

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/μl)	200 μl	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 μg 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 μl
dNTP/dUTP Mixture	2~4 μl
10XHi PCR Buffer	5 μl
Uracil N-Glycosylase (5U/μl)	0.2~0.5 μl
Primers (10μM each)	1 μl
Template DNA	10 ng-1 μg
DEPC-treated Water	up to 50 μl

2. PCR 扩增循环参数

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

3. 辅助试剂

Super Taq DNA Polymerase, A2801

dNTP/dUTP Mixture, A0303