

**描述:** Benzonase 核酸酶是来自 *Serratia marcescens*, 经基因工程改进的核酸内切酶。它能降解所有形式(包括单链, 双链, 线性和环状)的 DNA 和 RNA 而没有蛋白裂解活性, 在广泛条件范围具有很高的特异性。它将核酸完全消化成 3-5 碱基长度(杂交限度以下)的 5'-单磷酸寡核苷酸, 最适合从重组蛋白中去除核酸的操作, 符合 FDA 关于核酸污染的处理规程。Benzonase 核酸酶迅速水解核酸的能力使该酶成为降低粘度以减少处理时间和增加蛋白产量的最佳选择。

**单位定义:** 在 30 分钟内使  $\Delta A_{260}$  值降低 1.0(相当于完全消化 37  $\mu\text{g}$  DNA)的酶量定义为一个活性单位。

注意: 含大量蛋白、细胞壁、其它盐分的粗制品, 对该酶有部分抑制作用, 使用时需要增加酶的用量。

#### 应用

- ◆ 蛋白提取时去除核酸污染
- ◆ 2D 凝胶电泳
- ◆ Western Blot
- ◆ IP- Western

**储存:** 本品为冻干品形式, 在冻干品未溶解状态下, 可置于  $-20^{\circ}\text{C}$  长期保存, 可以室温保存 1 个月, 因此可在室温条件下运输。

**溶解:** 本品可使用 400  $\mu\text{l}$  的  $\text{ddH}_2\text{O}$  溶解, 溶解后该酶的浓度为 250U/ $\mu\text{l}$ 。使用  $\text{ddH}_2\text{O}$  溶解后的制品可在  $-20^{\circ}\text{C}$  保存 3 个月, 长期保存请置于  $-60^{\circ}\text{C}$  以下。本品亦可使用 400  $\mu\text{l}$  的 20%甘油溶解, 溶解后的制品可在  $-20^{\circ}\text{C}$  条件下保存 2 年。

#### 操作方法

1. 组织处理方法: 将 30-50mg 动植物组织研磨充分后, 加入 100-200  $\mu\text{l}$  RIPA 裂解液(HaiGene,C2501), 同时加入溶解后的 1  $\mu\text{l}$  Benzonase 核酸酶, 旋涡振荡混合均匀, 室温孵育 30min。

2. 细胞处理方法: 将  $10^6$ - $10^7$  悬浮细胞液 6,000 rpm 离心 10min 后, 弃掉上清液, 使用 100  $\mu\text{l}$  RIPA 裂解液重悬细胞, 同时加入溶解后的 1 $\mu\text{l}$  Benzonase 核酸酶, 旋涡振荡混合均匀, 室温孵育 30min。

注意: 贴壁细胞重悬于 PBS 后, 处理方法同悬浮细胞。

3. 大肠杆菌细胞处理: 将 500  $\mu\text{l}$  E.coli 培养液 8,000rpm 离心 5min 后, 弃掉上清液, 使用 100  $\mu\text{l}$  大肠杆菌裂解液(HaiGene,C2301)重悬细胞, 同时加入溶解后的 1 $\mu\text{l}$  Benzonase 核酸酶, 旋涡振荡混合均匀, 室温孵育 30min。

4. 裂解步骤完成后, 将裂解产物于 13,000 rpm 离心 10min 后, 取上清即为提取蛋白(包涵体蛋白留取沉淀为提取蛋白)。

5. 提取完蛋白后可利用 BCA 蛋白定量试剂盒(HaiGene,C3001)测定蛋白浓度。