

Uracil-DNA Glicosilasa (UDG)

Cat. no. EA17

Almacenamiento: -20 °C

Concentración: 1 U/ μ l

Presentaciones

Componente	EA1701	EA1702
Uracil DNA Glicosilasa, 1 U/ μ L	200 U	1000 U
Buffer de Reacción 10X	0,4 ml	1,5 ml

PRODUCTOS BIO-LOGICOS

<http://www.pb-l.com.ar>

Información del Producto:

La Uracil-DNA Glicosilasa cataliza la hidrólisis del enlace N-glicosídico entre el Uracilo y el azúcar, dejando un sitio apirimidínico en una doble o simple hebra de ADN que contiene Uracilo. Esta enzima es producida de forma recombinante en *Escherichia coli*.

Aplicaciones:

- Eliminación de contaminación por arrastre en PCR.
- Detección de SNP mediado por glicosilasa.
- Mutagénesis dirigida.
- Para estudios de interacción proteína-ADN.
- Genotipado de SNP.
- Generación de extremos cohesivos para clonado.

Peso Molecular:

26,7 KDa

Definición de Unidad Enzimática:

Una unidad de la enzima cataliza la liberación de 1 nanomol de Uracilo de una hebra de DNA en 60 minutos a 37 °C.

Inactivación e Inhibición:

- La Enzima se inactiva por calor incubando 10 min a 95 °C. Luego de la inactivación, menos del 5% de la actividad de la enzima puede reestablecerse a temperaturas por debajo de los 55 °C.
- La proteína UGI del bacteriófago PBS2 de *Bacillus subtilis* y la proteína p56 del bacteriófago phi29 de *Bacillus subtilis* inhiben el funcionamiento de la Enzima.

Notas:

La enzima posee actividad en presencia o ausencia de cationes divalentes.

Esta enzima es activa en diferentes buffers de reacción tales como: de TAQ, mastermix de realtime PCR, mastermix de punto final, One Step PCR.

Control de Calidad

Control de Actividad

Endo/Exodeoxiribonucleasa:

Incubación de 1 unidad de UDG en presencia de ADN plasmídico durante 1 hora a 37 °C.

Control de Actividad Ribonucleasa:

Incubación de 1 unidad de UDG en presencia de ARN durante 1 hora a 37 °C.

Control de Pureza:

La enzima presenta una pureza superior al 95% respecto a otras proteínas. No se detectan trazas de ácidos nucleicos.

Protocolo de eliminación de contaminación por arrastre en PCR:

Para degradar amplicones contaminantes provenientes de otras reacciones de PCR que hayan contenido dUTP's, se sugiere el siguiente protocolo:

Componente	Vol (µL)	Conc.
Buffer TAQ [10X]	2	1X
MgCl ₂ [50 mM]	0,6	1,5 mM
dNTP's [2mM]	2	0,2 mM
Primer Fw [10 µM]	1	0,5
Primer Rv [10 µM]	1	0,5
Molde	1	-
UDG [1 U/µL]	1	1 U
ddH ₂ O	11,4	-
Vol. Final	20	

Perfil de Ciclado:

- 37 °C – 10 minutos.
- 95 °C – 10 minutos.
- 92 °C – 15 segundos.
- 55 °C – 15 segundos.
- 72 °C – 1 minuto/1Kpb.
- 72 °C – 2 minutos.

Se recomienda incorporar en esta reacción dUTP a la mezcla de dNTP's para que el producto pueda ser posteriormente degradado por la UDG. O utilizar la mezcla de dNTPs/dUTP (IF00201)

Protocolo para la degradación de ADN conteniendo dUTP:

Para la degradación de fragmentos de ADN que contengan dUTP's, se sugiere el siguiente protocolo:

Componente	Vol (µL)	Conc.
Buffer de Reacción UDG [10X]	2	1X
UDG [1 U/µL]	1	1 U
ddH ₂ O	17	-
Molde	-	-
Vol. Final	20	

Se incuba la reacción a 37 °C durante 1 hora.

Limitaciones de uso

Este producto ha sido diseñado, desarrollado y comercializado para su uso exclusivo en el área de investigación. No fue desarrollado para su uso en el área de diagnóstico o desarrollo de drogas, tampoco para su administración en animales o humanos.