

Cod UNG（热敏型尿嘧啶-DNA 糖基化酶）

（产品货号：EM105）

描述：Cod UNG（热敏型尿嘧啶-DNA 糖基化酶）是来自 Atlantic Cod 的 Cod Uracil-DNA 糖基化酶，能在室温下有效地水解单链或双链 DNA 上的尿嘧啶，对 RNA 无活性。Cod UNG 对 RNA 无活性，主要应用于 PCR 扩增产物的防污染。

产品组分与规格

货号	组分	100 U	500 U
EM105	Cod UNG（1 U/μl）	100μl	500μl

储存液及反应液

储存液：20 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 1 mM DTT, 0.1% Triton X-100, 50 %甘油, pH7.5 @ 25℃。

反应液：Cod UNG 与绝大多数的 PCR 聚合酶反应缓冲液都是兼容的，但在离子浓度>100 mM 的条件下活性会受到部分抑制。

酶活定义

在标准反应体系下，37℃ 1min 催化 60 pmol 尿嘧啶从含尿嘧啶的双链 DNA 上释放所需要的酶量为一个活性单位。

应用

来源于 Atlantic Cod 的热敏型尿嘧啶-DNA 糖基化酶（UNG）在室温下可以发挥作用，在 55℃ 条件下 5 min 完全不可逆地失去活性。因此 PCR 扩增前，在 PCR 混合液中添加 Cod UNG, 25℃ 5~10 min 即可消除 PCR 污染，接下来的 PCR 循环中 95℃ 变性便可将其完全不可逆地灭活，不会影响新的含 dU PCR 产物的产生。去除单链或双链 DNA 中的尿嘧啶碱基，也可以去除 PCR 残存污染。

储存

-20±5℃，可保存 1 年。避免反复冻融。

使用方法

PCR

Cod UNG 适用于所有市售的预混 Mix。使用前确保在之前的 PCR 实验中使用了包含 dUTP 的 dNTP 混合物*。

- 将 0.25 U** Cod UNG 直接加入到 25μl PCR 反应体系中
- 室温下预孵育 5 分钟
- 运行 PCR 程序

在分析之前，将 PCR 产物保存在-20℃或 4℃ 条件下（长期保存建议置于-20℃条件下）。

注：

- 1.dUTP 与 dTTP 根据实验优化的比例或等比例混合；

一步法 RT-PCR

- 将 0.2 U** Cod UNG 直接添加到您的 20 μl RT-PCR 反应中
- 室温下预孵育 5~10 分钟
- 在 50~55℃ 条件下逆转录您的 RNA
- 运行 PCR 程序

2. 如果污染比较严重可加入 1U (1 μ l Cod UNG)

1. Cod UNG 在 qRT-PCR 中的使用

在 qRT-PCR 中使用 Cod UNG 进行污染控制的前提条件是该酶具有足够的热不稳定，在逆转录温度下快速失活。Cod UNG 有利于在 qPCR 和 qRT-PCR 分析中使用，可以去除超过 10⁶ 个拷贝的污染，而不会影响检测的灵敏度 (Ct)。快速的热灭活和在低温下高活性的特性使得 Cod UNG 在扩增反应之前在室温下孵育 5 分钟即可。

2. Cod UNG 处理后 PCR 产物的稳定性

完全且不可逆的热灭活特性使得 Cod UNG 非常适合任何 qPCR 和 qRT-PCR 反应，在这些应用中产物需要保持完整以便进一步分析，例如克隆，测序或使用单核苷酸引物延伸技术进行基因分型。当样品在扩增后需要长时间保存时也是十分有利的。

3. 使用注意事项：

Cod UNG 在高离子浓度条件下活性会受到抑制，如果体系中离子浓度高于 100 mM 可适当增加加入量（例：25 μ l 体系加入 1-2 μ l Cod UNG）。

注：

- (1) 热不稳定，在 55 $^{\circ}$ C 5 min 完全不可逆灭活。
- (2) 在 RT-PCR 中使用 Cod UNG 可实现污染控制。
- (3) PCR 后不会降解 PCR 产物，这使得 PCR 产物的下游使用成为可能。
- (4) 高纯度酶，无核酸酶污染。



欢迎扫码关注