BeyoZonase™超级核酸酶需1-2mM Mg<sup>2+</sup>作为辅助因子促进其酶活性,最适范围(Optimal Range, Enzyme Activity >90%)和有效范围(Effective Range, Enzyme Activity >15%)见下表。

Condition	Optimal Range	Effective Range
Mg <sup>2+</sup>	1-2mM	1-10mM

pH	8.0-9.2	6.0-10.0
Temperature	37°C	0-42°C
DTT	0-100mM	>100mM
2-Mercaptoethanol	0-100mM	>100mM
Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0-20mM	0-150mM
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0-10mM	0-100mM
Triton X-100	/	<0.4%
Sodium deoxycholate	/	<0.4%
SDS	/	<0.05%
Urea	/	<5M
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	/	<100mM

➤ **本产品活性好，效果佳。**碧云天生产的BeyoZonase™超级核酸酶与国外同类产品Competitor M对质粒DNA的消化效果参考图1。如图所示，本产品与Competitor M相比，效果基本一致甚至略好。

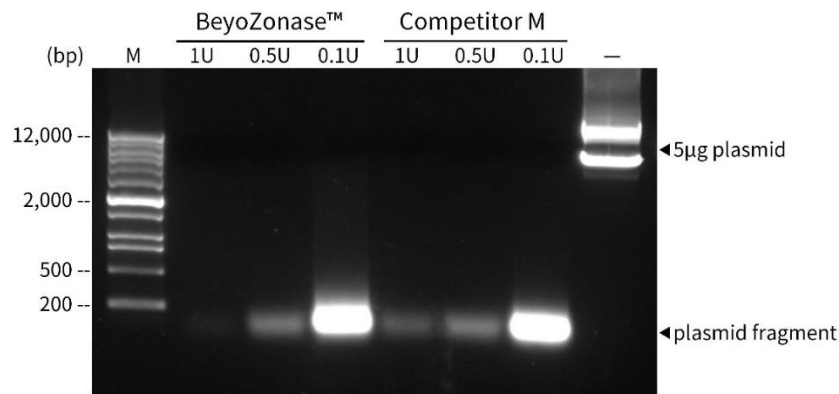


图1. 碧云天的BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)消化质粒DNA的效果图。在50µl反应体系(10mM Tris pH8.0, 2mM MgCl<sub>2</sub>)中，加入5µg质粒DNA，及相应量的本产品或Competitor M，37°C孵育30min，反应完毕后立即置于冰浴，并加入1µl 0.5M EDTA以终止反应。取出10µl反应产物，加入2µl DNA上样缓冲液(6X) (D0071)，在1%琼脂糖凝胶中电泳检测。实际效果会因样品种类、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

➤ **本产品可有效降低细胞或细菌裂解液粘度。**BeyoZonase™超级核酸酶有效降低哺乳动物细胞或细菌裂解液粘度的效果图参考图2。

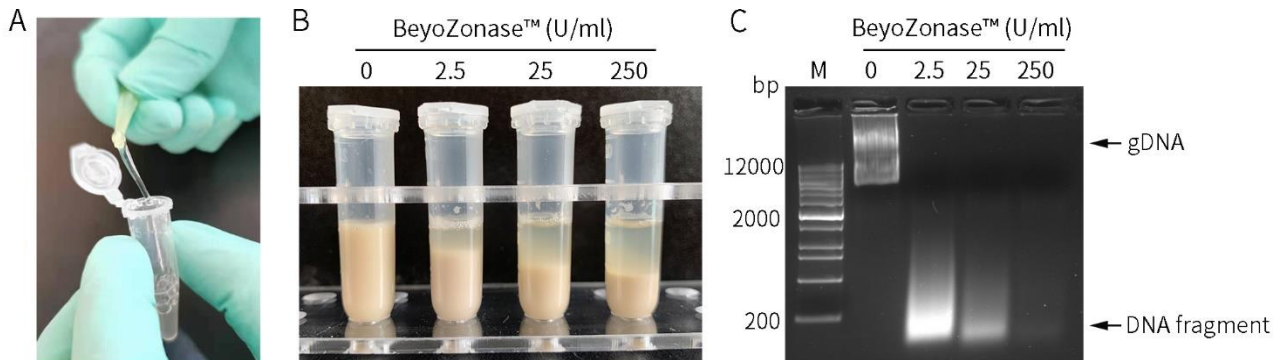


图2. 碧云天的BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)降低细胞或细菌裂解液粘度的效果图。A. HEK293细胞经RIPA裂解液(强)(P0013B)裂解后，未加BeyoZonase™超级核酸酶的样品因大量基因组DNA释放成粘稠状，而经过终浓度25和250U/ml室温处理15min的样品不粘稠；B. 按照每克*E.coli* BL21(DE3)湿菌加入5ml RIPA裂解液(P0013B)的比例设置4组样品，分别加入相应量的本产品，室温处理30min，低速(350g×g)离心3min，未经BeyoZonase™超级核酸酶处理的样品因粘稠物质较多导致大量细菌碎片悬浮在管中，加入BeyoZonase™超级核酸酶的样品随着超级核酸酶量的增加，粘度逐渐降低，上清逐渐增多且澄清；C. 取B中10µl上清在1%琼脂糖凝胶中电泳检测，加入BeyoZonase™超级核酸酶样品的基因组DNA被降解为小片段。实际效果会因样品种类、检测仪器等的不同而存在差异，图中数据仅供参考。

➤ 在最适反应条件下，BeyoZonase™超级核酸酶对于不同样品的推荐用量和处理时间请参考下表。注：实际用量和处理时间需根据样品的实际情况进行一定的摸索，若使用的溶液较为特殊，如为高盐溶液，或偏酸性、偏碱性，或含有较高浓度的去垢剂、变性剂等，应适当增加BeyoZonase™超级核酸酶的用量或孵育时间。

实验类型	蛋白样品制备	非药物蛋白生产	药物蛋白生产	疫苗、病毒生产	细胞药物
推荐产品	BeyoZonase™	BeyoZonase™、BeyoZonase™ (with His-tag)			

细胞或样品数量	1×10 <sup>8</sup> 个细胞 (1ml裂解液)	1g湿重 (重悬液5ml)		1L发酵上清液	1L培养物
最低终浓度	2.5U/ml	2.5U/ml	2.5U/ml	0.1U/ml	0.1U/ml
推荐终浓度	25-250U/ml	25-250U/ml	25-250U/ml	5-25U/ml	1-5U/ml
处理时间	5~60min (37°C)或30~120min (25°C)				

### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7121-5KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	250U/μl×20μl
D7121-25KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	250U/μl×100μl
D7121-100KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	250U/μl×400μl
D7121-500KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	250U/μl×2ml
D7121-2000KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	250U/μl×2ml×4
—	说明书	1份

### 保存条件:

-20°C保存，三年有效。4°C保存，至少两个月内有效。

### 注意事项:

- 本产品不建议-80°C保存，冻融可能会降低本产品的酶活性。
- Mg<sup>2+</sup>是BeyoZonase™超级核酸酶的关键催化辅助因子，反应缓冲液含有1-2mM Mg<sup>2+</sup>对BeyoZonase™超级核酸酶的活性是必须的。
- 参照最适范围和有效范围表格，若使用的溶液较为特殊，如为高盐溶液，或偏酸性、偏碱性，或含有较高浓度的去垢剂、变性剂等，应适当增加BeyoZonase™超级核酸酶的用量或孵育时间。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明:

#### 1. 用于降低细胞、组织或细菌裂解液的粘度。

##### a. 对于培养细胞样品:

- 对于贴壁细胞：吸除细胞培养液，用PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍(如果血清中的蛋白没有干扰，可以不洗)。每1ml RIPA裂解液(P0013B/C/D)、Western及IP细胞裂解液(P0013/P0013J)或其它细胞裂解液中加入0.1-1μl本BeyoZonase™超级核酸酶，然后按照裂解液的使用说明用于贴壁细胞的裂解。加入含有BeyoZonase™超级核酸酶的裂解液后，冰浴或室温孵育5-30分钟，收集裂解液，10,000-14,000×g离心3-5分钟，取上清，即可用于后续的PAGE、Western和免疫沉淀等实验。
- 对于悬浮细胞：250-1000×g室温离心5min，吸除上清，用PBS、生理盐水或无血清培养液洗一遍(如果血清中的蛋白没有干扰，可以不洗)，再离心收集细胞，轻轻vortex或者弹击管底以把细胞尽量分散开。如果细胞量较多，必须分装成50-100万细胞/管，然后再用于后续的裂解。每1ml RIPA裂解液(P0013B/C/D)、Western及IP细胞裂解液(P0013/P0013J)或其它细胞裂解液中加入0.1-1μl本BeyoZonase™超级核酸酶，然后按照裂解液的使用说明用于贴壁细胞的裂解。加入含有BeyoZonase™超级核酸酶的裂解液后，冰浴或室温孵育5-30分钟，10,000-14,000×g离心3-5分钟，取上清，即可用于后续的PAGE、Western和免疫沉淀等实验。

**裂解液用量说明：**通常6孔板每孔贴壁细胞或每100万动物细胞加入100微升裂解液已经足够，但如果细胞密度非常高或者细胞比较大的情况，可以适当加大裂解液的用量到150-250微升。

##### b. 对于组织样品:

- 把组织剪切成细小的碎片。
- 按照每20毫克组织加入150-250微升裂解液的比例加入RIPA裂解液(P0013B/C/D)、Western及IP细胞裂解液(P0013/P0013J)或其它细胞裂解液，同时加入0.1-1μl本BeyoZonase™超级核酸酶。
- 用玻璃匀浆器匀浆，或使用TissueMaster™手持式组织研磨仪 (E6600)、TissueMaster™高通量组织研磨仪(E6618) 进行研磨，直至充分裂解。也可以把组织样品冷冻后液氮研磨，研磨充分后加入裂解液进行裂解。
- 充分裂解后，冰浴或室温孵育5-30分钟，10,000-14,000×g离心3-5分钟，取上清，即可进行后续的PAGE、Western和免疫沉淀等操作。
- 如果组织样品本身非常细小，可以适当剪切后直接加入裂解液裂解，通过强烈vortex使样品裂解充分。然后同样离心取上清，用于后续实验。直接裂解的优点是比较方便，不必使用匀浆器或研磨设备，缺点是不如匀浆或研磨那样裂解得比较充分。

##### c. 对于细菌或酵母样品:

- 对于1ml菌液或酵母液，离心去上清，如果有必要可以使用PBS洗涤一次，充分去除液体后，轻轻vortex或者弹击管底以把细菌或酵母尽量弹散。加入100-200微升RIPA裂解液(P0013B/C/D)或其它细胞裂解液，同时加入0.1-1μl本

BeyoZonase™超级核酸酶。

(b) 轻轻vortex或者弹击管底以混匀，冰浴或室温孵育5-30分钟。如果希望获得更好的裂解效果，细菌和酵母可以分别使用溶菌酶和破壁酶(Lyticase)消化，然后再使用裂解液进行裂解。

**注：**碧云天的RIPA裂解液(P0013B/C/D)、Western及IP细胞裂解液(P0013/P0013J)含有不同浓度的Triton X-100或NP-40、SDS及脱氧胆酸钠等(具体参见<https://www.beyotime.com/support/lysis-buffer.htm>)，对酶活性有一定的影响，所以需要适当增加酶量或延长孵育时间。

## 2. 去除重组蛋白中的核酸：

重组蛋白生产时对核酸残留有严格的要求，很多情况可以参考如下描述以去除残留的核酸。生物样品中DNA浓度范围通常在0.5-5µg/ml之间，如下采用高负荷DNA浓度50µg/ml的鲑鱼精子DNA溶液进行的测试，反应缓冲液为50 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1 mg/ml BSA。

- 37°C反应22h，反应液中BeyoZonase™超级核酸酶终浓度为90U/ml时，可降解所有DNA；反应液中BeyoZonase™超级核酸酶终浓度为9U/ml时，可降95%的DNA；
- 反应液中BeyoZonase™超级核酸酶终浓度为90U/ml时，23°C反应30h可降解所有DNA；0°C反应30h可降解99%的DNA；
- 样品在10mM Tris (pH8.0)缓冲液中，反应液中BeyoZonase™超级核酸酶终浓度为90U/ml时，23°C反应22h可降解所有DNA；样品在PBS缓冲液中，反应液中BeyoZonase™超级核酸酶终浓度为90U/ml时，23°C反应30h可降95%的DNA。

## 3. 去除重组病毒中的核酸：

对于在细胞中包装生产的重组病毒，在收集的细胞上清中直接加入BeyoZonase™超级核酸酶，使之终浓度约为1U/ml，30-34°C反应4-8h，即可有效地将宿主细胞的核酸(DNA及RNA)降解为3-5bp的核酸片段。

## 4. 实时定量PCR法测定重组病毒滴度时去除核酸干扰：

在检测重组病毒滴度时，BeyoZonase™超级核酸酶可以去除病毒上清中基因组DNA、RNA和质粒等核酸干扰，通过在载体的长末端重复序列区(LTR)设计引物，利用荧光实时定量PCR测定重组病毒中LTR拷贝数来测定病毒颗粒数。建议在PCR管中按照下表体系进行设置，37°C孵育30min去除核酸后，再对样品进行梯度稀释并实时定量PCR检测。BeyoZonase™超级核酸酶终浓度1-5U/ml，Reaction Buffer: 10mM Tris pH8.0, 2mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% PEG8000, 0.1mg/ml BSA。

Component	Volume
Sample (µl)	5
BeyoZonase™ (0.01-0.1U) (µl)	x
Reaction Buffer (µl)	50-x
Total Volume (µl)	50

## 5. 防止细胞成团：

BeyoZonase™超级核酸酶加入细胞培养液中可以防止细胞成团，特别是在解冻细胞时。例如全血分离的外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)解冻后易聚集在一起，影响后续分析和检测。如果在PBMCs冻存液中加入终浓度为50U/ml的BeyoZonase™超级核酸酶可以有效防止细胞成团。BeyoZonase™超级核酸酶不仅没有蛋白酶的活性，而且不会对健康细胞造成伤害，因此是防止细胞成团的理想选择。

## 6. 降低大肠杆菌裂解液粘度，改善纯化过程中离心难、过滤难的问题：

大肠杆菌高密度发酵在增加菌密度的同时提高了重组蛋白的表达量，但是大肠杆菌破碎后释放的基因组DNA会导致裂解液粘度大，加大了离心和澄清过滤的难度。

按照0.2g湿菌用1ml细菌裂解液重悬菌体，使用高压破碎仪1500bar，4°C进行均质破碎。如果加入终浓度为25U/ml的BeyoZonase™超级核酸酶，15°C反应15min，与不加BeyoZonase™超级核酸酶的细菌裂解液相比粘度降低50%；如果加入终浓度为2.5U/ml BeyoZonase™超级核酸酶，15°C反应30min，与不加BeyoZonase™超级核酸酶的细菌裂解液相比粘度降低37%。

采用混纤膜(MCE)和聚醚砜膜(PES)，孔径分别为0.4µm和0.8µm的滤膜进行澄清测试，不加BeyoZonase™超级核酸酶的细菌裂解液几乎立即堵塞了滤膜，而终浓度为25U/ml的BeyoZonase™超级核酸酶处理过的细菌裂解液，在过滤时间为20s后，0.8µm孔径的膜通量可以达到7400L/m<sup>2</sup>h，0.45µm孔径的膜通量可以达到4200L/m<sup>2</sup>h。对于孔径较小的0.22µm滤膜，即使在用25U/ml BeyoZonase™超级核酸酶消化后，过滤时也会立即发生堵塞，如果一定需要使用0.22µm滤膜过滤细菌裂解液，建议先用聚醚砜膜(PES)材质0.45µm孔径的滤膜过滤后再用0.22µm滤膜过滤，或者需要加大酶的用量或延长孵育时间。

## 7. 提高包涵体蛋白复性率：

在大肠杆菌中以包涵体形式表达重组蛋白的方法，因其表达量高、蛋白纯度高、免受蛋白酶降解和可表达对宿主细胞有毒的蛋白而广泛应用。在包涵体蛋白变性后复性，即重折叠的过程中，由于细菌裂解液中大量的DNA可能会粘附蛋白酶，导致目的蛋白的降解，如果在细菌裂解液中加入终浓度为1U/ml BeyoZonase™超级核酸酶，37°C反应30min，即可有效降低由于基因组DNA而粘附的蛋白酶，提高包涵体的纯度，最终提高包涵体蛋白复性率。

## 8. 二维凝胶电泳样品的制备：

二维凝胶电泳用于分离复杂的蛋白质混合物，分辨率高。核酸是带负电荷的分子，可以与蛋白质表面带正电荷的区域相互作用形成复合物，这种核酸-蛋白质复合物的形成和形状很难预测。与纯蛋白质相比，这些核酸-蛋白质复合物在电场中的迁移方式不同，可能会导致蛋白质条带偏移，使二维凝胶电泳的分辨率差。如果按照每100µl细胞裂解液加入50U的BeyoZonase™超级核酸酶对样品进行预处理，可减少水平条纹，显著提高二维凝胶电泳分离的分辨率。另外，因为所需酶

量较少，所以无需担心BeyoZonase™超级核酸酶的使用对二维凝胶电泳的结果的影响。

## 常见问题：

### 1. 在使用过程中，应在哪一步加入BeyoZonase™超级核酸酶？

如果“使用说明”中没有相应的操作，一般是在培养后、捕获样品步骤之前添加。

### 2. 在低温条件下，应在加入多少BeyoZonase™超级核酸酶？

温度低于37°C时，BeyoZonase™超级核酸酶的效率会降低，通常情况下，在不增加BeyoZonase™超级核酸酶使用量的情况下，可以通过延长孵育时间来补偿低温时的酶切效率低。

### 3. 为什么BeyoZonase™超级核酸酶不起作用？什么会抑制BeyoZonase™超级核酸酶的活性？

BeyoZonase™超级核酸酶在很宽泛的条件下都有酶活性，但是Mg<sup>2+</sup>是BeyoZonase™超级核酸酶的关键催化辅助因子，反应液含有1-2mM Mg<sup>2+</sup>对BeyoZonase™超级核酸酶的酶活性是必须的。Mn<sup>2+</sup>可以替代Mg<sup>2+</sup>，但是只有在Mg<sup>2+</sup>存在的情况下，酶才能达到最佳的活性。如果阳离子浓度>300mM、磷酸盐浓度>100mM、硫酸铵浓度>100mM或者>1mM EDTA的情况下，BeyoZonase™超级核酸酶的酶活性会受到抑制。

### 4. 为什么BeyoZonase™超级核酸酶的酶活性下降？

通常来说BeyoZonase™超级核酸酶是十分稳定的，在极少数情况下酶活性下降。不可逆的酶失活可能是由于样品中存在变性剂、蛋白酶或者-80°C冻融；可逆的酶失活可能是因为在存在螯合剂(如EDTA)或去除了BeyoZonase™超级核酸酶的关键催化辅助因子Mg<sup>2+</sup>。

### 5. 不小心将BeyoZonase™超级核酸酶在室温放置了2天还能用吗？

本BeyoZonase™超级核酸酶非常稳定。即使在37°C保存数周，BeyoZonase™超级核酸酶也能保持>90%的酶活性，在25°C保存10周后，酶活性基本没有变化。

### 6. 如何抑制BeyoZonase™超级核酸酶的酶活性？

在阳离子浓度>300mM、磷酸盐浓度>100mM、硫酸铵浓度>100mM或者>1mM EDTA的情况下，BeyoZonase™超级核酸酶的酶活性会受到抑制，但这些都是可逆的酶失活。只有在极端条件下(100mM NaOH, 70°C处理30min)才能实现不可逆的酶失活。

### 7. 如何去除BeyoZonase™超级核酸酶？

可以通过下游纯化操作来完成，如澄清液的深度过滤、浓缩的切向流过滤(TFF)、浓缩和色谱层析(如离子交换、分子筛、疏水层析)。对于D7126 BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%, with His-tag)可以通过镍柱吸附去除。

### 8. BeyoZonase™超级核酸酶是否具有蛋白酶活性？

否。BeyoZonase™超级核酸酶没有检测到蛋白酶活性，因此在其“工作”期间不会降解目的蛋白。但是如果样品中存在蛋白酶，可能会导BeyoZonase™超级核酸酶的不可逆降解。

### 9. BeyoZonase™超级核酸酶是否与蛋白酶抑制剂兼容？

是。但是，由于许多蛋白酶抑制剂中含有EDTA，而>1mM EDTA的情况下BeyoZonase™超级核酸酶的酶活性会受到抑制，因此应谨慎使用。

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7121-5KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	5KU
D7121-25KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	25KU
D7121-100KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	100KU
D7121-500KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	500KU
D7121-2000KU	BeyoZonase™超级核酸酶(≥99%)	2000KU

Version 2021.01.29