

# Heat-labile Uracil-DNA Glycosylase

**E205**

## 产品简介

Heat-labile Uracil-DNA Glycosylase（热敏型 UDG 酶）来源于大肠杆菌重组克隆表达，UDG（尿嘧啶 DNA 糖基酶）可催化水解含有 dU 的 DNA 单链或双链的尿嘧啶碱基和糖磷酸骨架的 N-糖苷键，释放游离尿嘧啶，由此产生的无碱基位点很容易被水解断裂。本品对高温敏感，55°C 10 min 就可以使酶不可逆失活，适用于 PCR/qPCR、RT-PCR/RT-qPCR 体系。

## 产品组成

组 分	E205
Heat-labile UDG (1 U/μl)	100 μl

## 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 μg λ-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 μl 反应体系，10 U 本品和 1 μg λDNA，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 μg 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 μl 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。