

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2
		1000 U	5000 U
UDG (5,000 U/mL)	RM21505	200 μ L	1 mL
10X UDG Reaction Buffer	RM20132	1.25 mL	1.25 mL X 4

产品说明

Uracil-DNA Glycosylase (UDG)来源于大肠杆菌重组克隆表达,可催化含尿嘧啶(U)的 DNA 释放游离的尿嘧啶,对 RNA 无活性。UDG 能有效水解单链或双链 DNA 中的尿嘧啶,但不能水解低聚体(小于 6 bp 的寡脱氧核苷酸)中的尿嘧啶。主要用于防止 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 作用而断裂,使 DNA 链在失去 dU 碱基处极不稳定,在随后的加热步骤中被降解,同时 UDG 酶失活。

产品来源

E. coli 来源的 UDG 基因在大肠杆菌中表达和分离纯化得到。

活性定义

1活性单位(U)是指在50 μ L反应体系,37°C 30 min内每分钟从0.2 μ g含尿嘧啶的DNA (10^4 - 10^5 cpm/ μ g)中释放60 pmol [3 H]⁻尿嘧啶所需的酶量。

反应条件

1X UDG Reaction Buffer, 37°C 反应

1X UDG Reaction Buffer组成

20 mM Tris-HCl, 1 mM DTT, 1 mM EDTA, pH 8 @ 25°C

保存温度

-20°C

酶存储液

10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 0.1 mM EDTA, 0.1 mg/mL BSA, 50% Glycerol, pH 7.4 @ 25°C

热失活: 否

操作说明

在 0.1 μ g 含尿嘧啶的 DNA 中加入 1 U UDG 酶于 37°C 反应 10 min, 能使该 DNA 不被 DNA 聚合酶所扩增。UDG 酶在 95°C 孵育 10 min 可以丧失 95%的酶活性。95°C 热处理后 UDG 酶仍保留部分活性,可以使用 UDG 酶抑制剂以防止 DNA 产物的降解,或者立即纯化反应产物。

注意事项

UDG 酶活性在 pH 8.0 时达到最优值,不需要二价阳离子,在高离子强度(> 200 mM)时受到抑制。

质量控制

SDS-PAGE 检测蛋白纯度大于 95%。

无核酸内切酶、单链 DNA 酶和 RNA 酶活性。

PCR 检测无宿主基因组残留。