

DNA Topoisomerase I

Code No. 2240A

包装量: 100 U
浓度: 20 U/μl

附带试剂:

10X DNA Topoisomerase I Buffer 1 ml
0.1% BSA 1 ml

制品说明:

DNA Topoisomerase I催化4种反应³⁾:

1. 使环状超螺旋分子的超螺旋解开。
 2. 在单链、环状DNA分子内形成绳结 (Knotting) 和解开绳结 (Unknotting)。
 3. 催化具有互补碱基序列的环状单链DNA形成双链闭环状DNA分子。
 4. 2个环状双链DNA分子之中的一个存在DNA链的切口时,发生两个分子的连结反应 (Catenation) 或者逆反应 (Decatenation)。
- 本酶由于来源于小牛胸腺,与来源于原核生物的酶性质不同,即使在Mg²⁺不存在的条件下也显示活性。而且,原核生物由来的DNA Topoisomerase I只作用负链的超螺旋分子,而本酶则能使正负两方的超螺旋分子均形成松散型。

酶贮存溶液:

20 mM	Potassium Phosphate(pH7.2)
50 mM	KCl
0.05 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.02%	BSA
50%	Glycerol

保存: -20°C

起源:

Calf thymus^{1,2)}。

活性定义:

在37°C、30分钟内把0.5 μg/50 μl的超螺旋pBR322 DNA完全转换成松散型的酶的活性定义为1 unit。

活性定义反应液:

35 mM	Tris-HCl,pH8.0
72 mM	KCl
5 mM	MgCl ₂
5 mM	DTT
5 mM	spermidine
0.01%	BSA

0.5 μg/50 μl supercoiled pBR322 DNA

质量控制:

请查阅各批次 Certificates of Analysis (CoA)。产品 CoA 请在 Takara Bio Inc.网站中下载:
https://catalog.takara-bio.co.jp/search/doc_index.php。

使用注意:

pBR322 DNA 和 φ X174 DNA 的 RF I (超螺旋分子) 用 DNA Topoisomerase I 处理后电泳, 胶中含溴乙锭 (EtBr) 时, 反应前后 DNA 条带的位置不发生变化。这是因为由 DNA Topoisomerase I 作用而转换为松散型的 DNA 受 EtBr 的影响, 再次变为超螺旋状态。因此, 使用 Topoisomerase I 反应后, 一般使用不含 EtBr 的琼脂糖凝胶电泳, 电泳终了后再用 EtBr 染色。

添附Buffer组成 (保存: -20°C) :

1. 10X DNA Topoisomerase I Buffer
350 mM Tris-HCl(pH8.0)
720 mM KCl
50 mM MgCl₂
50 mM DTT
50 mM spermidine
2. 0.1% BSA

本buffer含有超螺旋分子解旋实验的主要成分,与活性定义所用buffer含有相同成分。

如果在10X 添附Buffer中直接加入0.1%小牛血清白蛋白溶液,会产生大量的白色沉淀。因此,在反应液调制时需按以下顺序添加试剂:
灭菌水 → 10X 反应缓冲液 → 0.1% BSA → 底物DNA

使用例:

pBR322 DNA RFI	0.5 μg
DNA Topoisomerase I Buffer	2 μl
DNA Topoisomerase I	1 U
0.1% BSA	2 μl
灭菌水	up to 20 μl

↓
37°C反应 30 分钟。

超螺旋 pBR322 DNA 转变为松散型。

参考文献:

- 1) Ferro A M, Higgins N P, and Olivera B M. *J Biol Chem.* (1983) **258**: 6000-6003.
- 2) Ferro A M and Olivera B M. *J Biol Chem.* (1984) **259**: 547-554.
- 3) Yaginuma K and Koike K. *Protein, Nucleic Acid and Enzyme.* (1983)**28**: 298-305 (in Japanese).

注意

本产品仅供科学研究使用,不能用于人、动物的医疗或诊断程序,不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准,不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品,或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。如果您需要其他用途的许可授权,请联络我们,或访问我们网站 www.takarabio.com。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术(北京)有限公司翻译制作,最新版本文件请参考 Takara Bio Inc.网站。为正确使用 Takara 产品,您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

v202107Da