

Quick Guide

Beyond the PCR technology, BIOFACT promises the progress for your research.



BioFACT™ Uracil-DNA Glycosylase For PCR Diagnosis

[Cat. No. UD121-10h]

Contents	UD121-10h
BioFACT™ Uracil-DNA Glycosylase (1 U/μl)	1,000 U (1,000 reaction)

제품 특징 (Feature)

- Source : *E.coli* (K-12 strain)
- Removing Uracil-containing DNA
- Elimination of carry-over contamination
- For PCR diagnosis system

Application

Treatment of 0.1 μg of uracil-containing DNA with 1 unit of UDG for 10 minutes at 37°C renders the DNA incapable of being copied by DNA polymerase.

The enzyme can be 95% heat killed by incubation at 95°C for 10 minutes.

Unit Definition

One unit of enzyme catalyzed the degradation of 1 μl single-stranded Uracil-containing DNA at 37°C in 60 min.

Storage Buffer

- 20 mM Tris-HCl (pH 8.0)
- 50 mM NaCl
- 1 mM EDTA
- 1 mM DTT
- 50 μg/ml BSA
- 50 % Glycerol

Quality Control

- Tested for the absence of endo- and exodeoxyribonucleases with 50-fold excess (50 units / 50 ml reaction) at 37°C for 16 hrs.
- The enzyme is > 99 % pure as determined by SDS-PAGE.

Tip.

- Using 1 unit of UDG 50 μl reaction mixture
- Using dUTP instead of dTTP
- For PCR condition, add the follow step for activation of UDG before starting normal step 50°C, 3min

PCR Mixture & Cycle (예시)

PCR Mixture (Reaction vol. : 50 μl)		Cycle	
BioFACT™ S-Taq (5 U/μl)	0.25 μl	50 °C 3 min	UDG Walking
UDG (Uracil-DNA Glycosylase)	1 μl	95 °C 2 min	X 1
Primer F (10 pmole/μl)	2 μl	95 °C 20 sec	X 25~40
Primer R (10 pmole/μl)	2 μl	AT 40 sec	
Template DNA	-	72 °C 1 min/kb	X 1
10X S-Taq Reaction Buffer	5 μl	72 °C 5 min	
each 10 mM dNTP mix(U)	1 μl	8 °C ∞	
5X Band Helper™	0~20 μl		
Add D.W to	50 μl		

Expiration Date : -20±5 °C 보관 시 2년 3개월



Please contact us, if you have any question and need help.
T)1670-5695 www.bio-ft.com info@bio-ft.com

2016.04.01 (설명서 개정일)

주의사항.

본 제품은 실험 전문 인력이 사용하도록 한다.

제품보증 및 책임사항

- 제품의 유효기간은 구입일로부터 **2년 3개월**이다.
- 설명서에 나온 지침에 따라 제품을 사용하였을 경우에만 모든 제품의 결과를 보증한다.
- 실험자의 잘못된 사용이나 부주의로 인해 문제가 발생하였을 경우에는 교환이 되지 않는다.

안전경고 및 응급조치 요령

- 눈, 호흡기, 피부 접촉을 피한다.
- 눈에 들어갔을 때 : 흐르는 물로 눈을 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것
- 피부에 접촉시 : 접촉된 부위를 비누와 물로 충분히 씻을 것.
자극이 지속되면 의사의 진료를 받을 것
- 동상의 위험이 있으니 반드시 감각 회복 후 사용할 것.

사용자 유의사항

- 유효기한이 지난 제품의 사용을 금지한다.
- 냉동 제품을 자주 열고 녹이는 과정을 반복할 경우, 활성이 저하될 수 있으므로 주의한다.
필요한 경우, 일정량을 분주하여 보관, 사용하도록 한다.
- 조작성 정해진 순서에 따라 정확히 하여야 하며, 키트는 개봉 후 즉시 사용한다.
- 분리된 검체 DNA/RNA 상태에 따라 상이한 결과를 보일 수 있다.
- 오염된 검체는 부정확한 결과를 나타낼 수 있으므로 주의한다.

알림.

- Genomic DNA / Plasmid DNA / Total RNA는 사용하는 Primer의 종류에 따라 다양한 농도로 사용할 수 있다.
- NTC (Non-Template Control)을 이용하여 실험 환경 내의 오염을 확인하도록 한다.
* 실험의 마지막 단계에서 적정량의 DNA / RNA template를 넣어 준다. NTC에는 template 대신 RNase / DNase free water를 넣어 Negative control로 사용한다.

참고사항.

Template 종류에 따른 사용량 (PCR Cycles)

- Animal genomic DNA : 50 ng ~ 200 ng (30 ~ 35 cycles)
10 ng ~ 50 ng (30 ~ 40 cycles)
- Bacterial genomic DNA : 10 ng ~ 50 ng (30 ~ 35 cycles)
1 ng ~ 5 ng (30 ~ 40 cycles)
- Plasmid and Lambda DNA : 1 ng ~ 5 ng (30 ~ 40 cycles)



Troubleshooting Guide

(주) 바이오팩트 사용 시 먼저 **check**해 주세요.

dNTP 농도 Check: (주) 바이오팩트 dNTP Mix의 농도는 each 10mM입니다.

Reaction Vol. 50 μl 기준 dNTP (each 10mM) 1 μl 를 사용합니다.

Enzyme 농도 Check: Reaction Vol. 50 μl 기준 1.25 Unit 를 사용합니다.

Band Helper™ 농도 조절: DNA 구조적인 문제 시 Final 0X~2X 로 조절하여 사용합니다.

Low yield or No Band

- 농도 check**
01. dNTP 농도 check
적정량보다 초과 사용 시 substrate inhibition 작용으로 인해 target DNA를 생성하는 데 문제가 발생할 수 있습니다.
02. Band Helper™

- 온도/시간 check**
01. Annealing Temperature(AT) check
Tm=(A+T)X2+(G+C)X4, AT=Tm-(4-6°C) 이 산출범위로 설정 후에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다.
02. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)
03. Extension time Check
일반적으로 0.5~1 min/kb로 설정. 단, pfu는 1~2min/kb

- template Primer Check**
01. Primer degradation check
Primer dilution 후 4°C에서 장기간 보관 시 분해되어 PCR에 영향을 줄 수 있습니다. 새로 dilution하거나 제작하여 사용합니다.
02. Starting template check
보관상태가 불량하거나 농도가 낮은 경우, quality가 낮은 경우 문제가 발생할 수 있습니다. 새로 prep하거나 사용량을 늘립니다.

Smear Band

- 농도 check**
01. Enzyme 농도 check
Reaction Vol. 50 μl 기준 1.25 Unit를 사용하며, 계속 smear될 경우 Enzyme양을 줄여가며 reaction합니다.
02. dNTP 농도 check
Long PCR일 경우 적게 사용 시 smear될 수 있습니다.
03. Template 농도 check
Template를 dilution하여 사용합니다.

- PCR condition check**
01. Extension time Check
Extension time이 적정 시간보다 길 경우, target size보다 긴 단편들이 형성되어 smear될 수 있습니다.
02. Cycle number check
cycle 수를 줄여서 PCR합니다.

- 온도/시간 check**
01. Annealing Temperature(AT) check
Tm=(A+T)X2+(G+C)X4, AT=Tm-(4-6°C) 이 산출범위로 설정 후에도 PCR이 되지 않으면 AT를 2°C 낮추어 진행합니다.
02. Pre-denaturation 온도 및 시간 (제품 Protocol 참조)

Non-Specific Band

- TRY**
01. Annealing Temperature(AT)를 높여 PCR한다.
02. Band Helper™를 첨가한다.
03. Hot Start Enzyme를 사용하여 PCR을 진행한다.

