



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

Benzonase 核酸酶残留检测试剂盒

产品编号	产品名称	包装
R32155-100T	Benzonase 核酸酶残留检测试剂盒	100T
R32155-500T	Benzonase 核酸酶残留检测试剂盒	500T

产品简介:

源叶研发的 Benzonase 核酸酶残留检测试剂盒(Benzonase Residue Detection Kit or Fluorometric Benzonase Assay Kit), 是一种用荧光法快速高灵敏检测样品中 Benzonase 及其它脱氧核糖核酸酶(Deoxyribonuclease, DNase)残留量的试剂盒。

脱氧核糖核酸酶(DNase)和核糖核酸酶(RNase), 广泛存在于环境和生物物体中, 由于核酸酶能够降解核酸, 因此核酸酶的存在会对许多实验造成干扰。在处理过的生物制品中, 这些核酸酶微量残留会对后续生物制品的应用造成一定的影响。Benzonase、BeyoZonase 等广谱核酸酶是非特异性核酸内切酶, 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, 因此生物制品中 Benzonase、BeyoZonase 等广谱核酸酶的残留量是衡量生物制品质量的重要指标之一。文献中常见的检测 Benzonase、BeyoZonase 等的方法通常耗时长, 并且检测灵敏度比较低。

本试剂盒检测灵敏度高, 可以检测到低达约 0.002U(约 0.003ng)的 Benzonase 或 BeyoZonase, 按照检测体系计算, 样品中的 Benzonase 或 BeyoZonase 浓度约为 0.0002U/ μ l 或 0.3pg/ μ l。本试剂盒也被称为 BeyoZonase 核酸酶残留检测试剂盒、超级核酸酶残留检测试剂盒、超级核酸酶活性荧光检测试剂盒、Benzonase 活性荧光检测试剂盒、荧光法超级核酸酶活性检测试剂盒、全能核酸酶残留检测试剂盒或广谱核酸酶残留检测试剂盒。

Benzonase 核酸酶, 又称全能核酸酶或广谱核酸酶。源叶生产的超级核酸酶是 Benzonase 同类产品, 也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。超级核酸酶与 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。

Benzonase 核酸酶残留检测试剂盒采用荧光共振能量转移(Fluorescence resonance energy transfer, FRET)的方法, 其检测原理如图 1 所示。Benzonase 底物(Benzonase Substrate)是一种合成的 DNA 寡核苷酸探针, 其一端具有 VIC 荧光基团(Fluorophore)又称供体(Donor), 另一端具有 BHQ1 淬灭基团(Quencher)又称受体(Acceptor)。这两个基团的吸收光谱有一定的重叠, 当这两个荧光基团间的距离合适时, 荧光能量由供体向受体转移, 导致供体荧光分子自身的荧光强度衰减。VIC 和 BHQ1 被连接到 Benzonase 的底物两端。当该底物被 Benzonase 切割后, DNA 底物的首尾两端分离, 两个基团分开, VIC 的荧光不再被 BHQ1 淬灭, 即可检测到 VIC 的荧光, 这样通过荧光检测就可以非常灵敏地检测 Benzonase 核酸酶活性。VIC 的最大激发波长为 535nm, 最大发射波长为 556nm。试剂盒内提供 Benzonase 标准品, 可以通过设置标准曲线, 计算出样品的 Benzonase 的残留量。

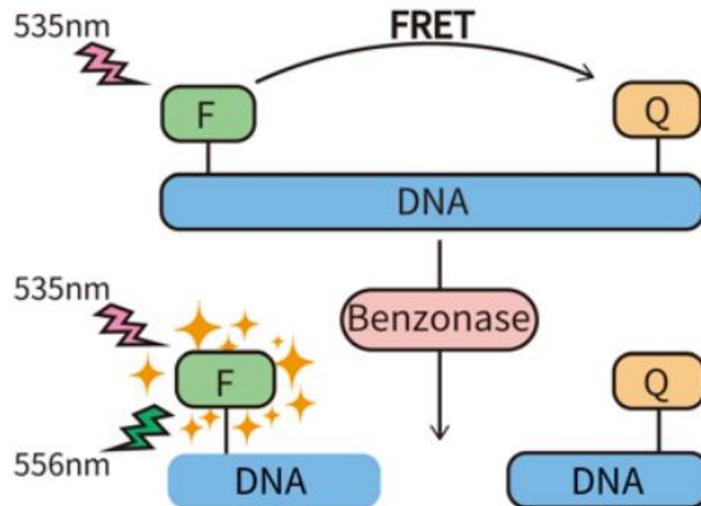


图 1. 源叶 Benzonase 核酸酶残留检测试剂盒检测原理图。

本试剂盒检测灵敏度高, 样品用量少。本试剂盒中提供了 Benzonase 作为标准品, 便于检测体系的建立。同时对 Benzonase 底物探针进行了优化, 灵敏度高, 可以检测到低达约 0.002U (约 0.003ng)的 Benzonase, 按照检测体系计

算, 样品中的 Benzonase 浓度约为 0.0002U/ μ l 或 0.3pg/ μ l, 检测灵敏度高于常规同类产品。本试剂盒用于 Benzonase 标准品的检测结果参考图 2。

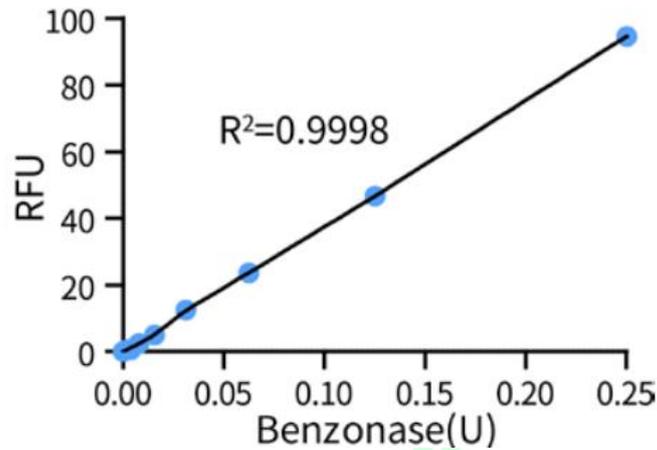


图 2. 源叶 Benzonase 核酸酶残留检测试剂盒对 Benzonase 标准品的检测效果。本试剂盒检测不同剂量 Benzonase 标准品(Standard)的荧光值, 测定时间为 10 分钟。实际检测数据会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

本试剂盒适用范围广, 使用灵活, 检测速度快。本试剂盒不仅可以用于检测 Benzonase, 也可检测其它的 DNase, 包括可切割单链和双链 DNA 的核酸酶, 相对于 ELISA 法更简单、更快速、更准确。已通过实验验证本试剂盒可以用于检测 BeyoZonase 等超级核酸酶、DNase I、T4 DNA 聚合酶、T5 Exonuclease、Micrococcal nuclease、Mung Bean Nuclease、S1Nuclease 等酶的含量。本试剂盒采用一步法检测, 简单快速, 全程仅需约 10-20 分钟即可完成。

用于 96 孔板检测时, 本试剂盒小包装 R32155-100T 可以进行 100 次检测, 中包装 R32155-500T 可以进行 500 次检测。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R32155-100T	10X Reaction Buffer	2ml
	Standard (250U/ μ l)	5 μ l
	5X Benzonase Substrate	200 μ l
	Nuclease-free Water	20ml
—	说明书	1 份



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

产品编号	产品名称	包装
R32155-500T	10X Reaction Buffer	10ml
	Standard (250U/ μ l)	20 μ l
	5X Benzonase Substrate	1ml
	Nuclease-free Water	100ml
—	说明书	1份

保存条件:

-20°C 保存, 一年有效。

注意事项:

由于本试剂盒的检测灵敏度非常高, 而核酸酶可能存在于环境中, 因此建议在超净工作台或生物安全柜等相对洁净的环境中进行 Benzonase 的残留检测, 以免待检样品受环境中核酸酶的影响。

10X Reaction Buffer、Nuclease-free Water 和 5X Benzonase Substrate 需完全解冻并平衡至室温后再使用, 否则会影响检测结果。Standard (250U/ μ l) 使用时应置于冰上, 使用完毕后各试剂应立即按照试剂盒要求的条件保存。

请确保样品 pH 值在 7-8 之间, 或加入样品后反应体系的 pH 值在 7-8 之间, 否则可能会影响检测结果的信号值和稳定性。体积较小的试剂首次使用时建议先离心数秒使液体沉降于管底, 然后再使用。结冻的试剂必须完全融化并混匀后使用。

本试剂盒可能对一些核酸酶不适用, 例如, Klenow Fragment 和 Phi29 DNA 聚合酶。一般情况下, 本试剂盒中提供的 10X Reaction Buffer 对大多数核酸酶是通用的, 但也存在对一些特定的酶不适用的情况。如有必要请用特定核酸酶的缓冲液对样品进行稀释和反应。

使用本试剂盒检测时请注意防止试剂被 DNase 污染, 如有必要, 每次实验可使用 RNase and DNase Away 清除环境中存在的 DNase。

检测时建议使用 96 孔黑板。

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. 试剂盒的准备。

a. 将 10X Reaction Buffer、5X Benzonase Substrate 和 Nuclease-free Water 平衡至室温后分别混匀备用。Standard (250U/ μ l)存放于冰浴备用, 使用完毕后宜立即按照试剂盒要求的条件保存。

b. 将 10X Reaction Buffer 用 Nuclease-free Water 稀释为 1X, 例如取 100 μ l 10X Reaction Buffer, 加入 900 μ l Nuclease-free Water, 混匀即得 1ml 的 1X Reaction Buffer。

c. 将 5X Benzonase Substrate 用 1X Reaction Buffer 稀释为 1X, 例如取 20 μ l 5X Benzonase Substrate, 加入 80 μ l 1X Reaction Buffer, 混匀即得 100 μ l 的 1X Benzonase Substrate。

2. 样品的准备。

用 1X Reaction Buffer 将待测样品稀释至适当浓度(首次检测不确定浓度范围时, 可以进行梯度稀释), 置于冰上备用。

3. Benzonase 标准曲线的设置: 将 Standard (250U/ μ l)用 1X Reaction Buffer 稀释至适当的浓度梯度。初次检测时可设置为 0、0.78、1.56、3.13、6.3、12.5、25、50mU/ μ l, 分别取 10 μ l 加入 96 孔板中, 此时, Benzonase 量分别为 0、0.0078、0.0156、0.0313、0.063、0.125、0.25、0.5U。也可自行设置适宜的 Benzonase 浓度进行标准曲线的设定。

4. 检测体系的设置:

参照下表依次加入试剂盒各组分及样品。初次检测时, 待测样品可进行适当稀释。

Reagent	Blank Control	Positive Control	Sample
1X Reaction Buffer	90 μ l	80 μ l	80 μ l
Benzonase	0	10 μ l	0
Sample	0	0	10 μ l
1X Benzonase Substrate	10 μ l	10 μ l	10 μ l
Total Volume	100 μ l	100 μ l	100 μ l

注: 为获得更加可靠的检测结果, 建议每个样品设置平行孔或 3 个复孔。