

Ec Uracil DNA glycosylase (EcUDG) 目录号: AE1101

使用前请仔细阅读说明书

产品说明

尿嘧啶 DNA 糖苷酶(Uracil N-Glycosylase, UNG)又名 Uracil-DNA Glycosylase (UDG), 为来源于 *E. coli ung* 基因的重组表达蛋白, 分子量为 26kDa。它可催化含尿嘧啶的单链和双链 DNA (长度大于 6 个碱基) 释放游离尿嘧啶, 但对 RNA 无活性。UNG 主要应用于 PCR 扩增产物的防污染, 作用原理为: 如果在 PCR 反应中以 dUTP 替代 dTTP 掺入 DNA 中, 形成了含 dU 碱基的 PCR 扩增产物, 该酶能选择性断裂单链和双链 DNA 中 U 基的糖苷键, 降解该 PCR 扩增产物。

由于大肠杆菌 UDG 经高温失活, 降温到低温后, 活性会部分恢复; 因此不建议将本酶用于**防止 PCR 扩增产物的交叉污染**。建议利用本公司的热敏 UDG (目录号 AE1102) 进行**防止 PCR 扩增产物的交叉污染**。

本公司 Ec UDG 是重组表达, 并经多步纯化制备的重组蛋白。

单位定义

一个活性单位为每分钟从含有尿嘧啶的双链 DNA (dU/dA 碱基对) 中催化释放 60 pmol 尿嘧啶所需酶的量。

活性测定条件

Taq PCR Buffer: 10 mM Tris-HCl (pH 8.3, 25°C), 20 mM KCl, 10 mM (NH₄)₂SO₄, 0.01% Tween 20, 1.5 mM MgCl₂ 中, 37°C 温育。

浓度: 5U/μl

保存条件: -20°C 可保存 2 年, 避免反复冻融。

特点

- 活性测定 buffer 为 Taq 酶 Buffer, 与多种反应 buffer 兼容
- 虽然本酶高温热处理会失活, 但降至低温后活性会部分恢复
- 不建议本酶用于防止 PCR 扩增产物的交叉污染。

应用

- 去除单链或双链 DNA 中的尿嘧啶碱基
- 去除以前累积的 PCR 扩增的 dU-DNA 残存污染

产品包装规格及组成

Component	AE1101A	AE1101B
EcUDG	200U	1kU
10×UDG Buffer	0.2ml	1.0ml

质量控制

经过严格的质控检测, 确保该产品具有最高的活性和纯度。

酶保存液

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

注意事项

- Ec UDG 具有较强的耐热性, 95°C 保温 10 分钟可以失活 95% 酶活, 但温度降低至常温, 该酶会回复大部分活性。因此建议使用本公司的热敏 UDG 酶, 或者酚氯仿抽提去除 EcUDG。
- UDG 切割含 dU 碱基的 ssDNA 活性最高, 大概是 dU/dA 双链 DNA 的 5-10 倍, 各种底物的活性顺序为: dU/dA < dU/dG < dU/dC ≈ dU/dT < ssDNA。
- 常温下可以用 UDG 抑制剂蛋白来抑制 UDG 的酶活性, 但 UDG 抑制剂不耐高温, 高温处理会失活 UDG 抑制剂, 导致其不再抑制 UDG 的活性。

- UDG 在较宽 pH 范围均有活性，最优 pH 8.0，不需二价阳离子，高于 200 mM NaCl 抑制活性。
- 大肠杆菌 UDG 酶的反应温度可以在 37-50℃ 的范围内变化，建议在 37℃ 反应，也可根据实验需要在 37-50℃ 范围内自由调整反应温度。
- UDG 可以在 PCR 反应前清除不慎污染的 **U-DNA** 分子，对于某个 DNA 片段的 PCR 扩增反应，整个操作室必须在所有操作批次的 PCR 反应中添加 dUTP，使所有扩增产物都成为 **U-DNA**。如果仅某次 PCR 扩增反应使用 dUTP，**T-DNA** 仍积累，这个抗污染系统也难以起到完全的作用。
- UDG/dUTP 系统是 PCR 试剂专用的一种防污染措施，为了防止 PCR 产物的污染，尤其是在临检实验室中反复扩增同一片段时，必须严格规范实验室的区域划分和操作。
- 如果经过换房间、紫外照射、DNase 消化等措施后，依然对某个片段存在污染，建议在不同的扩增区重新设计引物，以错开污染片段。

相关产品

AE0101: Taq DNA Polymerase, AE1102 Thermolabile Uracil DNA glycosylase

应用举例

防止 PCR 产物污染的使用方法

1. 按如下表格配制 PCR 反应液

PCR 组份	体积/ μ l	终浓度
10 $\times$ Taq 酶 Buffer	5	1 $\times$
dNTPs (2.0 mM)	5	0.2 mM
dUTP (2.0 mM)	1-5	0.04-0.2 mM
引物 F (10 μ M)	1.5	0.3 μ M
引物 R (10 μ M)	1.5	0.3 μ M
Template	1-5	/
热启动 Taq 聚合酶 (5U/ μ l)	0.5	2.5U
UDG (5U/ μ l)	0.5	2.5U
ddH ₂ O	Variable	/
总体积	50	/

2. 37℃ 下反应 10 分钟，消除可能的 dU-DNA 污染物。

3. PCR 反应。

警告：本产品仅限科研实验使用，临床应用安全性和有效性未鉴定，不可用于医疗临床诊断