



Общество с ограниченной ответственностью
«Биолабмикс»
ИНН 5408278957 КПП 540801001
630090, Новосибирская обл., г. Новосибирск,
ул. Инженерная, дом № 28
Tel/Fax: +7(383)363-51-91, Tel: +7(383)363-22-40
E-mail: sales@biolabmix.ru

Эндонуклеаза Бионаза

Кат. номер E-15025, E-15250

Описание фермента

Настоящий продукт является рекомбинантной эндонуклеазой *Serratia marcescens*. В активной форме нуклеаза состоит из двух гомодимерных субъединиц, молекулярная масса одной субъединицы ~27 кДа. Фермент расщепляет одно- или двухцепочечную ДНК, или РНК, при условии, что субстратная ДНК или РНК содержит не менее 5 нуклеотидов. Эндонуклеаза полностью расщепляет нуклеиновые кислоты до олигонуклеотидов длиной до ~5 нуклеотидов, что идеально подходит для удаления нуклеиновых кислот. Нуклеаза не обладает собственной протеолитической активностью. Фермент сохраняет активность в широком диапазоне pH, от 6 до 10, и температуре, от 0 до 42°C. Для проявления активности нуклеазе необходим кофактор Mg²⁺.

Оптимальные условия проявления ферментом активности, следующие:

- pH раствора 8,0–9,0;
- температура 37°C;
- концентрация Mg²⁺ 1–2 мМ;
- концентрация одновалентных катионов (Na⁺, K⁺ и др.) не более 150 мМ.

Область применения

Понижение вязкости при разрушении клеток, выделении и очистке белков или других метаболитов. Очистка веществ от примесей нуклеиновых кислот.

Источник

Эндонуклеаза выделена из штамма *E.coli*, содержащего плазмиду с клонированным геном неспецифической нуклеазы *Serratia marcescens*.

Единицы активности

Одна единица активности соответствует количеству фермента, необходимому для прироста 1.0 оптической единицы (A260) в кислоторастворимой фракции за 30 минут при 37°C при проведении реакции в стандартном реакционном буфере (0,1% раствор ДНК спермы лососевых рыб, 50 мМ Tris-HCl pH 8,0 (при 25°C), 0,1 мг/мл BSA, 1 мМ MgCl₂).

Концентрация фермента и фасовки: 250 ea/мкл.

Кат №	Название	Количество	Объем фермента	Объем реакционного буфера (10x)
	Эндонуклеаза	25 000 ea	100 мкл	2 мл
	Бионаза	250 000 ea	1000 мкл	10 мл

Буфер хранения

Фермент находится в растворе следующего состава: 20 мМ Tris-HCl (рН 8,0 при 25°C), 20 мМ NaCl, 2 мМ MgCl₂, 50% глицерин.

10x реакционный буфер

500 мМ Tris-HCl (рН 8,0 при 25°C), 10 мМ MgCl₂, БСА 1 мг/мл.

Контроль качества

Каждая партия фермента тестируется на специфическую активность фермента, электрофоретическую чистоту в SDS-ПААГ, наличие аэробных микроорганизмов и эндотоксинов.

Типичные условия для проведения реакции

Для полного гидролиза 1 мкг двухцепочечной ДНК смешайте в пробирке следующие компоненты:

- 2 мкл 10x реакционного буфера;
- 1 мкг дцДНК;
- 0,1 мкл эндонуклеазы Биоаназы;
- до 20 мкл воды, очищенной от нуклеаз.

Инкубируйте реакционную смесь при 37°C в течение часа.

Условия хранения и транспортировки

Хранить при температуре -20°C.

Допускается транспортирование при температуре не выше +25°C в течение семи суток.

Срок годности фермента при соблюдении условий хранения – 24 месяца.

Примеры гидролиза различных субстратов с помощью эндонуклеазы Бионаза.

Условия реакции:

- ДНК (плазмида рUC19, ДНК фага лямбда или ДНК из тимуса крупного рогатого скота), суммарно ~1 мкг в 20 мкл реакционной смеси.
- эндонуклеаза Бионаза от 0,001 до 1.0 еа в реакционной смеси.
- инкубация реакционной смеси 1 час при 37 °С.

Ниже представлены электрофореграммы анализа реакционных смесей в 0,8% агарозном геле.

Рисунок 1. Гидролиз плазмидной ДНК рUC19.

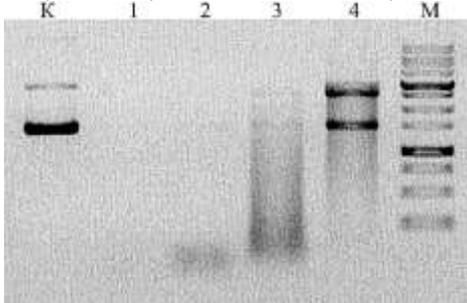


Рисунок 2. Гидролиз ДНК фага лямбда.

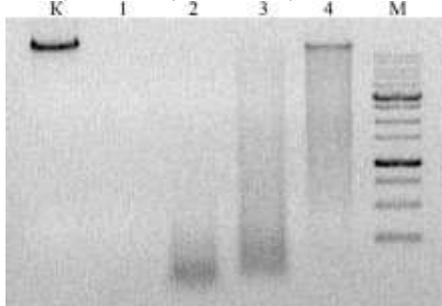
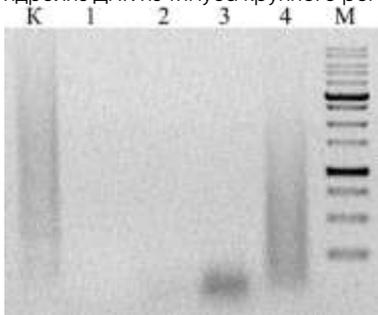


Рисунок 3. Гидролиз ДНК из тимуса крупного рогатого скота.



Обозначение дорожек:

К – контрольный образец, реакционная смесь без фермента;

1-4 – реакционные смеси с добавлением 1.0, 0.1, 0.01 и 0.001 еа фермента, соответственно;

М – ДНК маркер Sky-High (Кат. номер S-8000).