

尿嘧啶 DNA 糖苷酶 (Uracil-DNA Glycosylase)

产品介绍

尿嘧啶 DNA 糖苷酶 (UNG、UDG) 来源于大肠杆菌重组克隆表达, 分子量为 25kDa, 可催化含尿嘧啶的单链和双链 DNA 释放游离尿嘧啶。UNG 酶对 RNA 无活性, 主要应用于 PCR 扩增产物的防污染。其作用原理基于: 如果在 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, 该酶能选择性断裂单链和双链 DNA 中 U 碱基的糖苷键, 降解该 PCR 扩增产物。

规格

1U/ μ l

储存缓冲液

20mM Tris-HCl, 150mM NaCl, 1mM EDTA, 1mM DTT, 0.05% Tween20, 50% glycerol, pH8.0.

试剂组成

1、UNG 1U/ μ l

2、10×Reaction Buffer:

200mM Tris-HCl (pH8.0, 25°C), 100mM NaCl, 10mM EDTA, 1mg/ml BSA.

活性定义

37°C 条件下, 1 小时降解 1 μ g 含 dU 碱基的单链 DNA 的酶量为 1 单位。

保存条件

每天或每周使用保存于 -20°C。长期储存可保存于 -70°C, 但必须严格避免 -70°C 保存时的反复冻融。

质量控制

- 1、SDS-PAGE 电泳纯度大于 98%;
- 2、降解活性、批间差异、稳定性;

3、1U UNG 在 37°C 处理 3 分钟后, 10³ 拷贝以下含 U 模版应完全降解, 不能产生扩增产物;

4、无外源核酸酶活性, 无外源内切、外切核酸酶污染。

反应条件

| Component | Volume per Reaction (μ l) | Concentration in Master Mix |
|---|--------------------------------|----------------------------------|
| Template | * | < 1 μ g/reaction |
| Primer 1 | 1~5 | 0.2~1.0 μ M |
| Primer 2 | 1~5 | 0.2~1.0 μ M |
| d NTPs (replace dTTP for 200 μ M~600 μ M dUTP) | 1 | 200 μ M (dATP、 dGTP、dCTP) |
| 10×PCR Buffer | 5 | 1× |
| 25mM MgCl ₂ | 2~8 | 1.0~4.0mM |
| Taq (5U/ μ l) | 0.25 | 1.25U |
| UNG (1U/ μ l) | 0.25 (0.1~0.5) | 0.25U (0.1~0.5U) |
| H ₂ O | * | — |
| Total volume | 50 μ l | |

1、Incubate the product for 2 min at 50°C;

2、Inactivate UNG by heating to 95°C for 5 min.

注意事项

- 1、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。
- 2、UNG 酶可以在 PCR 反应前清除不慎污染的含 dUTP 的 PCR 产物, 从而避免由于污染导致的假阳性结果;
- 3、由于不同待扩增基因对 dUTP 的利用效率和对 UNG 酶的敏感度不同, 因此, 如果采用 UNG 体系导致检测灵敏度下降, 应对反应体系进行调整优化, 如需技术支持请与我公司联系;
- 4、扩增前后要使用专用的区域和移液器, 戴手套操作并经常更换, PCR 反应完成后切勿打开反应管。以最大限度的减少 PCR 产物对样品的污染。