

## 牛痘 DNA 拓扑异构酶 I

### V752120

#### 产品简介

阿拉丁生产的 Vaccinia DNA Topoisomerase I, 即牛痘 DNA 拓扑异构酶 I, 也称牛痘病毒 DNA 拓扑异构酶 I (Vaccinia Virus DNA Topoisomerase I), 是一种来源于牛痘病毒 (vaccinia virus) 的 I 型真核拓扑异构酶, 可以催化双链 DNA 分子中单链 DNA 特定序列位置的磷酸二酯键的断开和连接。Vaccinia DNA Topoisomerase I 具有解超螺旋的酶 (DNA Relaxing Enzyme) 活性, 可以通过快速的酶切和连接从而使双链共价闭合环状的正或负超螺旋 DNA 发生解超螺旋, 从而可以形成含有较少的正或负超螺旋的双链环状的 DNA 分子。Vaccinia DNA Topoisomerase I 也能使双链 DNA 形成绳结 (knotting) 或解开绳结 (unknotting), 联结互补的单链环状 DNA 成为双链环状 DNA。Vaccinia DNA Topoisomerase I 目前常被作为一种 DNA 重组连接的新型工具酶, 用于 DNA 载体和重组片段的连接、缺刻修复、接头连接等。Vaccinia DNA Topoisomerase I 能够特异性识别双链 DNA 中 5'--- (C/T)CCTT---3' 序列, 并酶切该序列中最后一个 T 和其之后的核酸序列之间的磷酸二酯键 (5'---(C/T)CCTT---3')。在此过程中, 断裂的磷酸二酯键的能量可以通过 Vaccinia DNA Topoisomerase I 活性位点的酪氨酸残基 (Tyr274) 与被切割的最后一个 T 的 3' 磷酸基团之间形成共价复合物而得以保留。该复合物又可以被 Vaccinia DNA Topoisomerase I 酶切开的单链 DNA 的 5' 羟基所攻击, 在不需要 ATP 和 DNA 连接酶的情况下, 可以恢复形成之前的磷酸二酯键, 即重新发生连接, 同时释放出 Vaccinia DNA Topoisomerase I。该酶切连接反应过程在超螺旋双链环状 DNA 的多个位点同时不断重复, 从而可以使超螺旋环双链状 DNA 的超螺旋被解开。Vaccinia DNA Topoisomerase I 特异性识别的双链 DNA 中的 5'--- (C/T)CCTT---3' 序列如果位于距离 3' 端几个碱基处, 当 Vaccinia DNA Topoisomerase I 酶切 DNA 单链后, 余下的带有 5' 羟基的单链 DNA 由于非常短而容易解离, 此时 Vaccinia DNA Topoisomerase I 与 5'--- (C/T)CCTT---3' 序列中最后一个 T 的 3' 磷酸基团之间形成的共价复合物, 也可以被其它的 5' 端为羟基的 DNA 或 RNA 所攻击, 从而形成重组的 DNA 分子或 DNA 与 RNA 的杂合分子。

来源 (Source)	大肠杆菌重组表达
外观 (Appearance)	无菌液体
保存液 (Storage Buffer)	50mM Tris-HCl, pH8.0, 1 mM CaCl <sub>2</sub> 0.1% Tween-20, 50% Glycerol.
酶浓度 (Enzyme Concentration)	10U/μL
纯度 (Purity)	未检测到 Vaccinia DNA Topoisomerase I 活力之外的 DNA 外切酶、DNA 内切酶和 RNase 活性。
活性定义 (Activity Definition)	One unit of DNA Topoisomerase I from Vaccinia converts 1 μg of supercoiled closed circular pUC18 DNA to relaxed closed circular form in 30 min at 37°C

#### 产品用途

Vaccinia DNA Topoisomerase I 可用于解开双链闭合环状 DNA 的超螺旋结构便于后续的酶切等分子生物学反应、DNA 载体和 PCR 扩增片段之间的连接、缺刻修复和接头连

接等。

## 产品优势

Vaccinia DNA Topoisomerase I 能够特异性识别双链 DNA 中 5'-... (C/T)CCTT...-3' 序列，广泛的应用领域，可作为一种体外 DNA 连接的新型工具，用于 DNA 载体和重组片段的连接、缺刻修复、接头连接等。

## 使用说明

1. 溶解并混匀体外消化反应所需的各种溶液。将 Vaccinia DNA Topoisomerase I 置于冰浴上或冰盒内。

2. 按照下表配制反应体系(以 20 $\mu$ l 体系为例):

Volume	Final Concentration
15.9 $\mu$ l	-
2 $\mu$ l	1 $\times$
2 $\mu$ l	50 ng/ $\mu$ l
0.1 $\mu$ l	0.05 U/ $\mu$ l
20 $\mu$ l	-

注：如果酶浓度过高，可适当使用本产品提供的 Storage Buffer 将酶适当稀释后再使用。

3. 将上述配制好的反应体系置于 PCR 仪或水浴，37 $^{\circ}$ C 孵育 30min，然后放置冰上。

注：使用 PCR 仪孵育时，需要调整热盖温度为 40 $^{\circ}$ C 左右，避免在孵育过程中造成酶失活。

4. 使用不含溴化乙锭(EtBr)的适当浓度的琼脂糖凝胶进行电泳，电泳结束后进行核酸染色和凝胶成像观察。每个样品中加入 1 $\mu$ l 蛋白酶 K，轻轻混匀，室温孵育 10min。

## 保存条件

-20 $^{\circ}$ C 保存， $\leq$ 0 $^{\circ}$ C 运输

## 注意事项

1. 当超螺旋质粒用 Vaccinia DNA Topoisomerase I 处理后，应使用不含溴化乙锭(EtBr，简称 EB)的琼脂糖凝胶进行电泳，必须在电泳完成后再使用溴化乙锭或其它合适的核酸染料进行凝胶的核酸染色检测。因为当凝胶中含有溴化乙锭时，溴化乙锭会结合到 DNA 的碱基之间并催化形成超螺旋。而在电泳结束后再进行染色，即使再次催化形成了超螺旋，也不会改变核酸片段的电泳位置了。

2. 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。

3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。