



Uracil-N-Glycosylase (UNG)

尿嘧啶-N-糖基化酶 (UNG)

目录号: ME-MB0304-200 U
ME-MB0304-1000 U
ME-MB0304-10000 U

保存条件: -20℃

产品内容

Component	ME-MB0304	ME-MB0304	ME-MB0304
Uracil-N-Glycosylase (UNG), 1 U/μL	200 μL	1 mL	10 mL

产品简介

尿嘧啶-N-糖基化酶（UNG酶）也称为尿嘧啶DNA糖基化酶（UDG酶），通过大肠杆菌表达纯化的重组酶，该蛋白分子量为25kD，可催化含尿嘧啶的单链和双链DNA释放游离尿嘧啶，并且对RNA无活性，主要应用于防止PCR扩增产物的污染。该酶作用机理为：在PCR反应中以dUTP代替dTTP，扩增产物片段中的T全部被U取代，形成了含dU碱基的PCR扩增产物。UNG酶能选择性断裂单链和双链DNA中U碱基的糖苷键，降解反应体系中含U的DNA，有效消除PCR产物的残留污染，大大降低扩增产物污染导致的假阳性，从而保证扩增的特异性和准确性。

单位定义

37℃，60分钟内催化1 nmol尿嘧啶，从含尿嘧啶的DNA上释放所需要的酶量定义为一个单位。

质量控制

SDS-PAGE检测纯度大于95%；经检测无核酸内、外切酶活性。

注意事项

1. UNG长期储存(非频繁使用；每月少于3次)请置于-70℃保存，每天或每周使用请于-20℃保存。尽量避免反复冻融，大包装建议分装使用。
2. UNG可以在PCR反应前先清除不慎污染的U-DNA分子，一个实验室必须在所有的PCR反应中使用dUTP作为dNTP之一，使所有扩增产物都成为U-DNA。如单使用于某个检测，T-DNA仍会积累，此抗污染系统也难以起到完全的作用。
3. UNG/dUTP系统是PCR试剂内部的一种防污染措施，为了防止PCR产物的污染，尤其是在临检实验室中反复放大同一片段时，必须严格规范实验室的划分和操作。

操作步骤

以下举例为Taq反应体系防止PCR产物污染的使用方法，实际应用可根据具体实验进行改进和优化。

1. PCR反应体系

试剂	50 μ L反应体系	终浓度
Taq PCR Buffer, 10 \times	5 μ L	1 \times
dATP, 10 mM	1 μ L	200 μ M
dGTP, 10 mM	1 μ L	200 μ M
dCTP, 10 mM	1 μ L	200 μ M
dTTP, 10 mM	0.5 μ L	100 μ M
dUTP, 10 mM	1 μ L	200 μ M
Forward Primer, 10 μ M	1 μ L	0.2 μ M
Reverse Primer, 10 μ M	1 μ L	0.2 μ M
Template DNA	X μ L	
Taq DNA Polymerase, 5 U/ μ L	0.5 μ L	2.5 U/50 μ L
Uracil-N-Glycosylase (UNG), 1 U/ μ L	0.2 μ L	0.2 U/50 μ L
ddH ₂ O	up to 50 μ L	

2. 反应条件

步骤	温度	时间
UNG消化	37 $^{\circ}$ C-50 $^{\circ}$ C	5-10 min
预变性	95 $^{\circ}$ C	10 min
变性	94 $^{\circ}$ C	30 s
退火	55-65 $^{\circ}$ C	30 s
延伸	72 $^{\circ}$ C	1 kb/min
终延伸	72 $^{\circ}$ C	5 min

注意：通常将Taq酶与UNG酶按一定的比例加入PCR反应体系中，先于37 $^{\circ}$ C-50 $^{\circ}$ C范围内消化5-10分钟，然后95 $^{\circ}$ C 10分钟活化，(同时这一步也达到预变性和热启动的效果)，随后进行PCR扩增。UNG酶的反应可以在37 $^{\circ}$ C-50 $^{\circ}$ C，5-10分钟的范围变化，可以根据实验的需要进行调整。