

产品概述

尿嘧啶 DNA 糖苷酶 (Uracil-DNA Glycosylase, 简称 UNG 或 UDG) 来源于大肠杆菌重组克隆表达, 分子量为 25 kDa, 可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, 可应用于防止 PCR 扩增产物带来的污染。其作用原理基于: 如果在 PCR 反应中以 dUTP 替代 dTTP 掺入 DNA 中, 形成了含 dU 碱基的 PCR 扩增产物, 该酶能选择性断裂单链和双链 DNA 中 U 碱基的糖苷键, 降解该 PCR 扩增产物。

规格

1 U/ μ L

活性定义

37°C条件下, 1 小时降解 1 μ g 含 dU 碱基的单链 DNA 的酶量为 1 单位。

储存缓冲液

20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM DTT, Stabilizer, 50% Glycerol。

保存条件

-20°C长期保存, 使用前应混匀, 避免反复冻融。

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. 1U UNG 在 50°C处理 2 min 后, 10³拷贝以下含 U 模板应完全降解, 不能产生扩增产物。
4. 无外源核酸酶活性。

PCR 反应体系配制

Component	Volume per Reaction	Concentration in Master Mix
10×PCR Buffer (dNTP free, Mg ²⁺ free)	5 μ L	1×
dNTPs (dATP、dGTP、dCTP)	—	200 μ M
dUTP (replace dTTP)	—	200~600 μ M
25 mM MgCl ₂	2~8 μ L	1~4 mM
5 U/ μ L Taq	0.25 μ L	1.25 U
1 U/ μ L UNG	0.25 μ L (0.1~0.5 μ L)	0.25 U (0.1~0.5 U)
25×Primer Mix *	2 μ L	1×
Template	—	< 1 μ g/reaction
ddH ₂ O	To 50 μ L	—

货号: E01

Uracil-DNA Glycosylase

2023V01



* 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 0.2 μM 可以得到较好结果; 反应性能较差时, 可以在 0.2~1 μM 范围内调整引物浓度。通常探针浓度在 0.1~0.3 μM 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。

技术说明

1. UNG 酶可应用于 PCR 扩增反应前、清除反应体系中被污染的 dUTP 的扩增产物, 避免由于产物污染导致的假阳性结果。
2. UNG 酶应用于防污染 PCR 反应的最适作用温度一般为 50°C, 时间为 2 min; 灭活条件为 95°C 5 min。
3. 应避免反复冻融, 勿暴露在温度波动较大的环境。
4. 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。