

# UNG (Uracil N-Glycosylase) 说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

## 描述:

尿嘧啶 DNA 糖基酶(Uracil N-Glycosylase, UNG)又名 Uracil-DNA Glycosylase, UDG, 来源于 E. coli uracil N-glycosylase 基因的重组表达, 分子量为 26kDa。其可催化含尿嘧啶的单链和双链 DNA 释放游离尿嘧啶。它对 RNA 无活性, 主要应用于 PCR 扩增产物的防污染。它的作用原理基于: 如果在 PCR 反应中以 dUTP 替代 dTTP 掺入 DNA 中, 形成了含 dU 碱基的 PCR 扩增产物, 该酶能选择性断裂单链和双链 DNA 中 U 基的糖苷键, 降解该 PCR 扩增产物。

## 组分:

名称	1000U	5000U
Uracil N-Glycosylase (5 U/ $\mu$ l)	200 $\mu$ l	1ml

**活性定义:** 在标准 PCR 反应体系下, 37°C 条件下, 1 小时降解 1 $\mu$ g 含 dU 碱基的单链 DNA 的酶量为 1 活性单位。

**反应 Buffer:** UNG 与绝大多数的 PCR 聚合酶反应缓冲液都是兼容的, 但在高离子浓度 (>100mM) 下活性会受到抑制。

**酶储存液:** 20 mM Tris-HCl, 50 mM NaCl, 1 mM DTT, , 50%Glycerol, 0.1% (w/v) Triton X-100, pH 7.5。

**储存:** 置于-20° C 可保存 2 年, 避免反复冻融。

**热失活:** 95° C, 5min。

## 操作方法

### 1. 配制反应体系

Super Taq DNA Polymerase	0.5 $\mu$ l
dNTP/dUTP Mixture	2~4 $\mu$ l
10XHi PCR Buffer	5 $\mu$ l

Uracil N-Glycosylase (5U/ $\mu$ l) 0.2~0.5  $\mu$ l

Primers (10 $\mu$ M each ) 1  $\mu$ l

Template DNA 10 ng-1  $\mu$ g

DEPC-treated Water up to 50  $\mu$ l

## 2. PCR 扩增循环参数

循环数	温度	时间
去污染	50 $^{\circ}$ C	2min
热失活	95 $^{\circ}$ C	5min
30-40 Cycles	95 $^{\circ}$ C	20s
	50~60 $^{\circ}$ C	20s
	72 $^{\circ}$ C	1kb/1min
Last Cycle	72 $^{\circ}$ C	5min