

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2
		100 U	500 U
Heat-labile UDG (1,000 U/mL)	RM20530	100 μ L	500 μ L

产品说明

Heat-labile UDG 来源于嗜冷海洋细菌(*Psychrophilic marine bacterium*)。Heat-labile UDG 可催化含尿嘧啶(U)的 DNA 释放游离的尿嘧啶,对 RNA 无活性。UDG 能有效水解单链或双链 DNA 中的尿嘧啶,但不能水解低聚体(小于 6 bp 的寡脱氧核苷酸)中的尿嘧啶。主要用于防止 PCR 扩增产物的污染,其作用原理是在 PCR 反应中以 dUTP 替代 dTTP 掺入到 DNA 中形成含 dU 碱基的 PCR 扩增产物,在此扩增的 DNA 产物中,dU 碱基的糖苷键被 UDG 作用而断裂,使 DNA 链在失去 dU 碱基处极不稳定,在随后的加热步骤中被降解,同时 UDG 酶失活。本品对高温敏感,50°C 以上就可以使酶发生不可逆失活,适用于 PCR、qPCR、RT-PCR、RT-qPCR 体系。

产品来源

Psychrophilic marine bacterium 来源的 Heat-labile UDG 在大肠杆菌中表达并分离纯化得到。

活性定义

1 活性单位(U)指在 70 mM Tris-HCl, pH 7.5, 10 mM NaCl, 1 mM EDTA, 100 μ g/mL BSA 的反应液中,37°C 1 hr 内使 1 nmol 的尿嘧啶从含 dU 的 DNA 上释放所需要的酶量。

保存温度

-20°C

酶存储液

20 mM Tris-HCl, 100 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, 0.5% CA630, 0.5% Tween20, pH 7.5 @ 25°C

热失活: 95°C, 2 min

操作说明

在 0.1 μ g 含尿嘧啶的 DNA 中加入 1 U Heat-labile UDG 酶于 25°C 反应 10 min, 能使该 DNA 不被 DNA 聚合酶所扩增, Heat-labile UDG 酶在 95°C 孵育 2 min 后, 酶的活性全部丧失。

配制 PCR 反应液 (以 50 μ L 为例)

组分	加入量
ddH ₂ O	To 50 μ L
10X PCR Reaction Buffer, Mg ²⁺ plus	5 μ L
dUTP*	0.6 mM
dATP/dCTP/dGTP	0.2 mM each
Template DNA	optional
Primer1 (10 μ M)	2 μ L
Primer2 (10 μ M)	2 μ L
Taq DNA Polymerase (5,000 U/mL)	0.5 μ L
Heat-labile UDG (1,000 U/mL) **	1 μ L

*, 注: 根据实验需要, dUTP 终浓度可在 0.2 - 0.6 mM 之间调整。

** , 注: 根据实验需要, 在 50 μ L 反应体系中 UDG 酶的使用量一般为 0.1 - 1 U。

注: 根据实验需要, MgCl₂ 终浓度可在 2 - 3 mM 之间调整。

推荐的反应程序

温度	时间	备注
UDG 反应		
25°C	10 min	降解含 U 模板
95°C	2 min	UDG 失活, 模板变性
PCR 反应		
94°C	30 s	
55°C	30 s	30 - 35 cycles
72°C	60 s/kb	
72°C	7 min	彻底延伸

注: 可根据实验需要和所用 Taq DNA 聚合酶的性质调整 PCR 反应程序。

注意事项

Heat-labile UDG 酶活性在 pH 8.0 时达到最优值, 不需要二价阳离子, 在高离子强度(> 200 mM)环境下 UDG 酶活性会受到抑制。