

Uracil-DNA Glycosylase (Low Temperature)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: LU201

保存: -20°C保存两年

酶浓度: 1000 units/ml

产品说明

本产品低温UDG (Uracil-DNA Glycosylase, 尿嘧啶-DNA糖基化酶) 是来源于嗜冷海洋细菌经改造后后于大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 表达纯化的重组蛋白。UDG酶能有效地水解单链或双链 DNA 中的尿嘧啶 (dU) 碱基和脱氧核糖之间的N-糖苷键发生水解, 从而释放游离尿嘧啶, 产生缺嘧啶位点, 主要用于消除含dU的PCR产物带来的气溶胶污染。本产品在高温或高pH下, 极易水解断裂。与常规UDG酶相比, 本产品可在较低温度 (20°C) 下起作用, 即常温配制qPCR或者qRT-PCR反应体系时就能对污染的含dU的模板进行降解。该酶对反转录时产生的含dU的cDNA (DNA/RNA杂交形式) 没有降解功能。本产品在大多数PCR反应缓冲液中都有很高的活性, 适用于PCR/qPCR、RT-PCR/qRT-PCR、LAMP/RT-LAMP。

产品用途

去除单链或双链DNA尿嘧啶碱基; 去除含dU的PCR产物气溶胶污染, 提高反应特异性。

产品组成信息

Component	LU201-01	LU201-02
Uracil-DNA Glycosylase (Low Temperature)	100 units	500 units

酶活定义

一单位 (Unit) Uracil-DNA Glycosylase (Low Temperature)指每分钟催化60 pmol尿嘧啶从含有尿嘧啶的dsDNA中释放所需要的酶量。检测条件: 在50 μ l标准Taq反应缓冲液中, 30分钟从含0.2 μ g DNA ($10^4 \sim 10^5$ cpm/ μ g) 的反应体系中释放 3 H-尿嘧啶所需的酶量。

酶保存液

20 mM Tris-HCl (pH 7.5@25°C), 50 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1% (w/v) Triton X-100, 50% Glycerol。

反应体系

本产品UDG与绝大多数PCR反应缓冲液都是兼容的, 但在高离子浓度(>100 mM)下活性会受到抑制。首次使用时建议先测试该酶是否与使用的体系兼容。

操作流程

1、按照下表配制PCR反应体系(以50 μ l标准Taq反应体系为例)

Component	Volume	Final Concentration
DNA Template	Variable	Variable
F/R Primers (10 μ M)	2 μ l each	0.4 μ M each
10 $\times$ Taq Buffer (with MgCl ₂)	5 μ l	1 $\times$
dA/G/CTP (10 mM each)	1 μ l each	0.2 mM each
dUTP	Variable	0.2~0.6 mM
UDG (Low Temperature) (1 U/ μ l)	Variable*	-
Taq DNA Polymerase (5 U/ μ l)	0.5 μ l	2.5 U
Nuclease-free Water	To 50 μ l	-
Total Volume	50 μ l	-



*: 根据实验需要, dUTP终浓度可在0.2~0.6 mM之间调整, MgCl₂终浓度可在2~3 mM之间调整, UDG酶的建议使用量一般为0.1 U~1 U/50 μl反应体系。

2、反应程序*

反应温度	时间	循环数	目的
25°C	2 min	/	降解含U模板
94°C	5 min	/	失活UDG酶, 变性模板
94°C	30 sec	30~35 cycles	PCR扩增
50-60°C	30 sec		
72°C	30 sec/kb		
72°C	10 min		彻底延伸

[注]*: 可根据实验需要调整PCR反应程序。对于qPCR,在常温下配制体系, 无须25°C再次孵育,可按正常反应程序执行。

注意事项

- 本产品UDG酶在大多数PCR或RT-PCR体系中均具有活性, 但首次使用时建议先测试一下是否和所使用的体系兼容: 通常取含dUTP的扩增产物, 加入适量的UDG酶(可设置酶量梯度, 如0 U、0.125 U、0.25 U、0.5 U), 在25°C孵育后观察能否有效降解模板。
- 本产品UDG酶可在PCR反应前清除不慎污染的含dU产物, 从而有效避免dU气溶胶污染导致的假阳性, 但对正常的不含dUTP的DNA或者DNA/RNA杂交链中含的dU没有活性。

常见问题&解决方案

1、UDG酶对哪些类型的核酸有活性?

本产品UDG酶可水解含dU的双链及单链DNA, 但不能水解RNA、不含dU的DNA, 以及dU长度不超过6个碱基的DNA寡聚体。

2、UDG酶降解含dU模板的反应条件一定是25°C吗?

本产品UDG酶可在室温下起作用, 孵育时间可在25~50°C范围内调整。在室温配制体系时间较长的情况下, 可不必额外设置孵育步骤直接进入PCR扩增程序, 因为室温配体系过程中已将污染物降解。

3、UDG酶的建议使用方法及用量是多少?

本产品在大多数PCR反应缓冲液中都有很高的活性, 在配制体系过程中加入UDG酶至终浓度为0.02 U/μl, 即50 μl反应体系中加入1 U。但根据实验需要, 具体用量可做调整。

4、UDG酶能否用于RT-PCR/qRT-PCR或LAMP实验?

可以。本产品UDG酶相比常规UDG酶, 对DNA/RNA杂交链中含的dUTP没有活性, 因此不会降解新合成的含dU产物。

质量控制

项目	标准
产品外观	无色透明
分子量	24.6 kDa
纯度	≥95% (SDS-PAGE)
酶浓度	1 U/μl
核酸外切酶活性	未检出
核酸内切酶活性	未检出
RNase活性	未检出
非特异性核酸酶活性	未检出

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1-202209

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

