

HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG)

REF: EG22906S

储运条件

-20°C

产品组成

组分	规格
HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG)(1 U/μl)	500 μl

产品简介

HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG) 是冷水鱼来源重组热敏感的尿嘧啶 -DNA 糖基化酶 (UDG)，并经过多步纯化精制得到。与普通 UDG 相比，热敏 UDG 对温度更加敏感，室温下即可起作用，50°C 以上即可失活。该酶能催化水解含有尿嘧啶的 DNA 链的尿嘧啶碱基并释放游离尿嘧啶，常被用于消除 PCR、qPCR、RT-qPCR 扩增引起的气溶胶污染。

酶活单位定义

在 25°C，30 min 内降解 1 μg 含有尿嘧啶的 dsDNA 所需要的酶量定义为 1 个活性单位 (U)。

失活条件

50°C 温育 5 min。

质量控制

核酸内切酶活性

将 1 U HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG) 与 200 ng 超螺旋质粒 DNA 在 37°C 下，共同温育 4 h 后，使用琼脂糖凝胶电泳检测，少于 10% 的质粒 DNA 转变成缺刻或线性状态。

非特异性核酸酶活性

将 1 U HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG) 与 15 ng 双链 DNA 片段在 37°C 温育 16 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测双链 DNA 底物无变化。

RNase 活性

将 1 U HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG) 总 RNA 在 37°C 温育 1 h，使用琼脂糖凝胶电泳检测超过 90% 的 RNA 仍保持完整。

宿主 DNA 残留

使用大肠杆菌 16S rDNA 特异性引物探针组，采用荧光定量 PCR 法检测 1 U HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG)，大肠杆菌宿主基因组 DNA 残留低于 10 copies。

单链 DNA 酶活性

将 1 U HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG) 与 1 pmol 单链寡核苷酸 (FAM 标记) 在 37°C 孵育 16 h，经毛细管电泳检测，降解率 <5%。

使用方法

1. 按下列体系配制 PCR 反应液

试剂	体积	终浓度
10× PCR Buffer for Taq (Mg ²⁺ Plus)	5 μl	1×
dUTP (10 mM) ^a	3 μl	0.6 mM
dCTP/ dGTP/ dATP (10 mM each)	1 μl (each)	0.2 mM
Template DNA	X ng	-
Primer 1 (10 μM)	1 μl	0.2 μM
Primer 2 (10 μM)	1 μl	0.2 μM
AbTaq DNA Polymerase (5 U/μl)	0.5 μl	0.05 U/μl
HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG) ^b	1 μl	0.02 U/μl
ddH ₂ O	To 50 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。

2. 反应程序

步骤	温度	时间
降解含 U 模板	25°C	10 min
UDG 失活，模板预变性	95°C	3 min
变性	95°C	10 s
退火	55~65°C	30 s
延伸	72°C	30 s/kb
终延伸	72°C	5 min

30~35 Cycles

注：可根据实验需要调整 PCR 反应程序。

注意事项

HL-Uracil DNA Glycosylase (UNG, UDG) 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。