产品说明

耐热 UDG 水解 DNA 链中的尿嘧啶碱基和脱氧核糖之间的 N-糖苷键，释放游离尿嘧啶。本酶可作用于含有 dU 的单链或双链 DNA，对 RNA 无活性。本酶来源于嗜热微生物，在高温下具有更高酶活性。

PCR反应的高温，特别是变性和延伸反应阶段，会导致dCTP脱氨基生成dUTP，dUTP被聚合酶掺入DNA中形成dU；同时高温还会使DNA中的dC碱基脱氨基生成dU碱基。这些DNA中的dU碱基会抑制DNA高忠实性DNA聚合酶（例如Pfu DNA聚合酶）的活性。因此消除DNA中的dU碱基能够促进高忠实性DNA聚合酶的扩增产量。本公司的高温UDG酶，能够耐受95℃高温，95℃半衰期超过1小时。因此该高温UDG使提高高忠实性DNA聚合酶（例如Pfu DNA聚合酶）扩增产量的良好促进剂。

本公司高温 UDG 是重组表达，并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

在65℃条件下每分钟从含尿嘧啶双链 DNA (dU/dA) 上催化释放 60 pmole尿嘧啶所需要的酶量，定义为1 个活性单位

活性测定条件

Pfu PCR Buffer: 20 mM Tris-HCl (pH 8.8 at 25°C), 10 mM (NH₄)₂SO₄, 10 mM KCl, 0.1 mg/mL BSA, 0.1% (v/v) Triton X-100, 2 mM MgSO₄, 65℃温育。

浓度: 2U/ul

保存条件: -20℃

特点

- 热稳定，50-90℃高温下仍具有酶活性；
- 在多种 PCR酶buffer中具有活性。

应用范围

- 消除DNA中高温产生的dU碱基，改善高保真聚合酶扩增性能。
- 其它需要高温下去除dU的实验操作

产品包装规格及组成

Component	AE1103A	AE1103B
高温UDG	200U	1000U
10×UDG Buffer	0.5 ml	1.5 ml

质量控制

无内切酶和外切酶活性: 50 U 的本酶和1 μg的pBR322 DNA 在37℃下反应 2 小时，DNA 的电泳谱带不发生变化。

酶贮存缓冲液

20mM Tris-HCl (pH7.5), 100mM NaCl, 1mM EDTA, 1mM DTT, 0.05% Tween20, 50% glycerol。

注意事项

- 耐热UDG酶的反应温度可以在 40°C-95°C 的范围内变化，建议在 50-70°C 反应。
- 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。
- 长期储存 (非频繁使用; 每月 1-2次): -70°C; 每天或每周使用: -20°C。尽量避免多次冻融，切勿暴露在温度波动较大之处。温度波动对产品的稳定性有极大影响。
- 在用于Pfu DNA聚合酶等高忠实性DNA聚合酶的PCR反应时，可以于高温内切核酸酶IV共同使用，进一步提高DNA扩增产量和扩增忠实性。本公司有售超耐热内切核酸酶IV（目录编号 AE1145）。

相关产品

AE1145: 耐热核酸内切酶 IV

应用举例

改善PCR扩增效果的使用方法

1. 按如下表格配制PCR反应液

PCR 组份	体积/ μ l	终浓度
10×Pfu酶Buffer	5	1×
dNTPs (2.0 mM)	5	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	/
Pfu DNA聚合酶 (2U/ μ l)	0.5	1U
耐热UDG (2U/ μ l)	1.0	2U
ddH2O	Variable	/
总体积	50	/

2. PCR反应。

3. 电泳检测PCR扩增结果。

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。