



PCRのキャリーオーバー対策に！

Uracil-DNA Glycosylase (UNG)

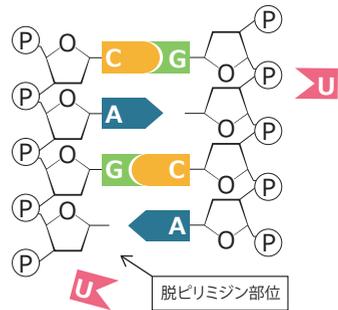
Code No.	製品名	包装単位	希望納入価格(税別)
317-09041	Uracil-DNA Glycosylase (UNG)	100 ng	35,600 円

表示価格は 2025 年 4 月現在の希望納入価格(税別)です。

UNGは、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。脱ピリミジン部位を持つ DNA は熱によって分解されるため、PCR の鑄型になりません。そのため、PCR を行う際、UNG 処理を行うことで、前の反応から混入したウラシルを含む PCR 産物を分解することができ、PCR のキャリーオーバーによる偽陽性の防止に利用できます。

起源: *Escherichia coli*保存: -20°C

構成品

・Uracil-DNA Glycosylase (1 ng/ μL) \cdots 100 $\mu\text{L} \times 1$ 【使用回数】200回 (1 反応あたり 0.5 μL ずつ使用した場合)

脱ピリミジン部位

実験例 1. UNGの活性確認

各濃度の UNG と dUTP を取り込んだ 1 μg 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 \times Buffer*	1 μL	* 終温度: 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1 mM EDTA, 1 mM DTT
dU 含有 DNA	1 μg	
UNG	各濃度	
Total	10 μL	

2) 酵素反応温度と時間

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

結果

ウラシルを含む PCR 産物は UNG により分解された。

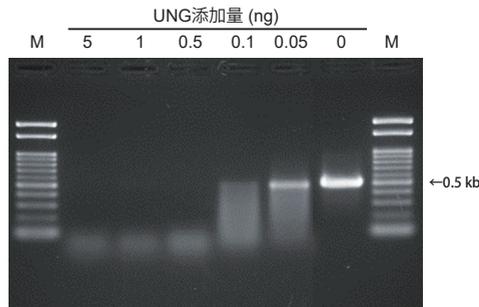


図1. UNGによるPCR産物(0.5 kb)の分解

泳動: 10 $\mu\text{L}/\text{Lane}$ 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 富士フィルム 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

構成品 ・ GeneAce Probe qPCR Mix II 200回用 (Code No. 313-08823)
 保存: -20℃ ・ Uracil-DNA Glycosylase (1 ng / μL) 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) PCR 反応系

UNG (1 ng / μL)	各量※
2 x GeneAce Probe qPCR Mix II	12.5 μL
Primer Mix (25 μM each)	0.8 μL
Probe (10 μM)	0.25 μL
PCR産物 (dU含有)	2.5 μL
H ₂ O	up to 25.0 μL

※ 1 反応あたりの UNG 添加量:
 0 μL, 0.1 μL, 0.25 μL, 0.5 μL

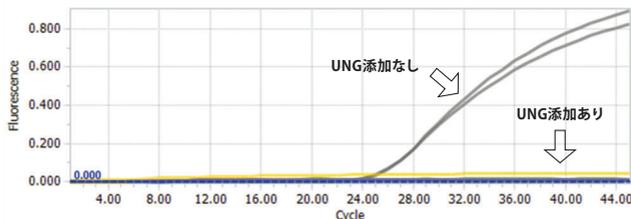
装置: LightCycler® 96 (Roche社)
 試薬: GeneAce Probe qPCR Mix II
 標的: ダイズ内在性遺伝子 Le1 (118 bp)

2) PCRサイクル

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

結果

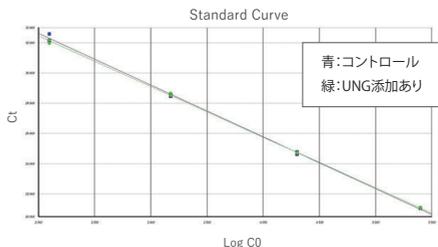
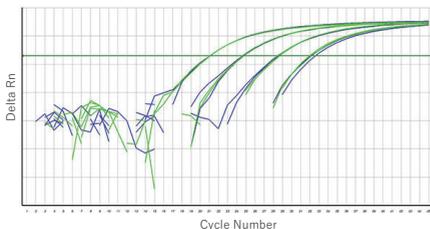
UNG を添加することで、鋳型にしたウラシルを含む PCR 産物からの増幅を抑制できた。



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 μL [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 μl 反応系の場合