



## T4 UvsX 重组酶

### 产品简介:

本公司生产的 T4 UvsX 重组酶 T4 UvsX Recombinase(2 $\mu$ g/ $\mu$ L), 也称 T4 UvsX 重组酶, 是通过大肠杆菌表达、纯化获得的一种来源于 T4 噬菌体的重组酶。T4 UvsX Recombinase 属于 E.coli RecA 重组酶家族, 它非特异地与单链 DNA (ssDNA) 结合并在其上进行聚合化而形成螺旋状细丝(helical filaments), 后者可结合于双链 DNA (dsDNA) 并起始链置换反应。由于在 T4 噬菌体感染后期重组复合体启动噬菌体进行 DNA 复制, 因此 UvsX 也与重组依赖的 DNA 修复途径有关。T4 UvsX Recombinase 可用于重组酶聚合酶扩增(Recombinase Polymerase Amplification, RPA)。RPA 技术不需要对模板进行热变性预处理, 可以在恒定的温度下(37-42 $^{\circ}$ C)进行, 扩增时间也较短, 相较于其他的 PCR 技术具有灵敏、快速和特异的优点。RPA 技术可用于开发多种 DNA 和 RNA 病原体的检测方案, 包括 MERS(中东呼吸综合征)、HIV-11、埃博拉病毒以及 COVID-19, 检测下限通常低于 100 个拷贝。越来越多的证据表明, RPA 技术可以作为开发新的诊断工具的一种潜在方法, 具有及时、准确、具体的特点。RPA 反应需要以下组分: 重组酶 T4 UvsX Recombinase, 重组酶载体因子 T4 UvsY Protein, ssDNA 结合蛋白 T4 gp32 Protein, 以及 DNA 聚合酶(如 Bsu DNA Polymerase, Large Fragment)等。引物与模板的结合不需要通过退火来实现, 而是在 UvsY 和 ATP 的帮助下, UvsX 与引物结合形成一种核酸蛋白复合物, 在 dsDNA 中寻找同源序列。一旦被定位到同源序列, 核酸蛋白复合物就会侵入 dsDNA, 形成 D 环结构, 启动链交换反应, 未被结合的链则被 gp32 稳定, 防止引物解离。接下来, DNA 聚合酶从引物的 3' 端延伸出一条互补链, 完成双链的复制, 整个过程循环进行。RPA 反应除了以上核心蛋白还需要 ATP、肌酸激酶(Creatine Kinase)以及磷酸肌酸(Phosphocreatine)等作为能量提供系统。肌酸激酶的作用是 ATP 再生, 它可以将磷酸肌酸和 ADP 转化为肌酸和 ATP。

|                        |          |
|------------------------|----------|
| 来源 (Source)            | 大肠杆菌重组表达 |
| 分子量 (Molecular Weight) | 45kDa    |



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

外观 (Appearance) 无菌液体

酶浓度 (Enzyme Concentration) 2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$

纯度 (Purity) 不含 DNA 内切酶和外切酶, 不含核糖核酸酶。

#### 组分和说明

| Component                   | 100 $\mu\text{g}$ | 500 $\mu\text{g}$   | 2mg                  | Storage                        |
|-----------------------------|-------------------|---------------------|----------------------|--------------------------------|
| T4 UvsX Recombinase(2mg/mL) | 50 $\mu\text{L}$  | 5*50 $\mu\text{L}$  | 20*50 $\mu\text{L}$  | -20°C. Avoid freeze/thaw cycle |
| Storage (Dilution) Buffer   | 200 $\mu\text{L}$ | 5*200 $\mu\text{L}$ | 20*200 $\mu\text{L}$ | -20°C. Avoid freeze/thaw cycle |

#### 产品应用

用于重组酶聚合酶扩增(Recombinase Polymerase Amplification, RPA)。

#### 产品优势

具有灵敏、快速和特异的优点。

#### 使用说明

##### 1.设计引物。

根据用户需要检测的模板设计对应的 RPA 正反向引物, 引物设计一般遵循几项原则:

- 引物长度一般在 30-35bp, GC 含量应在 30%-70%之间;
- 引物的 5'端避免连续的鸟嘌呤(G), 且最好有胞嘧啶(C);
- 引物的 3'端是鸟嘌呤(G)或胞嘧啶(C), 可以提高和模板的结合效率。

##### 2.RPA 体系配制及检测。

a.在冰浴中配制 RPA 反应体系。注: RPA 反应在常温下也可以进行, 配制时需全程冰浴。一旦加入 Magnesium Acetate, RPA 反应就会开始, 因此 Magnesium Acetate 最后加到管壁上, 反应前将 Magnesium Acetate 统一离心到管底, 启动反应。

b.反应条件: 39°C孵育 30 分钟。

c.60°C加热 10 分钟使酶失活。

d.电泳检测。离心数秒, 每管取 4 $\mu\text{l}$  样品, 每个样品中加入 0.8  $\mu\text{l}$  DNA 上样缓冲液(6X), 混匀体系后全部上样, 进行 1.5%琼脂糖凝胶电泳, 160V 电泳 20 分



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

---

钟。也可以在反应体系中添加显色剂或荧光染料进行显色反应或实时荧光检测。

**保存条件:**

-20℃保存，避免反复冻融。

**注意事项:**

- (1) 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。
- (2) 该产品在常温下即可反应，配制反应体系时需全程在冰上操作。
- (3) 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。
- (4) 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。



源叶