

蛋白AG-微球菌核酸酶(pAG-MNase)

产品编号	产品名称	包装
D7199-60KU	蛋白AG-微球菌核酸酶(pAG-MNase)	60KU
D7199-300KU	蛋白AG-微球菌核酸酶(pAG-MNase)	300KU

产品简介:

- 碧云天生产的蛋白AG-微球菌核酸酶, 英文名为Protein AG-MNase, 简称pAG-MNase, 是Protein A/G与微球菌核酸酶MNase (Micrococcal Nuclease)的融合表达产物, 同时具有Protein A/G的抗体结合活性和MNase的核酸内切酶活性, 常用于蛋白质-DNA相互作用研究的ChIC (Chromatin Immunocleavage)和CUT&RUN (Cleavage Under Targets and Release Using Nuclease)。
- 碧云天同时提供蛋白A-微球菌核酸酶(pA-MNase) (D7195)和蛋白G-微球菌核酸酶(pG-MNase) (D7197)。
- Protein A是一种发现于金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的细胞壁表面蛋白, 分子量为42kDa; Protein G是C型或G型链球菌(Streptococcal bacteria)表达的免疫球蛋白结合蛋白。Protein A和Protein G功能相似, 能特异性地与哺乳动物免疫球蛋白(Immunoglobulin, Ig)结合, 结合的部位通常为免疫球蛋白的Fc区, 但有资料显示Protein A也会和人VH3家族的Fab区结合, 而Protein G有时与Fab区也有一定结合。同时, 两者对于不同的免疫球蛋白亚类的结合能力有所不同。总体来说, 针对大多数抗体, Protein A和Protein G均具有广泛的适用性, 具体参考Protein A+G Agarose (Fast Flow, for IP) (P2055)或BeyoMag™ Protein A+G磁珠(P2108)中的相关描述。
- MNase (Micrococcal Nuclease), 也被称为S7 Nuclease, 是一种来源于金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)的核酸内切酶, 在pH7.0-10.0和Ca²⁺的条件下可降解单链、双链、线状、环状等多种形式的DNA或RNA, 并产生3'磷酸末端的单核苷酸和寡核苷酸。MNase对单链核酸的切割效率比双链核酸更高。MNase在腺嘌呤(A)、胸腺嘧啶(T)或尿嘧啶(U)的5'侧的切割效率是鸟嘌呤(G)或胞嘧啶(C)的约30倍, 能较好地酶解富含AT或AU区域, 所以MNase是‘相对’非特异性的核酸内切酶, 常用于去除细胞裂解液中的核酸等。另外, MNase仅酶解核小体连接区的DNA, 而核小体上的DNA被组蛋白保护而不被MNase酶解。本产品MNase由碧云天自主研发的PerfectProtein™技术平台表达、纯化, 表达纯化获得的重组蛋白, 与天然*Staphylococcus aureus*的MNase氨基酸序列完全一致, 与天然微球菌核酸酶相比在生化特性方面相同。
- 本产品是Protein A或G与MNase的融合表达产物的1:1混合物, 同时具有Protein A/G结合抗体和MNase核酸内切酶的双重活性。
- CUT&RUN, 是Cleavage Under Targets and Release Using Nuclease的首字母缩写, 中文名为核酸酶靶向切割和释放, 是一种快速、有效、可靠的用于检测细胞中蛋白质与DNA相互作用的技术方法。其主要原理是, 将细胞固定在刀豆素A磁珠(ConA磁珠)上, 然后用去垢剂如洋地黄皂苷(Digitonin)通透细胞膜, 加入特异性的一抗和Protein A-MNase或Protein G-MNase, 一抗募集pA-MNase或pG-MNase到染色质的靶蛋白上, 然后通过适量浓度的Ca²⁺来激活MNase, 从而切割靶蛋白两侧的DNA并释放切割下来的基因组DNA, 后续经纯化、富集的切割下来的基因组DNA片段可通过qPCR检测和定量, 也可用于二代测序(NGS)分析。相比于传统染色质免疫沉淀(Chromatin immunoprecipitation, ChIP), CUT&RUN具有节省时间、所需样品少、NGS测序背景低、实验重复性好等优点, 目前广泛用于基因转录调控和表观遗传研究[1-3]。
- 本产品降解核酸效果如下图所示。

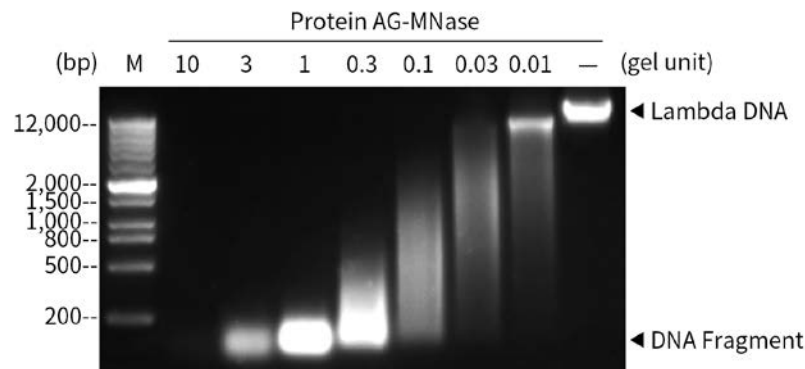


图1. 碧云天的蛋白AG-微球菌核酸酶(pAG-MNase) (D7199)降解核酸的效果图。在20μl反应体系中(50mM Tris pH8.0, 5mM CaCl₂), 加入1μg Lambda DNA及相应量的本产品, 37°C孵育15分钟, 反应完毕后立即置于冰浴, 并加入1μl 0.5M EDTA pH8.0以终止反应。加入4μl DNA上样缓冲液(6X) (D0071), 电泳检测。实际效果会因样品种类、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- **活性定义:** One Agarose Gel Unit is defined as the amount of enzyme required to digest 1μg of Lambda DNA in 15

minutes at 37°C, to the extent that the accumulation of low molecular DNA fragments is <400 base pairs as determined by agarose gel electrophoresis. Another Unit is Kunitz Unit. One Kunitz Unit is defined as the amount of enzyme required to release acid soluble oligonucleotides that produce an absorbance increase of O.D. 1.0 at 260nm in 30 minutes at 37°C. 1000 Agarose Gel Units is approximately equal to 100 Kunitz Units.

- **酶储存溶液:** 5mM Tris (pH7.4), 50mM NaCl, 1mM EDTA, 50% Glycerol.
- 本产品用于CUT&RUN实验时, 按每个反应使用1.5μl pAG-MNase (2000 gel units/μl)来计算, 本产品小包装可以进行20次反应, 中包装可以进行100次反应。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7199-60KU	pAG-MNase (2000 gel units/μl)	30μl
D7199-300KU	pAG-MNase (2000 gel units/μl)	150μl
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C保存, 一年有效。

注意事项:

- 本品含50%甘油, -20°C保存不会冻结。须避免-80°C保存, 否则会冻结, 反复冻融可能会影响酶的活性。
- 本品较为粘稠, 吸取时注意取样量准确, 加样后请注意充分吹打混匀, 避免产生气泡。
- Ca²⁺是MNase的关键催化辅助因子, 反应缓冲液含有1-5mM Ca²⁺对MNase的酶活性是必须的, 反应溶液中如有EDTA、EGTA等金属离子螯合剂会影响酶活性。
- 反应溶液中盐离子浓度须低于100mM, 过高的盐浓度会影响MNase的酶活性。
- 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:

蛋白AG-微球菌核酸酶(pAG-MNase)主要用于CUT&RUN实验。具体使用方法请参考碧云天CUT&RUN Assay Kit (P2092)中的使用说明。

参考文献:

1. Skene PJ, Henikoff S. Elife. 2017. 6:e21856.
2. Meers MP, Bryson TD, Henikoff JG, Henikoff S. Elife. 2019. 8:e46314.
3. Skene PJ, Henikoff JG, Henikoff S. Nat Protoc. 2018. 13(5):1006-1019.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D7195-60KU	蛋白A-微球菌核酸酶(pA-MNase)	60KU
D7195-300KU	蛋白A-微球菌核酸酶(pA-MNase)	300KU
D7197-60KU	蛋白G-微球菌核酸酶(pG-MNase)	60KU
D7197-300KU	蛋白G-微球菌核酸酶(pG-MNase)	300KU
D7199-60KU	蛋白AG-微球菌核酸酶(pAG-MNase)	60KU
D7199-300KU	蛋白AG-微球菌核酸酶(pAG-MNase)	300KU
D7201S	微球菌核酸酶(Micrococcal Nuclease, MNase)	320KU
D7201M	微球菌核酸酶(Micrococcal Nuclease, MNase)	1600KU
P2083S	BeyoChIP™ Enzymatic ChIP Assay Kit (Protein A/G磁珠)	22次
P2092S	CUT&RUN Assay Kit	22次
P2156-5ml	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	5ml
P2156-1ml	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	1ml
P2156-200μl	BeyoMag™ Concanavalin A Magnetic Beads (刀豆素A磁珠)	200μl

Version 2023.12.05