

产品概述

*E. coli*尿嘧啶-DNA糖基化酶(UDG)由克隆有*E. coli* UDG基因的重组*E. coli*菌株表达并经过多步纯化精制得到。*E. coli* UDG可催化从含尿嘧啶的DNA上释放尿嘧啶。UDG能有效地水解单链或双链DNA上的尿嘧啶，但不能从6碱基或更少的寡核苷酸上水解尿嘧啶。

产品组分

组 分	P061-01 500 U	P061-02 5000 U
<i>E. coli</i> UDG (5 U/μl)	100 μl	1 ml

贮存缓冲液

10 mM Tris-HCl, pH7.4@25°C
50 mM KCl
0.1 mM EDTA
1 mM DTT
0.1 mg/ml BSA
50% Glycerol (v/v)

保存条件

-30 ~ -15°C保存。运输条件：≤0°C。

单位定义

每分钟催化60 pmol尿嘧啶从含尿嘧啶的双链DNA上释放所需的酶量定义为1 U。通过检测37°C条件下，30 min内从50 μl含0.2 μg DNA 10⁴ - 10⁵的反应体系中释放[³H]-尿嘧啶的量来确定活性。

质量控制

核酸外切酶残留检测：5 U本酶和0.3 μg λ-*Hind* III在37°C下孵育16 h，DNA的电泳谱带不发生变化。

核酸内切酶残留检测：5 U本酶和0.3 μg Supercoiled pBR322 DNA在37°C下孵育4 h，DNA的电泳谱带不发生变化。

RNase残留检测：5 U的本酶和1 μg HeLa细胞总RNA在37°C下孵育30 min，RNA的电泳谱带不发生变化。

大肠杆菌DNA残留检测：10 U本品中残留的核酸经*E. coli* gDNA特异性的TaqMan qPCR检测，*E. coli*基因组残留低于10拷贝。

实验流程

反应体系

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
Primer1 (10 µM)	2 µl
Primer2 (10 µM)	2 µl
Taq DNA Polymerase (5 U/µl)	0.5 µl
E.coli UDG (5 U/µl) ^b	0.2 µl

a 根据实验需要, dUTP终浓度可在0.2 - 0.6 mM之间调整。

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。

反应程序

37°C	10 min		降解含U模板
95°C	2 min		UDG失活, 模板变性
PCR反应			
94°C	30 sec	}	30 - 35 cycles
55°C	30 sec		
72°C	60 sec/kb		
72°C	7 min		彻底延伸

▲ 可根据实验需要调整PCR反应程序。



ISO 9001: 2015