

## T4 Gene 32 Protein (ssDNA结合蛋白)

产品编号	产品名称	包装
D7057S	T4 Gene 32 Protein (ssDNA结合蛋白)	100μg
D7057M	T4 Gene 32 Protein (ssDNA结合蛋白)	500μg
D7057L	T4 Gene 32 Protein (ssDNA结合蛋白)	2mg

### 产品简介:

- 碧云天生产的T4 Gene 32 Protein (ssDNA结合蛋白), 也称T4 gp32 protein, T4 gp32蛋白或T4噬菌体gp32蛋白, 是一种由噬菌体T4基因组的基因32编码的单链DNA (ssDNA)结合蛋白, 常用于基于重组酶聚合酶扩增(Recombinase polymerase amplification, RPA)的等温扩增反应等。
- T4 Gene 32 Protein为T4噬菌体DNA复制和修复所必需。在T4噬菌体DNA复制过程中, T4 gp32结合并稳定暂时形成的单链DNA区域。在使用电子显微镜观察细胞内DNA结构的时候, 该蛋白也被广泛用于稳定和标记单链DNA区域。此外, T4 gp32还被报道可以促进限制性内切酶和T4 DNA聚合酶活性, 在RT-PCR过程中提高逆转录酶效率, 提高PCR产物产量。
- T4 gp32 protein可用于重组酶聚合酶扩增(Recombinase polymerase amplification, RPA)。RPA主要包括以下几个组分: 重组酶(Recombinase) T4 UvsX, 重组酶载入因子(Recombinase loading factor) T4 UvsY, *Bsu* DNA聚合酶大片段以及单链DNA结合蛋白(Single-strand binding protein) (如T4 gp32 Protein)等。在ATP参与的情况下, UvsX与引物相结合形成复合物, 扫描DNA模板, 寻找到与引物配对的核酸序列。一旦引物被定位到了DNA模板的同源序列, 可以直接引发链交换反应形成D-Loop结构: ATP水解产生ADP, UvsX被gp32取代而从DNA模板上解离下来, gp32作为单链结合蛋白可以稳定在被置换的DNA链的D-Loop结构中, 防止引物解离。UvsX被解离后, 引物3'末端暴露并被*Bsu* DNA聚合酶识别。随后聚合酶与DNA模板配对并进行引物的延伸和模板的扩增。重组酶载入因子T4 UvsY和拥挤试剂(Crowding reagent) Carbowax20M的加入有利于UvsX与引物的结合, 即有利于重组酶UvsX的载入。
- 碧云天T4 gp32 protein在RPA反应中的作用请参考图1。

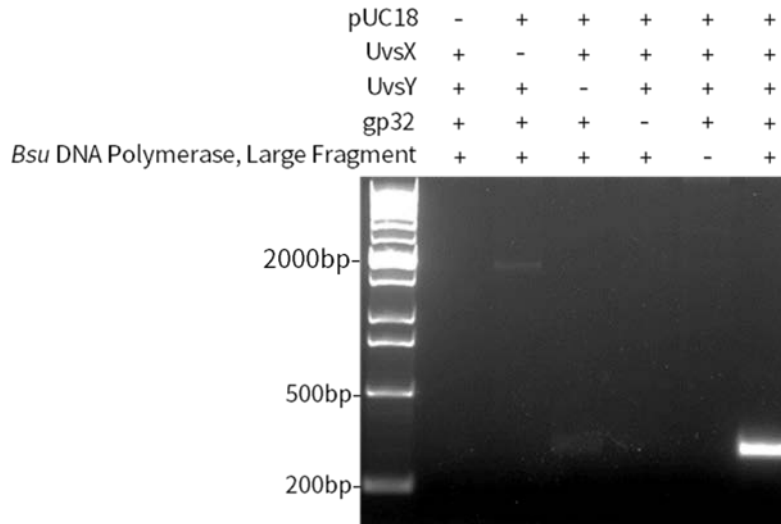


图1. 碧云天 T4 gp32 protein (D7057)在 RPA 反应中的效果图。以 pUC18为模板, 使用正向引物 Primer-F (5'-AGTGGTCCTGCAACTTTATCCGCCTCCATCC-3')和反向引物 Primer-R (5'-TGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACA-3')进行 RPA 反应。配制50μl 反应体系: 包含缓冲液, dNTPs, pUC18, Primer-F, Primer-R, UvsX (D7059), UvsY (D7061), 600ng/μl T4 Gene 32 Protein (D7057), *Bsu* DNA Polymerase, Large Fragment (D7055)。设置无 pUC18的阴性对照, 以及无 UvsX、无 UvsY、无 gp32和无 *Bsu* DNA polymerase, Large Fragment 的对照。配制好反应体系后, 最后统一将 Mg(Ac)<sub>2</sub> 加到管壁上, 离心以启动反应, 39°C 孵育30分钟, 随后60°C 加热10分钟。反应结束后离心, 从每管取出4μl 样品, 分别加入 0.8μl DNA 上样缓冲液(6X) (D0071), 然后电泳并进行核酸染色和荧光成像分析, 产物为长度为293bp 的片段。结果表明 UvsX、gp32、*Bsu* DNA polymerase, Large Fragment 对于 RPA 反应都是必需的。当体系中不含 UvsY 时, 可以观察到微弱的条带, 说明 UvsY 可以提高 RPA 反应的效率。实际效果会因样品种类、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- **用途:** RPA法等温扩增; 稳定或标记ssDNA; 在RT-PCR过程中, 增加反转录产物的产量; 增强体外DNA的合成; 与T4 DNA Polymerase和T4 DNA Ligase一起用于位点特异的突变实验; 从含有腐植酸的样本如土壤中扩增细菌或真菌基因组时, 可提高

PCR产物的产量和特异性(当PCR体系中包含T4 gp32蛋白时(2.5µg/100µl), 腐植酸的抑制作用可被降低7倍); 促进限制性内切酶的消化反应。

- **来源:** 大肠杆菌表达和纯化而得的T4噬菌体基因32的重组蛋白。
- **纯度:** 不含DNA内切酶和外切酶, 不含核糖核酸酶及磷酸酶。
- **储存液:** 20mM Tris-HCl (pH8.0), 100mM NaCl, 0.5mM DTT, 1mM EDTA, 50% (v/v) Glycerol。
- **失活或抑制:** 65°C孵育10min。

#### 包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7057S-1	T4 Gene 32 Protein (10mg/ml)	10µl
D7057S-2	10X T4 Gene 32 Protein Buffer	500µl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7057M-1	T4 Gene 32 Protein (10mg/ml)	50µl
D7057M-2	10X T4 Gene 32 Protein Buffer	2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7057L-1	T4 Gene 32 Protein (10mg/ml)	200µl
D7057L-2	10X T4 Gene 32 Protein Buffer	8ml
—	说明书	1份

#### 保存条件:

-20°C保存。

#### 注意事项:

- 配制反应体系时, 会出现白色沉淀, 属于正常现象, 不影响实验结果。
- 该蛋白的最佳反应温度为37°C。
- 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。

#### 相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D7050S	Bst DNA Polymerase, Large Fragment	800U
D7050M	Bst DNA Polymerase, Large Fragment	4000U
D7053S	phi29 DNA Polymerase	250U
D7053M	phi29 DNA Polymerase	1kU
D7053L	phi29 DNA Polymerase	5kU
D7053XL	phi29 DNA Polymerase	20kU
D7055S	Bsu DNA Polymerase, Large Fragment	200U
D7055M	Bsu DNA Polymerase, Large Fragment	1000U
D7057S	T4 Gene 32 Protein (ssDNA结合蛋白)	100µg
D7057M	T4 Gene 32 Protein (ssDNA结合蛋白)	500µg
D7057L	T4 Gene 32 Protein (ssDNA结合蛋白)	2mg
D7059S	T4 UvsX Recombinase	100µg
D7059M	T4 UvsX Recombinase	500µg
D7059L	T4 UvsX Recombinase	2mg
D7061S	T4 UvsY Protein	100µg
D7061M	T4 UvsY Protein	500µg
D7061L	T4 UvsY Protein	2mg
D7359-250µl	dUTP (100mM)	250µl
D7359-1ml	dUTP (100mM)	1ml
D7360S	Uracil-DNA Glycosylase ( <i>E. coli</i> )	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase ( <i>E. coli</i> )	5000U

D7362S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	100U
D7362M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	500U
D7364S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	200U
D7364M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	1000U
D7364L	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	5000U
D7371	dNTP Mixture (2.5mM each)	1ml
D7373	dNTP Mixture (25mM each)	250μl
D7376-1ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	1ml
D7376-5ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	5ml
D7378-250μl	ATP (100mM, Nuclease free)	250μl
D7378-1ml	ATP (100mM, Nuclease free)	1ml
D7378-5ml	ATP (100mM, Nuclease free)	5ml
ST043-1g	DTT	1g
ST483	PEG8000	500g
ST1483-100g	乙酸镁四水合物(99%, Reagent grade)	100g
ST1483-500g	乙酸镁四水合物(99%, Reagent grade)	500g
ST1591-50g	乙酸钾(≥99.0%, Reagent grade)	50g
ST1591-250g	乙酸钾(≥99.0%, Reagent grade)	250g
ST1591-1kg	乙酸钾(≥99.0%, Reagent grade)	1kg

Version 2024.01.16