

牛痘病毒-拓扑异构酶

Topoisomerase I from vaccinia virus

Cat. No.: C5013 Size: 500pmol Store at: -20°C



描述: 该 Topoisomerase I 来源于牛痘病毒 (vaccinia virus), 通过基因重组方案制备纯化。其能解旋 DNA 的超螺旋结构, 除此外其能识别并切割双链 DNA 末端 [5'C(T)CCTT ↓], 并且与 DNA 形成共价连接形成稳定复合物。该共价复合物遇到 DNA 的 5'-OH 基团后, 重新连接形成完整 DNA 链。因此, 使用该酶可作为 DNA 连接的有效工具, 可用于 DNA 的载体连接 (TOPO 克隆载体制备)、接头连接 (NGS 建库) 等实验。

组分

名称	500pmol
Vaccinia TOPO (5pmol/μl)	100 μl
10xTOPO Buffer	1 ml
2 M NaCl	1 ml

应用

- DNA-载体连接
- 接头连接

储存: -20°C 可保存 3 年。

TOPO 酶保存液: 20mM Tris-HCl, pH7.8, 150mM NaCl, 0.1% Tween20, 50%甘油。

反应实例 1 (质粒解旋)

10xTOPO Buffer	2.5 μl
超螺旋质粒 DNA	1-20 μg
Vaccinia TOPO (5pmol/μl)	1 μl
ddH ₂ O	Up to 25 μl

37°C 孵育 5-15min。

反应实例 2 (接头连接)

10xTOPO Buffer	2.5 μl
2 M NaCl	2.5 μl
接头 A(含 CCCTT)	5-100 pmol
接头 B(含 5'OH)	5-100 pmol
Vaccinia TOPO (5pmol/μl)	1 μl
ddH ₂ O	Up to 25 ul

37°C 孵育 5-15min。

注意: (1) 双链接头 A 通常 5'做 NH₂ 封闭修饰, 以防止自连接; 接头 A 的 CCCTT 后通常包含 5-12bp 尾巴, 再长的尾巴会导致连接效率大幅下降;

(2) 双链接头 B 的 5'端必须包含-OH。

(3) 由于该酶应用广泛, 在不同的实验中使用策略不同, 需要灵活运用。该类实验请根据文献 (PMID: 9153307) 进行调整。