

Salt Active Nuclease High Quality (Bioprocessing grade)

SAN HQ (生物工艺级) 耐高盐核酸酶

描述

SAN HQ (生物工艺级)是用 *Pichia pastoris* 表达的重组非特异性内切核酸酶，广泛应用于生产工艺流程中，有效去除核酸污染。该酶在高盐浓度下具有最佳的活性，应用在生产工艺流程中提高去除效率和目标产物产量。

在生物制品生产，如 AAV 载体及腺病毒载体疫苗生产中，宿主细胞 DNA 残留是关键质量参数之一。宿主细胞 DNA 主要以染色质形态存在，其中的组蛋白通过离子相互作用及疏水相互作用与 DNA 紧密结合，从而影响 DNA 的检测与酶切处理。



高盐浓度能够提高效率及产量

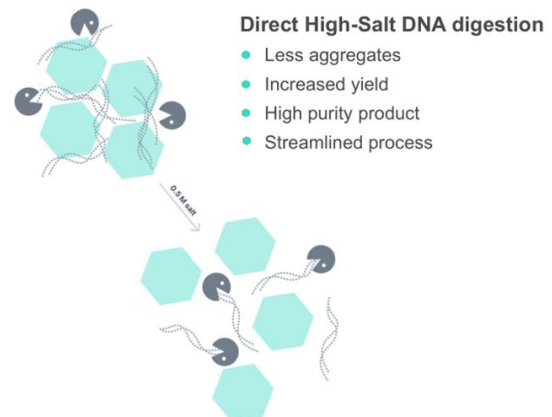
SAN HQ (Bioprocessing grade)是一种新型的、耐高盐的工程化内切酶。该酶在 0.5 M NaCl 条件下具有最佳活性，是大规模生产及生物工艺流程中去除核酸污染的理想选择。

盐浓度是纯化工艺的重要参数之一，高盐浓度能够减少聚集、增加目标产物溶解度及提高目标产物产量。高盐浓度下，宿主 DNA 与蛋白质能够完全解离，从而更容易被降解。

ArcticZymes 在生产过程中使用 SAN，以得到高质量、核酸 free 的酶类产品。

优势

1. 高盐条件下，DNA 清除效率更高；
2. 高盐抑制 AAV 载体聚集，提高载体产量；
3. 无需透析、脱盐操作，简化工艺，节省时间；
4. 减少酶用量，降低直接成本。



特性

在治疗性药物 (如抗体、病毒载体药物等) 的生产及工艺流程中，核酸杂质的去除至关重要。US FDA 指南要求：治疗用重组生物制品终产品中，核酸杂质含量低于 100 pg/dose。SAN HQ

独特的耐高盐特性、合规的生产体系标准, 让其成为大规模生产工艺中核酸处理的理想选择。

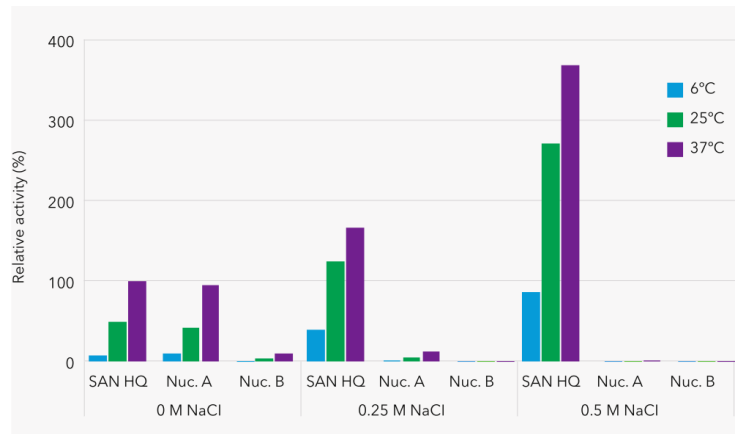


Figure 1. 在高盐条件下 SAN HQ 酶活优于其他内切核酸酶。不同浓度的 NaCl (0 M、0.25 M 和 0.5 M) 和温度 (6 °C、25 °C、37 °C) 下, 两种市售内切核酸酶和 SAN HQ 的活性比较。

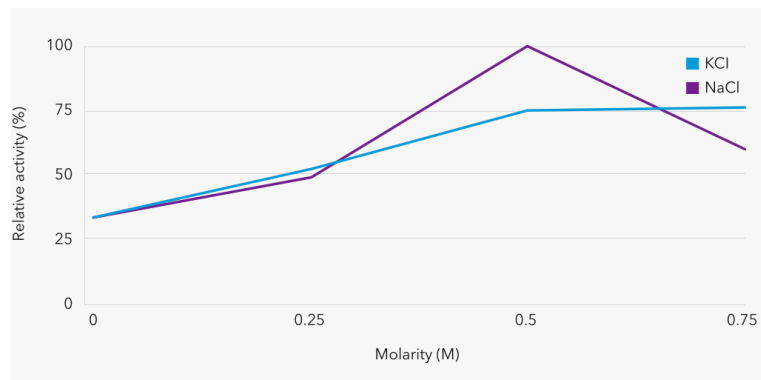


Figure 2. SAN HQ 在不同浓度 Na⁺和 K⁺条件下的活性变化。SAN HQ 在 0.5 M 的 NaCl 条件下具有最佳的活性, 且在较宽的 NaCl 和 KCl 范围内都有较高活性。酶活检测体系是 25 mM Tris-HCl 缓冲液 (pH 8.5, 5 mM MgCl₂, 不同浓度的 NaCl 和 KCl), 最高活性设置为 100%。

SAN HQ 残留检测专用 ELISA Kit

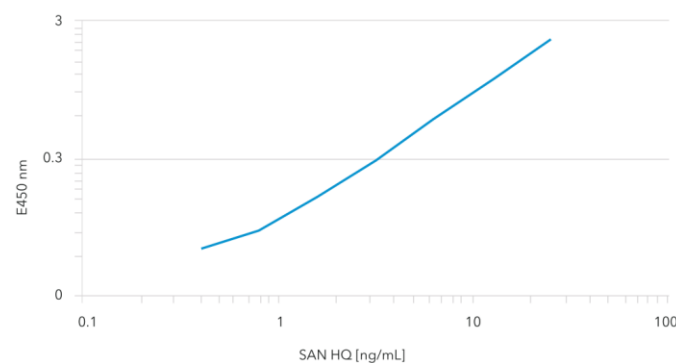


Figure 3. SAN HQ ELISA Kit 用特异性单抗对 SAN HQ 进行检测及定量分析。检测下限 (LOD) 是 0.4 ng/ml, 线性检测范围是 0.4 – 25 ng/ml。

质控体系

ArcticZymes 致力于提供高质量产品，具有好的批间一致性、稳定可靠的质量。ArcticZymes 所有产品的开发、生产及销售等都符合 ISO 13485:2016 质量管理体系标准。

鉴于治疗用生物制品更严格的质量要求，厂家对 SAN HQ (Bioprocessing Grade) 的生产及质控，在符合 ISO13485:2016 体系基础上，增加了 cGMP 相应要求。

SAN HQ (Bioprocessing Grade) 的生产用原辅料是 Non-animal 和 Non-plant 来源的，终产品经过 0.22 μm 过滤除菌，放行检测包括微生物、真菌及内毒素检测等，所有标准符合 USP-EP 要求。

作为 SAN HQ (Bioprocessing Grade) 和 M-SAN HQ (Bioprocessing Grade) 的生产商，ArcticZymes 厂家管控整个供应链及生产流程，协助客户进行文件审计及现场审计。



部分质控参数

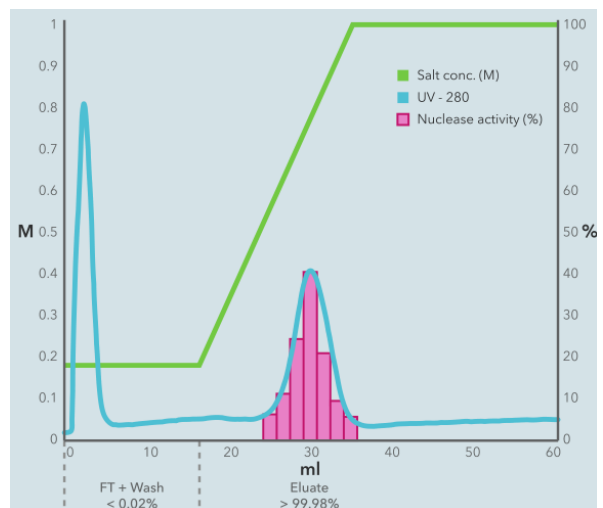
质控参数	检测方法	指控标准
纯度 (Purity)	SDS-PAGE	≥98%
蛋白酶活性 (Protease)	Functional Assay	Not detected (1000 U)
微生物等检测 (Aerobic bacteria, Yeasts and moulds, Endotoxin)	Ph. Eur methods	Aerobic bacteria <10 CFU (100 kU); Yeasts and moulds < 10 CFU (100 kU); Endotoxin < 0.25 EU (1000 U)

高 pI——通过离子交换 (IEX) 易去除

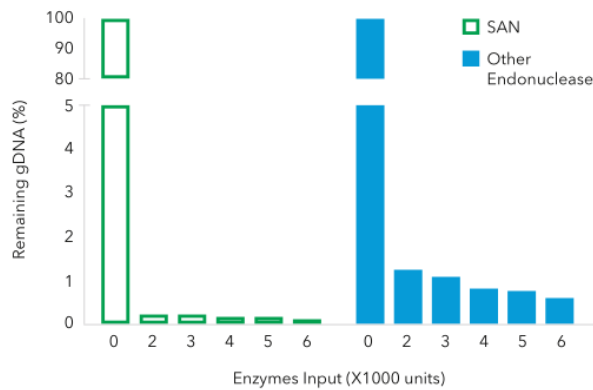
细胞基因治疗常用产品的 pI 值如表格所示。与其他核酸酶相比，SAN HQ 更容易去除。

组分	pI 值
SAN HQ	9.6
M-SAN HQ	8.7
<i>S. marcescens</i> nuclease	6.85
Average AAV (packed)	5.9
Lentivirus	6.0-6.5

Figure 4. SAN HQ 紧密结合在 SP-sepharose 柱子上 (体系是 0.2 M 盐浓度, pH 9.0)。将混有 SAN HQ (pI=9.6) 的 BSA (pI=4.7) 溶液过 SP-sepharose 柱子，两种物质分离很容易且彻底。



应用实例：AAV 生产



北美某病毒载体研究中心，在 AAV 生产过程中比较了 SAN HQ 和市售一款全能核酸酶的性能。每组用 150×10^6 HEK293 细胞，裂解后加入指定量的两种酶 (0K, 2K, 3K, 4K, 5K, 6K)，在各自最适反应条件下，37°C 酶切 1hr；用 Quant-iT dsDNA High Sensitivity Assay Kit (Invitrogen) 检测 Genomic DNA 含量，以加酶 0K 实验组数据为 100% 作图。

该中心 Director 表示，SAN HQ 独特的耐高盐特性，能够提高 AAV 下游纯化效率，缩短纯化时间，且不影响 AAV 载体产量及活性；且这种特性对不同血清型均有效果。

酶学特征

来源： Pichia pastoris

分子量： 该酶是糖蛋白，不含糖基化的分子量是 26 kDa

酶比活： $\geq 1.75 \times 10^5$ Units/mg

酶活定义： 在 37°C，25mM Tris-HCl，pH8.5 (25°C)，5mM MgCl₂，500mM NaCl 反应体系中，一个单位的 SAN HQ 在 30 分钟内消化 50 μg/ml 的小牛胸腺 DNA，产生 OD260nm 处 1A 的吸光值变化。

特异性： 非特异性内切核酸酶，能够将单链及双链的 DNA 及 RNA，消化成 5 个碱基为主的寡核苷酸 oligos。

酶活条件：

Condition	Optimal	Effective
Mg ²⁺	20 mM	>1 mM
pH	9 (8.5-9.5)	7.0-9.5
Temperature	35 °C (10-40 °C)	0-40 °C
NaCl	500 mM	50 mM -1 M

对常用添加剂的耐受性：

添加剂	活性影响
咪唑	350 mM 时，有 20%活性
甘油	35%浓度时，有 20%活性
Triton X-100	15%浓度以内，不影响活性
SDS	不推荐
尿素 Urea	不推荐
还原剂 (如 DTT, TCEP)	能使酶失活

References

- Allen WE, Kauvar IV, Chen MZ, Richman EB, Yang SJ, Chan K, Gradinaru V, Deverman BE, Luo L, Deisseroth (2017). Global Representations of Goal-Directed Behavior in Distinct Cell Types of Mouse Neocortex. *Neuron* 94 (4) 891-907, doi.org/10.1016/j.neuron.2017.04.017
- Adams B, Bak H, Tustian AD (2020). Moving from the Bench Towards a Large Scale, Industrial Platform Process for Adeno-Associated Viral Vector Purification. *Biotechnology & Bioengineering*, doi:10.1002/bit.27472
- Chan, K, Jang, M, Yoo, B (2017). Engineered AAVs for efficient noninvasive gene delivery to the central and peripheral nervous systems. *Nat Neurosci* 20, 1172-1179, doi.org/10.1038/nn.4593
- Levy JM, Yeh WH, Pendse N (2020). Cytosine and adenine base editing of the brain, liver, retina, heart and skeletal muscle of mice via adeno-associated viruses. *Nature Biomedical Engineering*, 4(1):97-110, doi:10.1038/s41551-019-0501-5

Q&A

[Q1] How can I inactivate or remove SAN High Quality after use?

[A1] There are various ways of inactivating or removing the protein after use. Due to the high pI of the protein (pI 9.6), it can be removed by the use of cation exchange chromatography. Irreversible inactivation can be achieved by the use of reducing agents (e.g. TCEP, DTT) combined with moderate temperatures. Alternatively, the activity of the enzyme can be inhibited by chelators.

[Q2] Could SAN High Quality be used for purification of viral vectors, e.g. AAV based vectors?

[A2] Yes, this endonuclease is suited for viral vector purifications. The purity of virus vectors is pivotal prior to in vivo transductions of cells or animals. Salt is often an important component to achieve highly purified vectors by minimizing aggregation and increasing target yield. SAN High Quality is highly compatible with the use of high salt conditions.

[Q3] Can I replace my current endonuclease with SAN High Quality in all applications?

[A3] SAN High Quality has a different activity profile and tolerance for certain buffer components compared to other endonucleases. SAN High Quality can replace your current endonuclease in most cases and is a superior nuclease in high salt conditions.

[Q4] What is the advantage of SAN High Quality compared to other nucleases?

[A4] Other nucleases can generally not tolerate salt very well. SAN High Quality has an optimal activity at high salt concentrations, enabling high salt conditions throughout the workflow.

[Q5] What is the lowest reaction temperature I can use for SAN High Quality?

[A5] The optimal reaction temperature of SAN High Quality is 37°C. At lower temperatures, the reaction will be slower. Activity at 4°C is about 5-10% compared to the activity at 37°C. You may compensate by increasing the reaction time or increasing the amount of enzyme.

[Q6] What salt concentrations and pH-values are optimal?

[A6] Optimal conditions of NaCl are between 0.4-0.6 M and optimal pH-values are between 8.5-9.5. Low concentrations of salt can be compensated for by using a higher pH. Low pH can be compensated for by using a higher concentration of salt.

[Q7] Does the product contain BSA?

【A7】 No.

【Q8】 How stable is SAN High Quality?

【A8】 SAN High Quality is a robust enzyme which is stable at room temperature for weeks. The product should be stored at -20°C or 4°C for best storage stability.

订购信息

货号	描述	规格	浓度	储存条件
70921-202	SAN HQ (Bioprocessing grade), Triton FREE,25-25k	25 kU	25-30 U/μl	-20 °C
70921-150	SAN HQ (Bioprocessing grade), Triton FREE, 500k	500 kU	>250 U/μl	-20 °C
70921-160	SAN HQ (Bioprocessing grade), Triton FREE, 5M	5 MU	>250 U/μl	-20 °C
70930-001	SAN HQ ELISA Kit	1x96 Well	/	2-8 °C
70950-202	M-SAN HQ (Bioprocessing grade), Triton FREE,25-25k	25 kU	25-30 U/μl	-20 °C
70950-150	M-SAN HQ (Bioprocessing grade), Triton FREE, 500k	500 kU	>250 U/μl	-20 °C
70950-160	M-SAN HQ (Bioprocessing grade), Triton FREE, 5M	5 MU	>250 U/μl	-20 °C
70960-001	M-SAN HQ ELISA Kit	8x12 strips	/	2-8 °C

Cutting-edge enzymes from Norway 来自挪威的尖端酶类

ArcticZymes Technologies 成立于 20 世纪 80 年代后期，总部位于挪威北部的特罗姆瑟 (Tromsø)。立足北极海洋区，致力于从海洋生物中识别新的冷适应酶，用于分子研究、体外诊断和治疗领域。ArcticZymes 专注于与全球的合作伙伴和商业创新者建立牢固可靠的关系。因此，我们一直在最高水平工作，不断满足并且超过合作伙伴的期望。

Quality Assurance 质量保证

我们执行严苛的生产工艺流程，保证安全稳定地生产出一贯值得信赖的产品。而且，产品开发、生产、销售和营销过程均通过了 ISO13485 质量标准的认证。

上海倍笃生物科技有限公司

Shanghai Besto Biotechnology Co., Ltd

网站: www.bestobio.com

联系人:

郭经理, 18616526532, guo_jay@bestobio.com

梅经理, 15601919566, mei_paul@bestobio.com

咨询: infor@bestobio.com

地址: 上海市浦东新区张衡路 200 号 2 号楼 211 室

