

Uracil-DNA Glycosylase (UNG)

I. Description

E. coli Uracil-DNA Glycosylase (UNG) removes uracil from DNA by hydrolysis of the N-glycosidic bond between uracil base and deoxyribose sugar, leaving an apyrimidinic site in the DNA.

UNG prevents carry-over of DNA in PCR products incorporating dU-nucleotides. To eliminate carryover of PCR products from previous reactions, use a qPCR master-mix reagent that contains dUTP, and add the UNG treatment step prior to starting PCR.

II. Storage

Store at -20°C

III. Source

Escherichia coli

IV. Components

Product	Conc.	100 ng
Uracil-DNA Glycosylase (UNG)	1 ng / μL	100 μL x 1

V. Purity

- 1 ng of the enzyme and 1 μg of substrate DNA (normal DNA not containing uracil) were reacted at 37°C for 16 hr in 50 μL of the reaction volume and then agarose gel electrophoresis was performed. The result indicated no degradation of DNA.
- 1 ng of the enzyme and 1 μg of substrate RNA were reacted at 37°C for 2 hr in 50 μL of the reaction volume and then agarose gel electrophoresis was performed. The result indicated no degradation of RNA.

VI. Notes

- Too much UNG may inhibit the PCR. Suitable amount of the enzyme is commonly in the range between 0.1-1 μL in a 50 μL reaction volume.
- Do not use this product for One-step RT-PCR application as the UNG would active on uracil in cDNA among 55°C .

VII. Usage

To prevent carryover contamination in your qPCR, use a qPCR master-mix reagent that contains dUTP, and add UNG in reaction mix and incubate at 40°C for 2 min prior to starting qPCR reactions.

An example of using GeneAce Probe qPCR Mix II (Code No. 313-08823):

Component	Volume	Volume
UNG (1 ng/ μL)	0.5 μL	0.25 μL
2 x GeneAce Probe qPCR Mix II	25.0 μL	12.5 μL
25 μM Forward Primer	1.0 μL	0.5 μL
25 μM Reverse Primer	1.0 μL	0.5 μL
10 μM TaqMan [®] Probe ^{*1)}	1.0 μL	0.5 μL
Template DNA	5.0 μL	2.5 μL
d.d.H ₂ O	up to	50.0 μL 25.0 μL

UNG and PCR conditions

40°C	2 min.) 45 cycles
95°C	10 min.	
95°C	30 sec.	
60°C	1 min.	

UNG treatment
Heat-inactivate UNG ^{*2)}

*1) TaqMan[®] is registered trademarks of Roche Molecular Systems, Inc.

*2) When GeneAce Probe qPCR Mix II is used, the PCR must start with initial 10 minutes incubation at 95°C to activate the chemically modified hot-start Taq DNA polymerase.

VIII. Related product

A set of qPCR reagent and UNG

Code No.	Product	Size
314-09051	GeneAce Probe qPCR Mix II with UNG	1 Set (200 rxns)

A qPCR reagent

Code No.	Product	Size
313-08823	GeneAce Probe qPCR Mix II	200 rxns (1.25 ml x 4)



Uracil-DNA Glycosylase (UNG)

I. 製品説明

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 のキャリー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。

II. 保存

-20°C

III. 起源

Escherichia coli

IV. 製品内容

試薬 濃度 [100 ng]

Uracil-DNA Glycosylase (UNG) 1 ng/μL 100 μL x 1 本

V. 純度

- 1 ng の本酵素と 1 μg の基質 DNA(ウラシルを含まない)を 50 μL の反応液中で 37°C、16 時間反応させても、DNA のアガロースゲル電気泳動パターンに変化は認められない。
- 1 ng の本酵素と 1 μg の基質 RNA を 50 μL の反応液中で 37°C、2 時間反応させても、RNA のアガロースゲル電気泳動パターンに変化は認められない。

VI. 注意

- PCR 反応液中へ本酵素の持ち込み量が多くなりすぎると PCR 反応を阻害することがあります。酵素の使用量は、50 μL の反応液中、0.1~1 μL を目安にしてください。
- 本酵素は 55°C でも部分的に活性を有するため、1 step RT-PCR には使用しないでください。

VII. 使用例

<キャリーオーバー防止の使用例>

dUTP を含む GeneAce Probe qPCR Mix II (Code No. 313-08823) を用いてリアルタイム PCR を行う際、UNG(本品)を添加して 40°C、2 分の UNG 処理を行ってから、95°C、10 分の PCR 用酵素活性化処理(UNG 不活化)と PCR 増幅を行います。

<反応液(例)>	[50 μL 系]	[25 μL 系]
UNG (1 ng/μL)	0.5 μL	0.25 μL
2 x GeneAce Probe qPCR Mix II	25.0 μL	12.5 μL
25 μM Forward Primer	1.0 μL	0.5 μL
25 μM Reverse Primer	1.0 μL	0.5 μL
10 μM TaqMan® Probe *1)	1.0 μL	0.5 μL
Template	5.0 μL	2.5 μL
d.d.H ₂ O	up to 50.0 μL	25.0 μL

<反応条件例>

40°C 2 min. UNG 処理
 95°C 10 min. UNG 不活化・PCR 酵素活性化 *2)
 95°C 30 sec.) 45 cycles
 60°C 1 min.

- * 1) TaqMan® は、Roche Molecular systems 社の商標です。
- * 2) GeneAce Probe qPCR Mix II を使用する場合、PCR 酵素活性化ステップ(95°C、10 分間)を必ず実施してください。

VIII. 関連製品

リアルタイム PCR 用試薬と本酵素のセット品

Code No.	製品名	包装単位
314-09051	GeneAce Probe qPCR Mix II with UNG	1 Set (200 回用)

リアルタイム PCR 用試薬(蛍光標識プローブ検出系)

Code No.	製品名	包装単位
313-08823	GeneAce Probe qPCR Mix II	200 回用 (1.25 ml x 4)

本製品は、試薬(試験研究用)として販売しているものです。
 医薬品の用途には使用しないでください。