

# Uracil-DNA Glycosylase (UDG 酶)

**E204**

## 产品简介

Uracil-DNA Glycosylase (UDG/UNG) 来源于大肠杆菌重组克隆表达, 该酶分子量为 25 Kda。UDG 酶能够催化含尿嘧啶的单链和双链 DNA 释放游离尿嘧啶, 它对 RNA 无活性。主要应用于 PCR 扩增产物的防污染。它的作用原理基于: 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, Uracil-DNA Glycosylase 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。

## 产品组成

组 分	E204
UDG (1 U/ $\mu$ l)	500 $\mu$ l

## 储存条件

-20°C保存, 于-20 ~ 0°C运输。▲避免反复冻融。

## 单位定义

37°C 1 小时内使 1nmol 的尿嘧啶从含 dU 的 DNA 上释放所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

## 质量控制

核酸外切酶残留检测: 20 U 本品和 0.6  $\mu$ g  $\lambda$ -Hind III 在 74°C下孵育 1 小时, DNA 的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测: 20  $\mu$ l 反应体系, 10 U 本品和 1  $\mu$ g  $\lambda$ DNA, 37°C温育 4 h, DNA 的电泳谱带无变化。

RNase 残留检测: 20U 本品和 1  $\mu$ g HeLa 细胞总 RNA 在 37°C下孵育 30min, RNA 的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌残留 DNA 残留检测: 50  $\mu$ l 体系中, 以 ddH<sub>2</sub>O 为模板, 扩增 *E. coli* 16 s rDNA 基因。30 个循环后进行 1%琼脂糖凝胶电泳, 染色, 无扩增条带。

## 实验流程

### 反应体系：

ddH <sub>2</sub> O	To 50 µl
5 × ATGStart <sup>®</sup> Buffer (Mg <sup>2+</sup> plus)	10 µl
dUTP	0.2 - 0.6 mM
dATP/dCTP/dGTP	0.2 mM each
Template DNA	optional
Primer1 (10 µM)	2 µl
Primer2 (10 µM)	2 µl
ATGStart <sup>®</sup> Taq DNA Polymerase (2.5 U/ul)	1 µl
UDG (1 U/µl)	1 µl

\*根据实验需要，MgCl<sub>2</sub>终浓度可在 2 - 3 mM 之间调整。

### 反应程序：

37 °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 sec	
55 °C	30 sec	30 - 35 cycles
72 °C	60 sec/kb	
72 °C	10 min	彻底延伸

## 注意事项

1. 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。
2. UDG 可以在 PCR 反应前先清除不慎污染的 U-DNA 分子，一个实验室必须在所有的 PCR 反应中使用 dUTP 作为 dNTPs 之一，使所有扩增产物都成为 U-DNA。如单使用于某个检测，T-DNA 仍会积累，该抗污染系统也难以起到完全的作用。
3. UDG/dUTP 系统是 PCR 试剂内部的一种防污染措施，为了防止 PCR 产物的污染，尤其是在临检实验室中反复放大同一片段时，必须严格规范实验室的分划和操作。
4. 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，建议重新设计引物（在不同的扩增区），以错开污染片段。
5. UDG 酶的反应温度可以在 37°C-50°C 的范围内变化，根据实验的需要可以自由调整。