

M5 Uracil-N-Glycosylase (UNG)

Product	Unit	Cat.#
M5 Uracil-N-Glycosylase (UNG) (1 U/μl)	200U	MF618-01
M5 Uracil-N-Glycosylase (UNG) (1 U/μl)	1000U	MF618-05

【Storage】 : Shipped at -20°C.

【产品介绍】 : 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 25 kD, 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°C, 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°C 保存, 每天或每周使用请于-20°C 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 μl 反应体系	终浓度
Taq PCR Buffer, 10×	5 μl	1×
dATP, 10 mM	1 μl	200 μM
dGTP, 10 mM	1 μl	200 μM
dCTP, 10 mM	1 μl	200 μM
dTTP, 10 mM	0.5 μl	100 μM
dUTP, 10 mM	1 μl	200 μM
Forward Primer, 10 μM	1 μl	0.2 μM
Reverse Primer, 10 μM	1 μl	0.2 μM
Template DNA	X μl	
Taq DNA Polymerase, 5 U/μl	0.5 μl	2.5 U/50 μl
Uracil-N-Glycosylase, 1 U/μl	0.2 μl	0.2 U/50 μl
ddH ₂ O	up to 50 μl	

2. 反应条件

步骤	温度	时间	
UNG消化	37°C-50°C	5-10 min	
预变性	95°C	10 min	
变性	94°C	30 s	} 30-40 个循环
退火	55-65°C	30 s	
延伸	72°C	1 kb/min	
终延伸	72°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°C-50°C 范围内消化 5-10 分钟，然后 95°C 10 分钟灭活，（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°C-50°C，5-10 分钟的范围变化，可以根据实验的需要进行调整。



Please note: All products are "FOR RESEARCH USE ONLY AND ARE NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC OR THERAPEUTIC USE"