

Heat-labile UDG

V02

产品概述

温度敏感型 Heat-labile UDG 是经大肠杆菌重组表达获得的温度敏感型 UDG 酶。该酶能够催化含尿嘧啶的单链和双链 DNA 释放游离尿嘧啶,对 RNA 无活性。与大肠杆菌基因来源的常规 UNG 酶相比,Heat-labile UDG 酶在低温下 (20°C-37°C) 具有更高活性,且对温度敏感、易于灭活 (50°C),避免了常规 UNG 酶灭活后仍然可能存在的残留活性在常温下对含 dUTP 扩增产物的降解作用。因此,Heat-labile UDG 不但能够更好地应用于 PCR 防污染反应,而且能够很好地匹配 RT-PCR 扩增程序,应用于 RT-PCR 防污染反应。

试剂组成

组分	BR1A808-01 100U	BR1A808-02 500U
Heat-labile UDG (1U/μL)	0.1 mL	0.5 mL

活性定义

37°C条件下,1小时降解 1μg 含 dU 碱基的单链 DNA 的酶量为 1 个活性单位 (U)。

储存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH 7.5), 100 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 1 mM DTT, Stabilizer, 50% Glycerol。

保存条件

-20±5°C存储。

注意事项

1. 本产品仅作科研用途,不用于临床诊断。
2. 本试剂盒中的各试剂应尽量避免反复冻融,反复冻融可能使产品性能下降,如每次使用量较少,推荐小份分装使用。
3. Heat-labile UDG 的最适反应温度较低,可在 20°C-37°C 范围内,对酶的用量及反应时间在 0.1-0.5 U、5-10 min 进行优化;并且该酶可在逆转录过程被灭活。
4. 适合于 PCR、RT-PCR 防污染使用。
5. 不同待扩增基因对 dUTP 的利用效率和对 UNG 酶的敏感度不同,因此,如果采用 UNG 体系导致检测灵敏度下降,应对反应体系进行调整优化,如需技术支持请与我公司联系。

质量控制

1. SDS-PAGE 电泳纯度大于 98%。
2. 降解活性、批间差异、稳定性。
3. 无外源核酸酶活性,无外源内切、外切核酸酶污染。

PCR 反应体系配制

组份	加入量	终浓度
10×PCR Buffer (Mg ²⁺ free)	5 μL	1×
dNTPs (dATP, dGTP, dCTP)	—	200 μM
dUTP (replaces dTTP)	—	200-600 μM
25 mM MgCl ₂	2-8 μL	1-4 mM
5 U/μL Taq	0.25 μL	1.25 U
1 U/μL Heat-labile UDG	0.5 μL (0.1-0.5 μL)	0.5 U (0.1-0.5 U)
25×Primer Mix*	2 μL	1×
Template	—	< 1 μg/reaction
ddH ₂ O	To 50 μL	—

* 若用于 qPCR/qRT-PCR, 则需加入荧光探针到反应体系中。通常引物终浓度为 0.2μM 可以得到较好结果; 反应性能较差时, 可以在 0.2-1μM 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1-0.3μM 范围内优化。可进行浓度梯度的实验, 寻找引物和探针的最佳组合。