

Code No. 2670A

研究用

TAKARA

Cryonase™

Cold-active Nuclease

说明书

目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 酶贮存溶液	1
● 起 源	1
● 保 存	1
● 活性定义	1
● 纯 度	1
● 用 途	1
● 实 验 例	2
实验例 1. 从大肠杆菌中提取蛋白质时降低溶液粘度的实验	2
实验例 2. 对超声波破碎的大肠杆菌上清液中基因组 DNA 的降解	2
● 参考数据	3
● 关联产品	4

● 制品说明

本酶是一种重组体核酸内切酶，来源于嗜冷菌 *Shewanella* sp.，从大肠杆菌纯化而来。它能够在低温下切断所有类型的 DNA 和 RNA（单链、双链、线性以及环状），即使在冰上操作也能够进行反应。因此，本酶特别适用于消化蛋白质等一些热不稳定基质中的核酸物质。

本制品是由Takara Bio公司和京都大学化学研究所的Professor Nobuyoshi Ezaki, *et al.*合作研究项目的结果发展而来，研究是关于由Professor Ezaki项目组提供的*Shewanella* sp. Ac 10菌株的基因组分析。

● 制品内容

Cryonase Cold-active Nuclease (20 U/ μ l)	10,000 U (20 U/ μ l x 500 μ l)
---	--

● 酶贮存溶液

Tris-HCl (pH7.5)	10 mM
NaCl	20 mM
MgCl ₂	2 mM
Glycerol	50%

● 起 源

Expressed in recombinant *E. coli*

● 保 存: -20°C

● 活性定义

以鲑鱼精子 DNA 为底物，在 37°C、pH7.5 的条件下，1 分钟内使反应液的 260 nm 吸光度值增加 0.001 所需的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

● 活性定义反应液组成

83 mM	Tris-HCl, pH7.5
4.2 mM	MgCl ₂
33 μ g/ml	Substrate DNA

● 纯 度

蛋白质分解酶检出量低于检出界限。

● 用 途

- 1) 降解基因组 DNA。
- 2) 从大肠杆菌细胞中抽提蛋白质时，降低溶液粘度。
- 3) 双向电泳时，对样品进行预处理。
- 4) 病毒纯化时的预处理。

● 实验例

实验例 1: 从大肠杆菌中提取蛋白质时降低溶液粘度的实验

使用蛋白质提取试剂TALON® xTractor™ Buffer Kit (Code No. 635623: 目前产品名称改为 xTractor Buffer Kit, 在产品规格上也有一些变化。)提取蛋白质时, 用Cryonase Cold-active Nuclease代替DNase I, 进行粘性降低实验的研讨。

[实验方法]

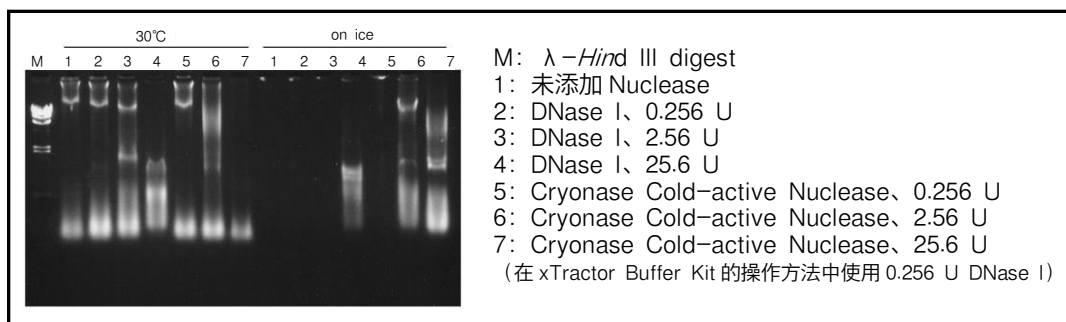
参考TALON xTractor Buffer Kit的操作方法进行实验。

在6.4 mg含有Protein A的BL21菌体中加入128 μ l的TALON xTractor Buffer、1.28 μ l的Lysozyme (50 \times), 并分别添加0.256 U、2.56 U、25.6 U的DNase I和Cryonase Cold-active Nuclease, 分别于30°C和冰上反应30分钟后, 电泳检测反应液情况。

[实验结果]

(1) 通过琼脂糖凝胶电泳检测大肠杆菌基因组DNA的残留情况

取上述反应液10 μ l进行电泳。

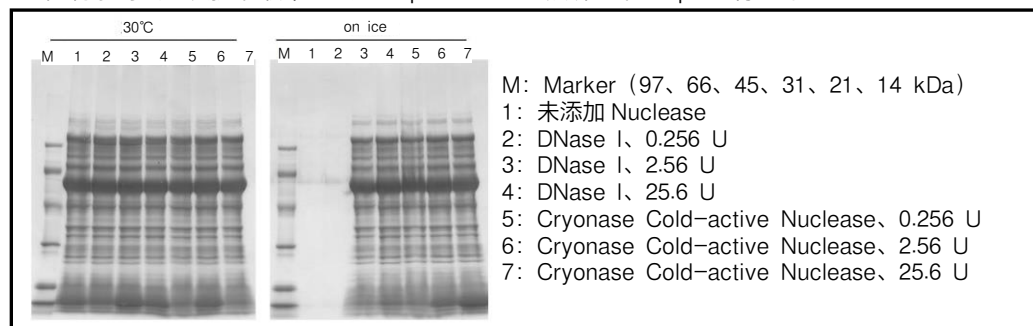


因为处理液粘性比较大, 吸取困难导致上面的电泳图中有些泳道中没有条带。

在冰上反应时, DNase I 即使添加了 2.56 U, 样品粘性仍然较大, 吸取困难。但是, Cryonase Cold-active Nuclease 添加 2.56 U 后, 基因组 DNA 基本降解, 溶液粘性降低了。

(2) 使用 SDS-PAGE 分析提取的蛋白质

在剩余的蛋白质提取液中加入 Sample Buffer, 煮沸, 取 4 μ l 进行电泳。



在冰上反应时, Cryonase Cold-active Nuclease 添加量即使比 DNase I 少 10 倍, 也可以有效降低溶液粘性。所以, 在冰上反应时, 本酶对蛋白质没有影响, 而且能够降低溶液粘性, 比较适合于蛋白质的抽提。

实验例 2: 对超声波破碎的大肠杆菌上清液中基因组 DNA 的降解

在破碎的大肠杆菌上清液中分别加入 Cryonase Cold-active Nuclease 和 DNase I, 对基因组 DNA

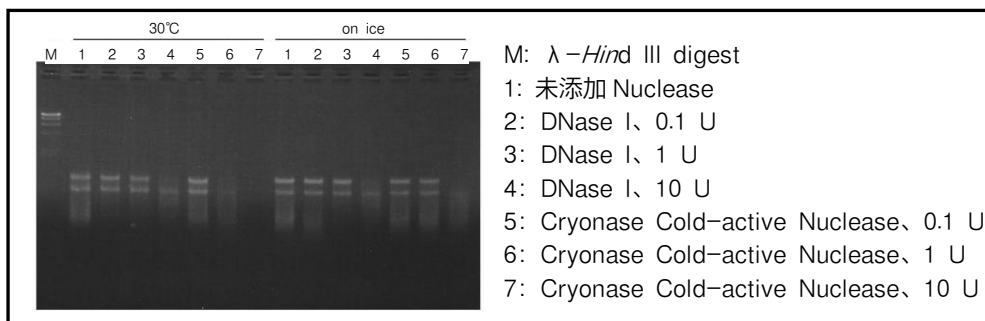
的残留量进行比较。

[实验方法]

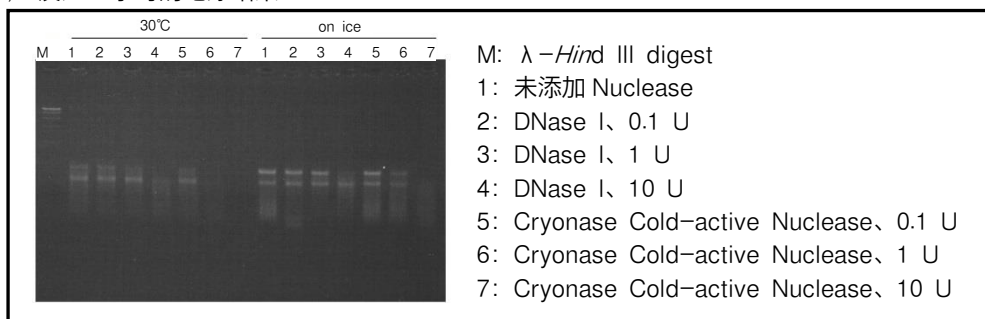
在含有 Protein A 的 BL21 菌体中，按 5 ml Buffer/g 菌体的比例添加 Buffer (Buffer: 10 mM Tris-HCl pH7.5、10 mM MgCl₂)，进行超声波破碎。将破碎上清液用 Buffer 稀释 100 倍，在 50 μl 稀释液中分别加入 DNase I 和 Cryonase Cold-active Nuclease 0.1 U、1 U、10 U，于 30°C 和冰上反应 30 分钟和 2 小时后，停止反应，进行电泳。取上述反应液 10 μl 进行电泳。

[实验结果]

(1) 反应30分钟的电泳结果



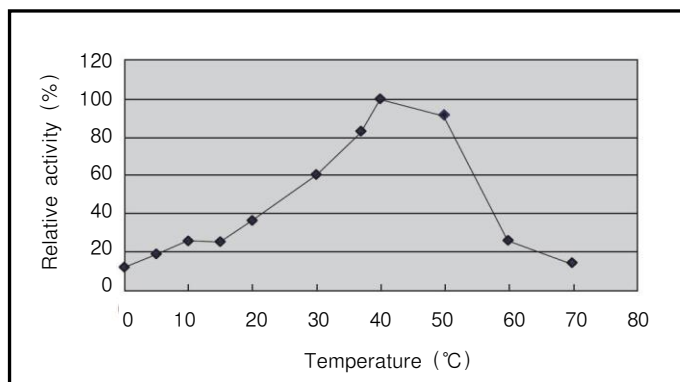
(2) 反应 2 小时的电泳结果



以上结果显示，使用 Cryonase Cold-active Nuclease 在冰上反应也能很好地分解 gDNA，低温反应时不会给蛋白质带来影响，却能分解 DNA，所以本酶很适合于提取及精制蛋白质使用。

● 参考数据

[在各温度条件下的相对活性]



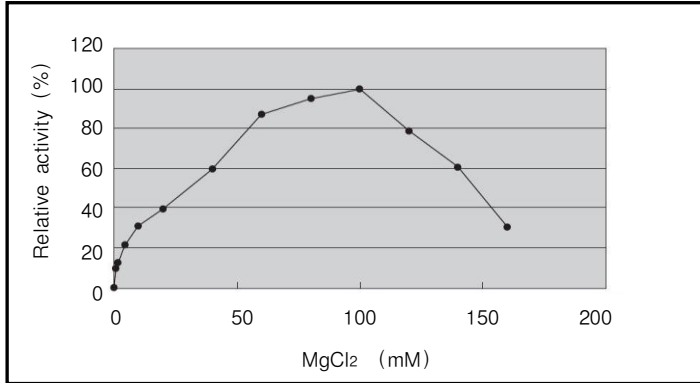
[pH 的影响]

最适 pH 值范围: 7.0~9.0

有效 pH 值范围: 6.0~10.0

[在不同 Mg^{2+} 浓度下的相对活性 (pH7.5、37°C)]

最适浓度范围: 60~120 mM



● 关联产品

xTractor™ Buffer Kit (Code No. 635623)

Recombinant DNase I (RNase-free) (Code No. 2270A)

pCold™ Vector Set (Code No. 3360)

pCold™ I DNA (Code No. 3361)

pCold™ II DNA (Code No. 3362)

pCold™ III DNA (Code No. 3363)

pCold™ IV DNA (Code No. 3364)

pCold™ TF DNA (Code No. 3365)

pCold™ ProS2 DNA (Code No. 3371)

pCold™ GST DNA (Code No. 3372)

SPP System™ I (Code No. 3367)

SPP System™ II (Code No. 3368)

SPP System™ III (Code No. 3369)

SPP System™ IV (Code No. 3370)

SPP System™ Set (Code No. 3366)

<*E. coli* Competent Cells>

Chaperone Competent Cells BL21 Series (Code No. 9120-9125)

<His-Tag Fusion Protein Purification Reagents>

Capturem™ His-Tagged Purification Miniprep Kit (Code No. 635710)

Capturem™ His-Tagged Purification Maxiprep Kit (Code No. 635713)

TALON® Metal Affinity Resin (Code No. 635501)

HisTALON™ Gravity Column Purification Kit (Code No. 635654)

HisTALON™ Superflow Cartridge Purification Kit (Code No. 635649)

HisTALON™ Buffer Set (Code No. 635651)

His60 Ni Superflow Resin (Code No. 635659)
His60 Ni Gravity Columns (Code No. 635657)
His60 Ni Buffer Set (Code No. 635665)

TALON is a registered trademark of Takara Bio USA, Inc.
Cryonase, pCold, and SPP System are trademarks of TAKARA BIO INC.
xTractor, Capturem, and HisTALON are trademarks of Takara Bio USA, Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经TAKARA BIO INC.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站www.takara-bio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 TAKARA BIO INC.网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

技术咨询热线：

0411-87641685, 87641686

4006518761, 4006518769

TAKARA BIO INC.

URL: <http://www.takarabiomed.com.cn>