Heat-labile UDG

P051

Version 21.1



产品概述

Heat-labile UDG由克隆有来自嗜冷海洋细菌 (*psychrophilic marine bacterium*) UDG基因的重组*E.coli*菌株表达并经过多步纯化精制得到。UDG (Uracil-DNA Glycosylase, 尿嘧啶-DNA糖基化酶) 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,50°C以上就可以使酶不可逆失活,适用于PCR、qPCR、RT-PCR、RT-qPCR体系。

产品组分

组 分	P051-01 100 U	P051-02 500 U
Heat-labile UDG (1 U/μl)	100 μΙ	500 µl

贮存缓冲液

20 mM Tris-HCl, pH 8.0@25°C 0.1 mM EDTA 100 mM KCl 1 mM DTT 50% Glycerol (v/v) 0.5% NP-40 (v/v) 0.5% Tween-20 (v/v)

保存条件

-30~-15℃保存,≤0℃运输。

适用范围

去除单链或双链DNA尿嘧啶碱基;去除含dU的PCR产物气溶胶污染。

单位定义

在70 mM Tris-HCl, pH 7.5, 10 mM NaCl, 1 mM EDTA, 100 μg/ml BSA反应液中, 37°C 1 h内使1 nmol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)。

比活

≥200,000 U/mg

注意事项

Heat-labile UDG酶在大多数PCR或RT-PCR体系中均具有活性,但对于自行使用的PCR或RT-PCR体系,首次使用时建议先测试一下是否和 所使用的体系兼容。

实验流程

1.按下列组分配制PCR反应液

ddH ₂ O	To 50 μl
10 × Taq Buffer (with 20 mM MgCl ₂)	5 µl
dUTP ^a	0.6 mM
dATP/dCTP/dGTP	0.2 mM each
Template DNA	optional
Primer 1 (10 µM)	2 µl
Primer 2 (10 μM)	2 µl
Taq DNA Polymerase (5 U/μI)	0.5 µl
Heat-labile UDG (1 U/µI) ^b	1 μΙ

a. 根据实验需要,dUTP终浓度可在0.2 - 0.6 mM之间调整。

2.反应程序

25°C	10 min		降解含U模板	
95°C	2 min	UDG	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	J		
72°C	7 min		彻底延伸	

[▲] 可根据实验需要调整PCR反应程序。

b. 根据实验需要, 50 µl反应体系的使用量一般为0.1 - 1 U。

[▲] 根据实验需要,MgCl₂终浓度可在2 - 3 mM之间调整。