

PCR のキャリーオーバー対策・偽陽性の防止に有用

Uracil-DNA Glycosylase (UNG), Heat-labile

Uracil-DNA Glycosylase (UNG) は、デオキシリボースとウラシル塩基の間のN-グリコシド結合を加水分解して、脱塩基部位を形成します。脱塩基部位をもったDNAは熱により分解するため、dUTPを使用したPCR反応と併用することで、PCRで懸念される増幅産物のキャリーオーバー対策等に使用することができます。

本酵素は、dUを含む1本鎖あるいは2本鎖DNAを分解しますが、RNAには反応しません。また、Heat-labileタイプの酵素であるので、50℃・10分間の熱処理によって完全かつ不可逆的に失活します。RT-PCRのキャリーオーバー対策にも利用することができます。

1. 内容物

品名	濃度	包装	Code No.	保存温度
Uracil-DNA Glycosylase (UNG), Heat-labile	1 U/μL	200 U×1 本	UNG-101	-20℃

2. 性能・品質

(1) 分解活性

dsDNA 中の 1 nmol の dU を 37℃・1 時間の反応で分解できる酵素量を 1 U としています。

(2) 熱不安定性

本製品に 50℃・10 分間の熱処理を実施した後、dU を含む dsDNA と混合して 37℃・24 時間インキュベートしても、dsDNA の電気泳動パターンに変化はありません。

3. 起源

タイセイヨウダラ(Atlantic cod, *Gadus morhua*)由来の組換え UNG を大腸菌株で発現させています。

4. 緩衝液組成

20 mM	Tris-HCl, pH 7.5 (25℃)
50 mM	NaCl
1 mM	DTT
0.1% (v/v)	Tween20
50% (v/v)	Glycerol

5. 使用例

PCR 試薬に添加して、PCR 反応(RT-PCR 反応では RT 反応)の直前に、室温(20~25℃)でインキュベートすることで、dUTP を使用した PCR の増幅産物のキャリーオーバーを除去できます。UNG は PCR の変性(RT-PCR 反応では RT 反応)の際に失活するため、反応に影響はありません。

次ページに、弊社 qRT-PCR 試薬(THUNDERBIRD® Probe One-step qRT-PCR Kit, Code: QRZ-101)を用いた調製例と反応サイクルを示します。必要に応じて UNG の量を変更してください。

試薬	20 μ L 反応	50 μ L 反応	最終濃度
RNase free water	X μ L	X μ L	
2 \times Reaction Buffer	10 μ L	25 μ L	1 \times
DNA Polymerase	0.5 μ L	1.25 μ L	
RT Enzyme Mix	0.5 μ L	1.25 μ L	
Forward Primer	10 pmol	25 pmol	0.5 μ M
Reverse Primer	10 pmol	25 pmol	0.5 μ M
TaqMan [®] probe	4 pmol	10 pmol	0.2 μ M
50 \times ROX Reference dye	0.4 / 0.04 μ L	1 / 0.1 μ L	1 \times / 0.1 \times
Uracil-DNA Glycosylase (UNG), Heat-labile	0.4 μL	1.0 μL	0.4 / 1.0 U
RNA 溶液	Y μ L	Y μ L	
合計液量	20 μ L	50 μ L	

ステップ	温度	時間
UNG 反応	25$^{\circ}$C	10 分
逆転写反応	55 $^{\circ}$ C	20 分
初期変性	95 $^{\circ}$ C	1 分
PCR	変性	95 $^{\circ}$ C
(40~45 cycles)	伸長(アニーリング)	60 $^{\circ}$ C
		15 秒
		45 秒

6. 関連商品

品名	包装	Code No.
Uracil-DNA Glycosylase (UNG), Heat-labile <Glycerol Free>	200 U \times 1 本	UNG-201
dUTP (100 mM)	0.5 mL \times 1 本	UTP-101
dNTPs Mixture (A, C, G, U each 2 mM)	1 mL \times 1 本	NTP-501
THUNDERBIRD [®] Probe One-step qRT-PCR Kit	250 回用/20 μ L 反応	QRZ-101

※弊社ウェブサイトの製品ページに本製品の実施例を掲載しております。ご確認ください。

https://lifescience.toyobo.co.jp/detail/detail.php?product_detail_id=261

TOYOBO

【製造・販売元】

—価格・在庫に関するお問い合わせ—

東洋紡株式会社 バイオプロダクト営業部 (大阪)
〒530-0001 大阪府大阪市北区梅田一丁目13番1号
大阪梅田ツインタワーズ・サウス
TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

東洋紡株式会社 バイオプロダクト営業部 (東京)
〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目17番10号 住友商事京橋ビル
TEL 03-6887-8819 FAX 03-6887-8951
E-mail : order_lifescience@toyobo.jp

—製品の内容・技術に関するお問い合わせ—

東洋紡株式会社 テクニカルライン
TEL 06-6348-3888 FAX 06-6348-3833
開設時間 9:00~12:00, 13:00~17:00 (土日祝日、休日を除く)
E-mail : tech_osaka@toyobo.jp
[URL] <https://lifescience.toyobo.co.jp/>