

DNA Topoisomerase I

Code No. 2240A **Size:** **100 U**
Conc.: **20 U/ μ l**

Supplied Reagents:

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

Description :

This enzyme has the following four activities³⁾ :

- (1) It relaxes the supercoil of supercoiled circular molecules.
 - (2) It produces knots in single-stranded, circular DNA (knotting), and unwinds knots as well (unknotting).
 - (3) It forms a double-stranded, closed circular DNA from two single-stranded circular DNAs that are complementary to each other.
 - (4) It joins two molecules when a nick exists in one of two double-stranded circular DNAs (catenation), and separates them as well (decatenation).
- The enzyme is obtained from calf thymus, and is active without Mg^{2+} , unlike enzymes from prokaryotes. Prokaryotic DNA topoisomerase I acts only on negatively supercoiled molecules in reaction 1, but this enzyme can relax both positively and negatively supercoiled molecules.

Storage Buffer :

20 mM	Potassium Phosphate (pH 7.2)
50 mM	KCl
0.05 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.02 %	BSA
50 %	Glycerol

Storage: -20°C

Source : Calf thymus^{1,2)}

Unit definition :

One unit is the amount of the enzyme that completely relaxes 0.5 μ g of supercoiled pBR322 DNA in 50 μ l of the reaction mixture for 30 minutes at 37 °C.

Reaction mixture for unit definition :

35 mM	Tris-HCl, pH 8.0
72 mM	KCl
5 mM	MgCl ₂
5 mM	DTT
5 mM	spermidine
0.01%	bovine serum albumin
0.5 μ g/50 μ l	supercoiled pBR322 DNA

Quality Control Data :

Please see the Certificate of Analysis (CoA) for each lot. You can download the CoA on Takara Bio website.

Note :

When supercoiled molecules such as pBR322 DNA or ϕ X174 DNA RF I are treated with DNA Topoisomerase and are analyzed with electrophoresis on an agarose gel that contains EtBr, no change in the position of the bands occurs with the enzyme treatment. This is because DNA, which is converted to the relaxed form by DNA Topoisomerase I, resumes its supercoiled configuration when treated with EtBr. Thus, when the activity of DNA Topoisomerase I is to be measured, we recommend that electrophoresis be done with an agarose gel that does not contain EtBr, and then staining with EtBr be done afterwards.

Composition of Supplied Reagents (Store at -20 °C) :

1. 10X DNA Topoisomerase I Buffer
350 mM Tris-HCl (pH 8.0)
720 mM KCl
50 mM MgCl₂
50 mM DTT
50 mM spermidine
2. 0.1% BSA

The supplied buffer has the general composition to be applicable to the reactions to relax the supercoil of supercoiled circular molecules. The supplied buffer gives the same composition as that of used for unit definition. White precipitate may be generated when adding 0.1% BSA directly to the supplied buffer. Prepare the reaction mixture (final conc. 0.01% BSA) by adding the reagents in the order given below. Sterile purified water → Supplied buffer → 0.1% BSA → Substrate DNA

Application example :

pBR322 DNA RFI	0.5 μ g
DNA Topoisomerase I	1 U
10X DNA Topoisomerase I Buffer	2 μ l
0.1% BSA	2 μ l
Sterile purified water	up to 20 μ l

↓
37 °C for 30 min

The supercoiled pBR322 DNA becomes relaxed.

References :

- 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).

Note

This product is for research use only. It is not intended for use in therapeutic or diagnostic procedures for humans or animals. Also, do not use this product as food, cosmetic, or household item, etc. Takara products may not be resold or transferred, modified for resale or transfer, or used to manufacture commercial products without written approval from Takara Bio Inc. If you require licenses for other use, please contact us by phone at +81 77 565 6973 or from our website at www.takara-bio.com. Your use of this product is also subject to compliance with any applicable licensing requirements described on the product web page. It is your responsibility to review, understand and adhere to any restrictions imposed by such statements. All trademarks are the property of their respective owners. Certain trademarks may not be registered in all jurisdictions.

DNA Topoisomerase I

Code No. 2240A 容量： 100 U
濃度： 20 U/ μ l

添付試薬：

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

●製品説明

DNA Topoisomerase Iは、次に示す4種の反応を触媒する酵素である。³⁾

1. 環状のスーパーコイル分子のスーパーコイル状態を解消させる。
2. 一本鎖の環状DNA分子内に、DNA鎖の結び目を作ったり (knotting)、それをほどいたりする (unknotting) 作用がある。
3. 互いに相補的な塩基配列を持つ環状一本鎖DNAから、二本鎖の閉環状DNA分子を形成する反応を行う。
4. 2つの環状二本鎖DNA分子のどちらかの分子にDNA鎖の切れ目が存在する場合、2つの分子の連結反応 (catenation)、あるいはその逆の反応 (decatenation) を起こす。

本酵素は、仔牛胸線由来のため、原核生物由来のものとは性質が異なり、 Mg^{2+} 非存在下でも活性を示す。また原核生物のDNA Topoisomerase Iが負のスーパーコイル分子にのみ作用するのに対し、本酵素は正、負両方のスーパーコイル分子を巻き戻すことができる。

●形状

20 mM	リン酸カリウム (pH7.2)
50 mM	KCl
0.05 mM	EDTA
1 mM	DTT
0.02 %	BSA
50 %	グリセロール

●保存 - 20℃

●起源 Calf thymus^{1,2)}

●活性の定義

0.5 μ g/50 μ l の supercoiled pBR322 DNA を 37℃ で 30 分間に 100 % relaxed form に転換させる酵素活性を 1U とする。

●活性測定用反応液組成

35 mM	Tris-HCl (pH8.0)
72 mM	KCl
5 mM	MgCl ₂
5 mM	DTT
5 mM	スベルミジン
0.01 %	ウシ血清アルブミン
0.5 μ g/50 μ l	supercoiled pBR322 DNA

●品質管理データ

性能試験結果については、各ロットの Certificate of Analysis (CoA) をご覧ください。CoA はタカラバイオウェブサイトのドキュメントセンターからダウンロードできます。

●使用上の注意

pBR322 DNA や ϕ X174 DNA の RFI (スーパーコイル分子) を、DNA Topoisomerase I で反応させた後、アガロースゲル電気泳動を行うと、ゲル中にエチジウムブロマイド (EtBr) が含まれている場合、反応の前後でバンドの位置に変化がおこらない。これは、DNA Topoisomerase I により relax 型に転換した DNA が、EtBr の影響で再びスーパーコイル状態になってしまうからである。

そのため DNA Topoisomerase I 活性を測定する時は、EtBr を含まないアガロースゲルで電気泳動を行い、泳動終了後 EtBr で染色することが必要である。

●添付試薬組成 (保存：- 20℃)

1. 10 × DNA Topoisomerase I Buffer
350 mM Tris-HCl (pH8.0)
720 mM KCl
50 mM MgCl₂
50 mM DTT
50 mM スベルミジン
2. 0.1% BSA

このバッファー系は、環状のスーパーコイル分子のスーパーコイル状態を回収させる反応において一般的な組成となっており、活性測定系とも同じ組成である。

10 × Buffer に 0.1 % ウシ血清アルブミン溶液を直接加えると多量の白沈が生じるので、反応液を調製する際は次の順番で試薬を加えてください。

滅菌精製水 → 10 × 添付 Buffer → 0.1 % BSA → 基質 DNA

●使用例

pBR322 DNA RFI	0.5 μ g
DNA Topoisomerase I	1 U
10 × DNA Topoisomerase I Buffer	2 μ l
0.1% BSA	2 μ l
滅菌精製水	up to 20 μ l



37℃ にて 30 分反応

スーパーコイル型からリラックス型になる。

●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. 蛋白質核酸酵素 (1983) **28**: 298-305

●注意

本製品は研究用として販売しております。ヒト、動物への医療、臨床診断用には使用しないようご注意ください。また、食品、化粧品、家庭用品等として使用しないでください。
タカラバイオの承認を得ずに製品の再販・譲渡、再販・譲渡のための改変、商用製品の製造に使用することは禁止されています。
ライセンスに関する情報は弊社ウェブカタログをご覧ください。
本データシートに記載されている会社名および商品名などは、各社の商号、または登録済みもしくは未登録の商標であり、これらは各所有者に帰属します。

v201901Da