

## Vaccinia DNA Topoisomerase I

产品编号	产品名称	包装
D6952S	Vaccinia DNA Topoisomerase I	200U
D6952M	Vaccinia DNA Topoisomerase I	1000U
D6952L	Vaccinia DNA Topoisomerase I	5000U

### 产品简介:

- 碧云天生产的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(unknottting), 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所酶切开的单链DNA的5' 羟基所攻击, 在不需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。这样Vaccinia DNA Topoisomerase I酶就可作为一种体外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。
- 碧云天生产的Vaccinia DNA Topoisomerase I解旋1 μg超螺旋pUC18质粒的效果请参考图1。

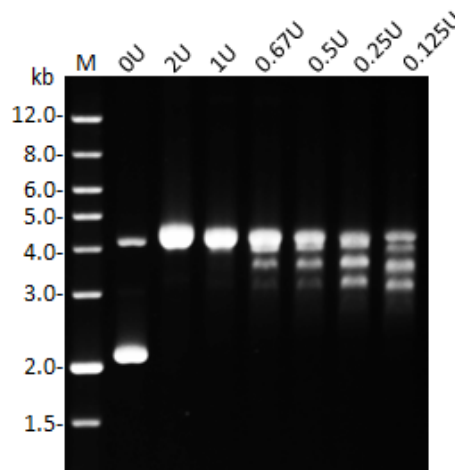


图1. 碧云天生产的Vaccinia DNA Topoisomerase I解旋1 μg超螺旋pUC18质粒的效果图。分别使用1 μg超螺旋pUC18质粒和不同量的碧云天生产的Vaccinia DNA Topoisomerase I (0 U, 2 U, 1 U, 0.67 U, 0.5 U, 0.25 U, 0.125 U)在含有1X Reaction Buffer的20 μl反应体系中, 37°C孵育30min, 然后进行1%的琼脂糖凝胶电泳, 电泳完毕后进行凝胶的核酸染色和拍照。如图所示, 随着酶量的增加, 1 μg超螺旋pUC18质粒可以被1 U碧云天生产的Vaccinia DNA Topoisomerase I在30min内完全解旋。M, DNA marker (D0110 DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands))。

- **来源:** 碧云天生产的Vaccinia DNA Topoisomerase I通过大肠杆菌重组、表达和纯化而获得。
- **纯度:** 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。
- **用途:** Vaccinia DNA Topoisomerase I可用于解开双链闭环状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。

- **活性定义:** 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.
- **10X Reaction Buffer:** 500 mM Tris-acetate, 1M NaCl, 25 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EDTA, pH 7.5 at 25°C.
- **酶储存溶液:** 50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1 M NaCl, 0.1% Triton X-100 and 50% (v/v) glycerol
- **失活或抑制:** 80°C加热20min可以使Vaccinia DNA Topoisomerase I失活。

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D6952S-1	Vaccinia DNA Topoisomerase I (10U/µl)	20µl
D6952S-2	10X Reaction Buffer	400µl
D6952S-3	Storage Buffer	200µl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6952M-1	Vaccinia DNA Topoisomerase I (10U/µl)	100µl
D6952M-2	10X Reaction Buffer	2ml
D6952M-3	Storage Buffer	1 ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D6952L-1	Vaccinia DNA Topoisomerase I (10U/µl)	500µl
D6952L-2	10X Reaction Buffer	10ml
D6952L-3	Storage Buffer	5ml
—	说明书	1份

#### 保存条件:

-20°C保存。

#### 注意事项:

- 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。
- 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. 溶解并混匀反应所需的各种溶液。将 Vaccinia DNA Topoisomerase I 置于冰浴上或冰盒内。
2. 参考下表设置反应体系(以 20µl 体系为例):

Component	Volume	Final
Nuclease-free Water	15.9 µl	-
10X Reaction Buffer	2 µl	1X
DNA (0.5µg/µl)	2 µl	50 ng/µl
Vaccinia DNA Topoisomerase I (10U/µl)	0.1 µl	0.05 U/µl
Total	20 µl	-

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°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°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。

#### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D6952S	Vaccinia DNA Topoisomerase I	200U
D6952M	Vaccinia DNA Topoisomerase I	1000U
D6952L	Vaccinia DNA Topoisomerase I	5000U
D7002	快速DNA连接试剂盒	100次

D7003	快速DNA连接试剂盒	500次
D7006	T4 DNA Ligase	40,000U
D7008	T4 DNA Ligase	200,000U
D7010S	Seamless Cloning Kit (无缝克隆试剂盒)	20次
D7010M	Seamless Cloning Kit (无缝克隆试剂盒)	100次

Version 2023.12.05