

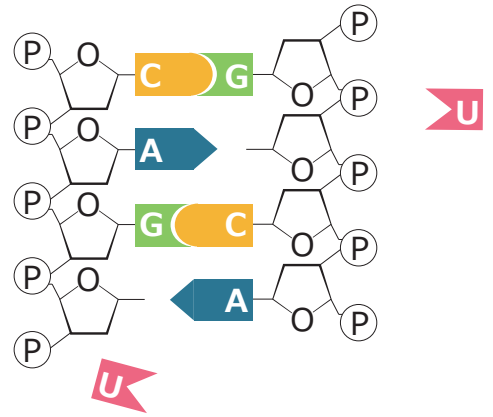


PCRのキャリアオーバー対策に！

Uracil-DNA Glycosylase (UNG)

Code No.	製品名	包装単位	希望納入価格(税別)
317-09041	Uracil-DNA Glycosylase (UNG)	100 ng	32,000 円

本品は、*E. coli* 由来のウラシルDNAグリコシラーゼ (UNG) です。ウラシルを含む DNA のデオキシリボースとウラシル残基の間の N-グリコシド結合を加水分解し、脱ピリミジン部位をつくります。UNG は、PCR のキャリアオーバー対策に利用できます。PCR を行う際、UNG 処理を行うことで、前の反応から持ち込まれた PCR 産物 (ウラシルを含む) を除くことができます。



構成

-20°C保存

・Uracil-DNA Glycosylase (1 ng / μ L) … 100 μ L

【使用回数】200回 (1 反応あたり 0.5 μ L ずつ使用した場合)

実験例 1. UNGの活性確認

各濃度の UNG と dUTP を取り込んだ 1 μ g の PCR 産物 (0.5 kb) を 37°C で 30 分間反応させ、UNG により DNA が分解されているかアガロースゲル電気泳動で確認した。

1) UNG 反応系

10× Buffer*	1 μ L	* 終濃度:
dU含有 DNA	1 μ g	20 mM Tris-HCl (pH 8.0),
UNG	各濃度	1 mM EDTA, 1 mM DTT
Total	10 μ L	

2) 酵素反応温度と時間

37°C	30 min.	UNG 反応	
4°C	Hold	反応停止液**の添加	** 終濃度:
95°C	10 min.	UNG不活化	1 mM Tris-HCl (pH 7.5),
			5 mM EDTA, 0.1% SDS,
			5% Glycerol, 0.002% BPB

結果

ウラシルを含むPCR産物はUNGにより分解された。

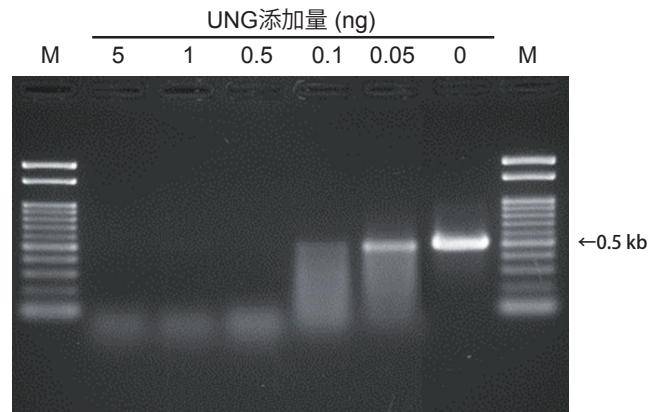


図1. UNGによるPCR産物(0.5 kb)の分解

泳動: 10 μ L/Lane in 2% Agarose S M: Gene Ladder 100

製造元 **株式会社ニッポンジーン**

〒930-0834 富山県富山市問屋町二丁目7番18号
TEL: 076-451-6548 FAX: 076-451-6547
URL: <https://www.nippongene.com>

販売元 **富士フイルム 和光純薬株式会社**

本 社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)
フリーダイヤル 0120-052-099 フリーファックス 0120-052-806

リアルタイムPCR 用試薬と UNG のセット品

GeneAce Probe qPCR Mix II with UNG

Code No.	製品名	包装単位	希望納入価格(税別)
314-09051	GeneAce Probe qPCR Mix II with UNG	1 Set	51,000 円

構成

-20°C保存

- GeneAce Probe qPCR Mix II 200回用 (Code No. 313-08823)
- Uracil-DNA Glycosylase (1 ng / μ L) 100 ng (Code No. 317-09041)

実験例 1. PCR キャリーオーバーコンタミネーション防止効果の検証

ウラシルを含む PCR 産物を鋳型とし、リアルタイム PCR を行った。リアルタイム PCR は、UNG の添加量を変えて UNG 処理を行ってから、PCR 酵素活性化処理 (UNG 不活化) と PCR を行った。

< 1 反応あたりの UNG 添加量 >

 UNG (1 ng / μ L) 0 μ L, 0.1 μ L, 0.25 μ L, 0.5 μ L

<リアルタイムPCR条件>

[装置] LightCycler® 96 (Roche社)
 [ターゲット] ダイズ内在性遺伝子 Le1 (118 bp)
 [試薬] GeneAce Probe qPCR Mix II

1) PCR 反応系

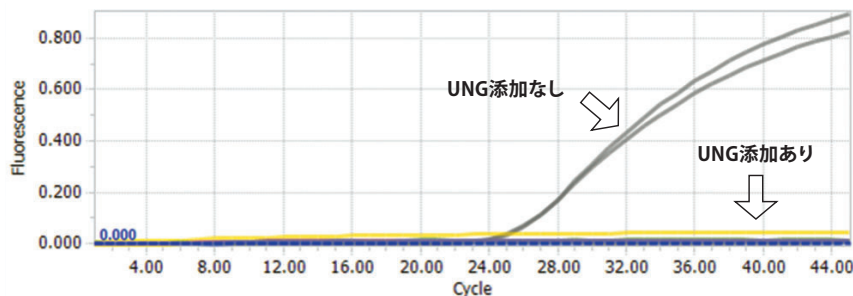
UNG (1 ng / μ L) 各量
 2 x Gene Ace Probe qPCR Mix II 12.5 μ L
 Primer Mix (25 μ M each) 0.8 μ L
 Probe (10 μ M) 0.25 μ L
 PCR産物 (dU含有) 2.5 μ L
 H₂O up to 25.0 μ L

2) PCRサイクル

40°C 2 min. UNG処理
 95°C 10 min. UNG不活化
 95°C 30 sec. PCR酵素活性化
 59°C 1 min. } 45 cycles

結果

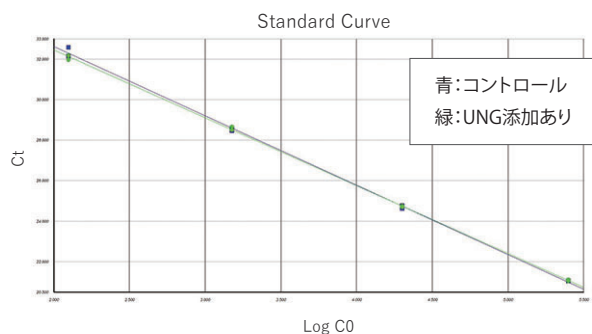
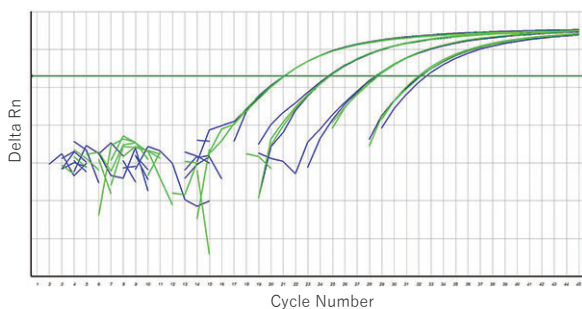
UNG 添加なしの場合、ウラシルを含む鋳型では増幅が認められたが、UNG 添加ありの場合には増幅は認められず、ウラシルを含むDNAからの増幅を抑制できた。



実験例 2. UNGの添加によるリアルタイムPCRへの影響

プラスミドDNA (ウラシルを含まない) を鋳型としたリアルタイム PCRを行い、UNGの添加による増幅効率の比較を行った。

[ターゲット] ダイズ内在性遺伝子 Le1 (118 bp) [装置] Applied Biosystems 7500 Fast System [試薬] GeneAce Probe qPCR Mix II
 [反応系] 25 μ L [UNG添加量] 添加なし (図: 青色), 0.25 ng/反応 (図: 緑色)



結果

増幅曲線および検量線の結果から、UNGの添加によるリアルタイムPCRへの影響は認められなかった。

関連製品

● リアルタイムPCR 用試薬 (蛍光標識プローブ検出系・2×プレミックス試薬)

Code No.	製品名	包装単位 ^{※2}	希望納入価格(税別)
313-08823	GeneAce Probe qPCR Mix II	200 回用 (1.25 mL×4本)	24,000円

※2) 50 μ l 反応系の場合