



Uracil-DNA Glycosylase

UDG 酶

产品组成:

组成	AT114-01	AT114-02
Uracil-DNA Glycosylase (5U/μL)	1000U	1000 U×5

储存条件: -20°C保存

产品说明:

Uracil-DNA Glycosylase(UDG 酶)来源于大肠杆菌表达的重组大肠杆菌尿嘧啶-DNA 糖基化酶,可催化含尿嘧啶(U)的 DNA 释放游离的尿嘧啶,对 RNA 无活性。UDG 酶能有效水解单链或双链 DNA 中的尿嘧啶,但不能水解小于 6bp 的寡脱氧核苷酸中的尿嘧啶。UDG 酶主要用于防止或清除 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 DNA 中形成含 dU 碱基的 PCR 扩增产物,此扩增 DNA 产物中 dU 碱基的糖苷键被 UDG 酶切掉生成无尿嘧啶位点,失去 dU 碱基处极不稳定,在随后的加热步骤中 DNA 被断裂降解。

来源: 基因工程大肠杆菌表达的大肠杆菌 UDG 重组酶。

活性单位: 1 活性单位(U)是指在 50 μL 反应体系中,37°C 30 min 内,每分钟从 0.2 μg 含尿嘧啶的 DNA 中释放 60 pmol 尿嘧啶所需的酶量。

质量控制: SDS-PAGE 检测纯度大于 99%,经检测无核酸外切酶,内切酶活性,无核糖核酸酶活性,无细菌基因组 DNA 残留。

应用范围:

- 1.核酸扩增实验中扩增产物污染的预防与清除。
- 2.DNA 中去除尿嘧啶碱基。

储存缓冲液: 10 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 50% Glycerol, pH 7.5 @ 25°C。

使用方法:

1. 以普通 PCR 为例说明 Uracil-DNA Glycosylase 的使用方法。

组分	体积	终浓度
10×Taq Buffer	5 μL	1×
10mM dATP	1 μL	0.2mM
10mM dGTP	1 μL	0.2mM
10mM dCTP	1 μL	0.2mM
10mM dUTP	1 μL	0.2mM
Forward Primer (10μM)	1 μL	0.2μM
Reverse Primer (10μM)	1 μL	0.2μM
Taq DNA polymerase (5 U/μL)	0.5μL	0.05U/μL
Uracil-DNA Glycosylase (5 U/μL)	0.2 μL	
模板	X μL	
ddH ₂ O	补加至 50μL	

dUTP 终浓度可在 0.2 - 0.4 mM 之间调整。

Uracil-DNA Glycosylase 使用量可根据实验调整。

2. 反应程序

Step	Temp	Time	Cycles
降解含 U 模板	37°C	10min	1
UDG 酶失活, 预变性	95°C	2min	1
变性	95°C	30s	30-35
退火	55-60°C	30s	
延伸	72°C	1kb/min	
后延伸	72°C	5min	

具体反应程序根据实验需求调整。

注意事项:

1. dUTP 和 dTTP 可以按比例混合使用, dUTP 对有些 DNA 聚合酶有抑制作用, 通过调整 dUTP 和 dTTP 的比例来消除这种抑制作用。dUTP 使用量的减少会降低 Uracil-DNA Glycosylase 消除含 U 碱基的 DNA 的能力。这种情况下需要进行浓度的调整, 以达到最佳效果。不影响酶活性情况下, 最好是用 dUTP 完全替代 dTTP, 可在 0.2mM-0.4mM 调整 dUTP 终浓度。
2. Uracil-DNA Glycosylase 活性在 pH 8.0 时达到最优值, 不需要二价阳离子, 同时兼容绝大多数的 PCR 聚合酶反应缓冲液, 但在高离子浓度 (>200mM) 下活性会受到抑制。
3. Uracil-DNA Glycosylase 不能完全失活。95°C 热处理后 Uracil-DNA Glycosylase 仍保留部分活性。

BM20220617