

产品说明

UDG酶可催化水解含有尿嘧啶的 DNA链的尿嘧啶碱基和核糖磷酸骨架间的N-糖苷键,释放游离尿嘧啶。本尿嘧啶 DNA糖苷酶(UDG)来源于海洋低温细菌*udg*基因,经重组表达与多步蛋白纯化而得。该酶分子量为 25KDa,催化含尿嘧啶的单链和双链 DNA释放游离尿嘧啶,对 RNA无活性。

UDG酶常用于防止 PCR扩增产物的交叉污染,其作用原理基于: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,UDG能选择性断裂单链和双链 DNA 中 U碱基的糖苷键,降解 PCR扩增产物,消除上轮扩增产物对新样本的污染问题。

本公司的热敏 UDG 2.0来源于嗜冷细菌,在15-30度均具有较高活性,在37-40度失活,比本公司的热敏UDG(目录编号AE1102)更加热敏,非常适合用于防止 PCR扩增产物的交叉污染。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;因此不建议利用大肠杆菌UDG酶进行防止 PCR扩增产物的交叉污染。

本公司热敏 UDG2.0 是重组表达,并经多步纯化制备的重组蛋白。

活性定义

20℃反应条件下,每分钟催化 60 pmole尿嘧啶碱基从含尿嘧啶的双链 DNA (dU/dA) 上释放所需要的酶量为1 U。

活性测定条件

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

浓度: 1U/μl

保存条件: -20℃保存

特点:

- 10-30度均具有较高活性;
- 在35度开始失活,40度处理10分钟失活90%, 40℃处理15分钟,完全不可逆失活。
- 非常适合用于防止PCR扩增产物的交叉污染
- 本酶的反应体系与 Taq DNA聚合酶 buffer相同,保证了活性体系的一致性。

适用范围

- 防止PCR扩增产物的交叉污染的极佳优选酶。

产品包装规格及组成

Component	AE1114A	AE1114B
UDG	200U	1000U
10×UDG Buffer	0.3 ml	1.5 ml

质量控制

无内切酶活性: 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, 1mMEDTA, 1mMDTT, 0.05% Tween20, 50% glycerol。

注意事项

1. 本公司热敏UDG2.0酶的反应温度可以在 20℃—30℃ 的范围内变化，建议在 20-25度反应。
2. 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。
3. 长期储存（非频繁使用；每月 1-2次）：-70℃；每天或每周使用：-20℃。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。
4. 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。
5. 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。
6. 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

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/μl	终浓度
10×Taq 酶 Buffer	5	1×
dNTPs (2.0 mM)	5	0.2 mM
dUTP (2.0 mM)	1-5	0.04-0.2 mM
引物F (10 μM)	1.5	0.3 μM
引物R (10 μM)	1.5	0.3 μM
Template	1-5	/
热启动 Taq 聚合酶 (5U/μl)	0.5	2.5U
热敏UDG2.0 (1U/μl)	1	1U
ddH2O	Variable	/
总体积	50	/

2. 20-25℃下反应10分钟。

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。