

Uracil-DNA Glycosylase (*E. coli*)

产品编号	产品名称	包装
D7360S	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E. coli</i>)	1000U
D7360M	Uracil-DNA Glycosylase (<i>E. coli</i>)	5000U

产品简介:

- 碧云天生产的 Uracil-DNA Glycosylase (*E. coli*), 也称 *E. coli* Uracil-DNA Glycosylase (UDG)或 *E. coli* Uracil N-Glycosylase (UNG), 即大肠杆菌 UDG 或 UNG, 可催化含尿嘧啶的 DNA 链中的尿嘧啶(dU)碱基和脱氧核糖之间的 N-糖苷键发生水解, 从而释放游离尿嘧啶。Uracil-DNA Glycosylase (UDG)可以水解含有 dU 的单链或双链 DNA, 但不能水解 RNA 或含有 dU 的长度不超过 6 个碱基 DNA 寡聚体。
- UDG 主要应用于消除 PCR 扩增过程中带来的产物污染问题。其防止污染的原理为: 在 PCR 反应中加入适量的 dUTP, 以 dUTP 替代 dTTP 掺入 DNA 中, 形成含 dU 碱基的 PCR 扩增产物; 后续进行 PCR 反应时, 使用 UDG 酶选择性切割可能被污染而带入的之前 PCR 扩增产生的含有 dU 的单链或双链 DNA, 从而避免之前的 PCR 扩增产物可能的污染对于本次 PCR 扩增带来的负面影响。
- 活性定义: One unit is defined as the amount of enzyme that catalyzes the release of 60 pmol of uracil per minute from double-stranded, uracilcontaining DNA. Activity is measured by release of [3H]-uracil in a 50 μ l reaction containing 0.2 μ g DNA (10^4 – 10^5 cpm/ μ g) in 30 minutes at 37°C.
- 碧云天生产的*E. coli* UDG酶活性鉴定结果可参考图1。

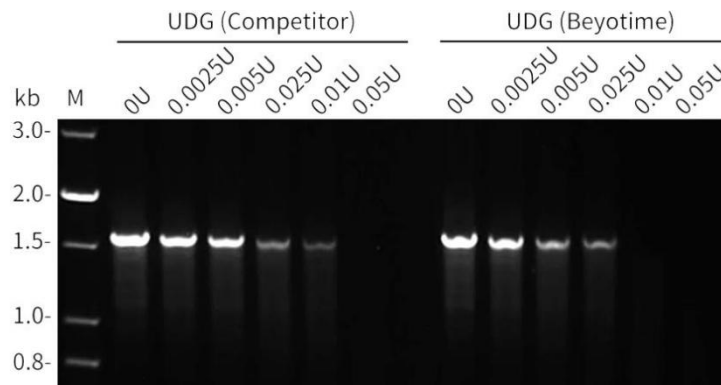


图1. 碧云天和N公司*E. coli* UDG酶催化水解5 μ l含dU碱基的PCR扩增产物效果图。使用本产品或国外N公司的*E. coli* UDG, 在20 μ l体系, 分别以5 μ l含dU碱基的1600bp大小的PCR扩增产物为底物和不同量的(0U, 0.0025U, 0.005U, 0.01U, 0.025U, 0.5U) *E. coli* UDG在1X *E. coli* UDG Buffer, 37°C孵育30min, 然后用1%的琼脂糖凝胶进行电泳检测。如图所示, 本产品与N公司相比, 具有相当的酶活。M, DNA marker (D0110 DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands))。

- **来源:** 大肠杆菌重组、表达和纯化而获得。
- **纯度:** 不含 UDG 酶活力之外的内切或外切脱氧核糖核酸酶、RNase 和磷酸酶活性。
- **用途:** 防止 PCR 产物的交叉污染; 单核苷酸多态性检测(single nucleotide polymorphism detection, GMPD); 位点特异性突变; 蛋白质与 DNA 相互作用研究; SNP 基因分型; PCR 产物的克隆; 制备含有单链突出末端的 PCR 产物或 cDNA。
- **酶储存溶液:** 10mM Tris-HCl (pH 7.4), 50mM KCl, 0.1mM EDTA, 1mM DTT, 0.1mg/ml BSA, 50% (v/v) glycerol。
- **10X *E. coli* UDG Buffer:** 200mM Tris-HCl, 10mM EDTA, 10mM DTT, pH 8.0 at 25°C。
- **失活或抑制:** 95°C加热10分钟可以使95% *E. coli* UDG失活。由于经95°C加热10分钟处理后, 其仍保持部分活性, 建议加入UDG抑制剂(如来自枯草芽孢杆菌噬菌体PBS2的Ugi蛋白或噬菌体phi29的p56蛋白)进一步抑制其酶活以免其继续降解含有dU的PCR产物。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D7360S-1	<i>E. coli</i> UDG (5U/ μ l)	200 μ l
D7360S-2	10X <i>E. coli</i> UDG Buffer	2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D7360M-1	<i>E. coli</i> UDG (5U/μl)	1ml
D7360M-2	10X <i>E. coli</i> UDG Buffer	10ml
—	说明书	1份

保存条件：

-20°C保存，至少一年有效。

注意事项：

- *E. coli* UDG 酶在大多数 PCR 反应缓冲液体系中均有活性，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。通常取含 dUTP 的 PCR 扩增产物，参考图 1 加入适量 UDG，观察能否有效降解含 dUTP 的 PCR 扩增产物。
- dNTP/dUTP 推荐选购碧云天的 D7376 dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)。
- 由 *E. coli* UDG 酶消化产生的 DNA 链的无碱基位点可通过加热，碱处理或核酸内切核酸酶处理而除去。通常 PCR 反应过程中的加热步骤可以确保 UDG 酶消化的位点被完全剪切开。
- *E. coli* UDG 酶在比较宽泛的 pH 范围内具有活性，其最适 pH 值为 8.0，*E. coli* UDG 酶活不需要二价阳离子，并被高离子强度 (> 200 mM) 所抑制。
- *E. coli* UDG 酶可以在 PCR 反应前清除不慎污染的含 dUTP 的 PCR 产物，从而避免由于污染导致的 PCR 假阳性结果。
- *E. coli* UDG 在加热变性后可能由于重折叠而在较低温度下表现出残留活性。因此，建议在退火步骤中使用 55°C 或更高的温度进行后续 PCR。
- *E. coli* UDG 可以用于 DNA 或 cDNA 的常规 PCR 或 qPCR 扩增体系，但通常不建议用于 RT-PCR 体系。因为在反转录条件下，通常 *E. coli* UDG 会保持活性，并可能消化新合成的 cDNA。
- *E. coli* UDG 酶经 95°C 加热 10min 处理后，仍会保持少量活性，如果希望用于 RT-PCR 体系，需要反转录和 PCR 分开进行，在反转录时不使用 dUTP，在反转录后加入 *E. coli* UDG 酶处理，然后进行常规的 PCR 或 qPCR，或者建议加入 UDG 抑制剂 (如来自枯草芽孢杆菌噬菌体 PBS2 的 Ugi 蛋白或噬菌体 phi29 的 p56 蛋白) 进一步抑制 *E. coli* UDG 的酶活性。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 参考下表设置 PCR 反应体系，或者参考所使用的 PCR 扩增体系设置 PCR 体系，并加入 *E. coli* UDG 酶至终浓度为 0.01U/μl。通常仅加入 PCR buffer 即可，无需加入 UDG 的 buffer。

Reagent	Volume	Volume	Final Concentration
Nuclease-Free Water	(18.325-x)μl	(36.65-y)μl	-
10X PCR Buffer (with Mg ²⁺)	2.5μl	5μl	1X (1.5mM Mg ²⁺)
dNTP/dUTP (2.5mM each/5mM)	2μl	4μl	0.2mM each/0.4mM
Primer mix (10μM each)	2μl	4μl	0.8μM
Template	xμl	yμl	10pg-1μg
Taq DNA Polymerase (5U/μl)	0.125μl	0.25μl	-
<i>E. coli</i> UDG (5U/μl)	0.05μl	0.1μl	-
Total volume	25μl	50μl	-

注1：根据实验需要，dNTP/dUTP (可购买碧云天D7376 dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM))的终浓度可在0.2-0.6mM之间调整。镁离子的最终终浓度可在1.0-4.0mM之间调整。

注2：对于25μl的PCR反应体系，*E. coli* UDG (5U/μl)的使用量一般为0.25-0.5U。

注3：模板和引物的用量请参考碧云天aq DNA Polymerase (D7205/D7207/D7209)使用说明或相应的PCR体系的产品说明书。

2. 参考上述反应体系，加入*E. coli* UDG后混匀，37°C孵育10min (本步骤可以有效去除可能的之前含dUTP的PCR扩增产物的污染)，后续就可以立即进入PCR扩增程序(须确保退火温度不低于55°C)。根据我们的实际测试结果发现，在退火温度不低于55°C的情况下，使用本产品的情况下不会影响PCR扩增的产物量。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D7205	Taq DNA Polymerase	200U
D7207	Taq DNA Polymerase	1000U
D7209	Taq DNA Polymerase	5000U
D7211S	Hot-Start Taq DNA Polymerase	200U

D7211M	Hot-Start Taq DNA Polymerase	1000U
D7211L	Hot-Start Taq DNA Polymerase	5000U
D7362S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	100U
D7362M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Bacterium)	500U
D7364S	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	200U
D7364M	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	1000U
D7364L	Uracil-DNA Glycosylase (Heat-labile, Cod)	5000U
D7359-250µl	dUTP (100mM)	250µl
D7359-1ml	dUTP (100mM)	1ml
D7366	dNTP (4 管套装, 100mM)	4×50µl
D7376-1ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	1ml
D7376-5ml	dNTP/dUTP Mixture (2.5mM each/5mM)	5ml
FTUB322	BeyoGold™ PCR 管 (0.2ml, 凸盖, 透明)	1000 个/包
FTUB323	BeyoGold™ PCR 管 (0.2ml, 凸盖, 透明)	1000 个/包,10 包/箱
FTUB328	BeyoGold™ PCR 八联排管 (0.2ml, 凸盖, 透明)	125 排/盒
FTUB329	BeyoGold™ PCR 八联排管 (0.2ml, 凸盖, 透明)	125 排/盒,10 盒/箱
ST876-100ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	100ml
ST876-500ml	BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile)	500ml

Version 2020.08.10