

# Thermolabile Uracil-DNA Glycosylase

## 热敏 UDG 酶



### 产品信息：

组成	AT113-01
Thermolabile Uracil-DNA Glycosylase (1U/μL)	1000U
10×Taq Buffer	1ml

**储存条件：** -20°C

### 产品简介：

热敏 UDG 酶 (Thermolabile Uracil-DNA Glycosylase) 通过切割尿嘧啶碱基与糖骨架之间的 N-糖苷键, 从含 dU 的 DNA 中去除尿嘧啶。该切割生成敏感的无嘧啶位点, 在高温和碱性条件下, 脱碱基位点易发生水解, 导致 DNA 链断裂成小片段。该酶对 RNA 和不含有尿嘧啶的 DNA 无作用。热敏 UDG 酶对热敏感, 50°C 以上的温度下可迅速完全失活。通过在核酸扩增预混液中添加热敏 UDG 酶, 能够有效消除扩增产物的片段污染, 防止核酸扩增 (PCR、qPCR、RT-PCR、RT-qPCR 和 LAMP 等等) 假阳性。

**来源：** 基因工程大肠杆菌表达的热敏 UDG 重组酶。

**活性单位：** 一个单位的尿嘧啶 DNA 糖基化酶定义为在 37°C 下 60 分钟内完全降解 1μg 纯化的单链尿嘧啶 DNA 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、核酸内切酶和核糖核酸酶活性, 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

**10×Taq Buffer :** 100 mM Tris-HCl, 500 mM KCl, 20 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 8.8 @ 25°C

**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 为例说明热敏 UDG 酶的使用方法。按以下组分配制反应液, 建立反应体系。

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
Thermolabile Uracil-DNA Glycosylase (1 U/μL)	1 μL	
模板	X μL	
ddH <sub>2</sub> O	补加至 50μL	

2. 混匀, 离心数秒, 设置 PCR 运行程序中增加一个 25°C 反应步骤, 持续时间 10 min。

3. 热敏 UDG 灭活: 94°C 加热 2min (若用于 RT-PCR, 55°C 加热 10min 进行热失活。) 因此, 消化结束后, 正常启动核酸扩增程序即可。

(PCR 循环的 94°C 变性 2min 及 LAMP 持续的 65°C 便可灭活热敏 UDG, 因此不会影响体系中新产生出来的含 dU 的扩增产物。)

### 注意事项：

1. 热敏 UDG 对温度敏感, 使用时要保持低温。

2. 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 UDG 酶消除含 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。

3. 热敏 UDG 酶兼容绝大多数的 PCR 聚合酶反应缓冲液, 但在高离子浓度 (>100mM) 下活性会受到抑制。

BM20220609