



Uracil-N-Glycosylase (UNG, Glycerol-free)

目录号： CW3376S (100 U)
CW3376M (1000 U)
CW3376L (10000U)

保存条件： -30~-15℃，尽量避免反复冻融。

产品内容

Component	CW3376S 100 U	CW3376M 1000 U	CW3376L 10000 U
Uracil-N-Glycosylase (UNG, Glycerol-free) (1 U/ μ L)	100 μ L	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。本品不含有冻干赋形成分，应用于冻干制品时可根据需求自定义添加。

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

经检测无核酸内、外切酶活性，大肠杆菌宿主残留<1拷贝/U。

注意事项

1. 长期储存请置于-70℃保存，频繁使用请于-20℃保存。避免反复冻融，建议分装使用。
2. UNG可以在PCR反应前首先清除不慎污染的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。

使用方法

按照以下体系配制PCR反应液

1. PCR反应体系

试剂	50 μL体系	终浓度
Taq PCR Buffer, 10×	5 μL	1×
dUTP, 10 mM	1 μL	200 μM
dCTP/dGTP/dATP, 10 mM each	1 μL	200 μM
dTTP, 10 mM each	0.5 μL	100 μM
Template DNA	X μL	-
Forward Primer, 10 μM	1 μL	0.2 μM
Reverse Primer, 10 μM	1 μL	0.2 μM
Taq DNA polymerase (5U/μL)	0.5 μL	2.5 U/50 μL
Uracil-N-Glycosylase (UNG, Glycerol-free)(1 U/μL)	0.2 μL	0.2 U/50 μL
ddH ₂ O	Up to 50 μL	

2. PCR反应条件 (具体PCR程序需要根据实验实际需要做调整)

步骤	温度	时间	循环数
UNG消化	37~50℃	5~10 min	} 30~40 cycles
预变性	95℃	10 min	
变性	94℃	30 sec	
退火	55~65℃	30 sec	
延伸	72℃	1 kb/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℃-50℃范围内消化5-10分钟，然后95℃ 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℃-50℃，5-10分钟的范围内变化，可以根据实验的需要进行调整。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途