

Code No. R013S/A

研究用

---

**TaKaRa**

*TaKaRa Taq*<sup>™</sup> HS PCR Kit,  
UNG plus

---

说明书

# 目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 保 存	1
● 试剂盒外必备的试剂及仪器	1
● 注意事项	1
● 操作方法	2
● 实验例	2
● 关联产品	3

## ● 制品说明

PCR 是一种非常敏感的 DNA 扩增技术, 易受污染影响, PCR 扩增产物的污染会产生假阳性结果。PCR 扩增产物的污染是 End-point PCR 方法, 特别在食品、环境检测中是令人头痛的问题。

本制品是一种可防止假阳性产生的试剂盒。使用本制品是在 PCR 反应时以 dUTP 取代 dTTP, 并同时使用 Hot Start 型 DNA 聚合酶 *TaKaRa Taq HS* 进行 PCR 扩增反应。反应液配制后, 对含有 dU 的 DNA 具有降解作用的 UNG 酶 (Uracil-*N*-glycosylase) 可选择性水解含有尿嘧啶的 PCR 产物, 而对不含尿嘧啶的模板无任何影响。

UNG 的作用原理: 在 PCR 反应前 25°C、10 分钟反应中, UNG 酶可水解 PCR 反应液中含有尿嘧啶的 PCR 产物的尿嘧啶碱基和糖磷酸骨架的 N-糖苷键, 产生脱嘧啶位点。随后进行 95°C、2 分钟热处理, 在 UNG 酶失活的同时进一步对磷酸骨架水解, 从而消除含有尿嘧啶的 PCR 产物的污染。

UNG 酶可以作用于单链或双链 DNA, 对 RNA 无活性。

## ● 制品内容

### R013S (for 50 reactions, 50 $\mu$ l volume)

1. <i>TaKaRa Taq HS</i>	5 U/ $\mu$ l	12.5 $\mu$ l
2. 10 $\times$ PCR Buffer for UNG plus <sup>*1</sup>	10 $\times$	250 $\mu$ l
3. dU plus dNTP Mixture <sup>*2</sup>	12.5 $\times$	200 $\mu$ l
4. UNG	2 U/ $\mu$ l	25 $\mu$ l

### R013A (for 200 reactions, 50 $\mu$ l volume)

1. <i>TaKaRa Taq HS</i>	5 U/ $\mu$ l	50 $\mu$ l
2. 10 $\times$ PCR Buffer for UNG plus <sup>*1</sup>	10 $\times$	1 ml
3. dU plus dNTP Mixture <sup>*2</sup>	12.5 $\times$	800 $\mu$ l
4. UNG	2 U/ $\mu$ l	100 $\mu$ l

\*1: Mg<sup>2+</sup>浓度: 22.5 mM (10 $\times$ )

因 dUTP 的浓度设定是 dTTP 的 3 倍, 所以总体 dNTP 的浓度变高, 虽然 PCR Buffer 中含有 MgCl<sub>2</sub>, 但为了保持 MgCl<sub>2</sub> 与 dNTP 量的平衡, 本制品中的 Mg<sup>2+</sup>浓度高于 *TaKaRa Taq Hot Start Version* (Code No. R007A) 附带的 10 $\times$  PCR Buffer (Mg<sup>2+</sup> plus)。

\*2: dU plus dNTP Mixture 的 Na 盐溶液组成如下:

dUTP	7.5 mM
dATP	2.5 mM
dGTP	2.5 mM
dCTP	2.5 mM

## ● 保存: -20°C。

## ● 试剂盒外必备的试剂及仪器

微量移液枪

PCR 扩增仪

配套于微量移液枪的 tips

PCR 用 tubes

## ● 注意事项

从反应液的配制到 PCR 产物的检出应分别在 4 个区域操作, 操作区域建议进行物理性隔离。

○操作区 1: 反应液的配制及分装。

○操作区 2: 样品的制备。

○操作区 3: 将样品添加到反应液中。

○操作区 4: PCR 反应及凝胶电泳对 PCR 产物进行检测。

为防止污染，除在操作区 4 外，请避免对 PCR 扩增产物 tube 进行开闭。

## ● 操作方法

1. 在冰上配制反应液（在操作区 1 操作）。

除模板（检测样品）外，将下列组份根据反应所需份数配制混合液，分装到反应管中，盖上反应管盖。

<i>TaKaRa Taq</i> HS (5 U/μl)	0.25	μl
10×PCR Buffer for UNG plus	5	μl
dU plus dNTP Mixture	4	μl
UNG	0.5	μl
Template	<	500 ng
Primer 1	10~50 pmol	(终浓度 0.2~1.0 μM)
Primer 2	10~50 pmol	(终浓度 0.2~1.0 μM)
灭菌水	Up to	50 μl

2. 模板（样品）的添加（在操作区 3 操作）。

向 1. 的分装后反应液中添加模板（样品），盖紧反应管盖。

3. 轻微离心，将反应管放置到 PCR 扩增仪中。

4. UNG 处理及 PCR 扩增。

先进行 UNG 处理，然后使 UNG 失活。随后按照 PCR 反应条件进行 PCR 扩增。根据扩增片段大小设定 PCR 反应条件。

<例如：扩增 1 kb DNA 片段时>

25°C	10 分钟 (UNG 处理) *1	
95°C	2 分钟 (UNG 的热失活) *1	
98°C	10 秒 *2	} 30 Cycles
55°C	30 秒	
72°C	1 分钟 *3	

\*1 UNG 酶处理条件不变，与扩增片段大小无关。

\*2 PCR 变性条件请根据 PCR 扩增仪种类及反应管种类进行设定。一般设定为 98°C 5~10 秒或 94°C 20~30 秒。

\*3 使用 dUTP 替代 dTTP，有时 PCR 扩增效率会有所下降，当扩增效率不良时，请延长延伸时间。

5. 将 PCR 扩增产物进行凝胶电泳等分析（在操作区 4 操作）。

## ● 实验例

1. 与普通 PCR 扩增效率的比较。

### 【方法】

对普通组成的 PCR 反应和添加了 UNG 酶的 PCR 反应（使用 *TaKaRa Taq* HS PCR Kit, UNG plus）进行扩增效率的比较。

模板：50 ng 人基因组 DNA

扩增片段大小：500 bp

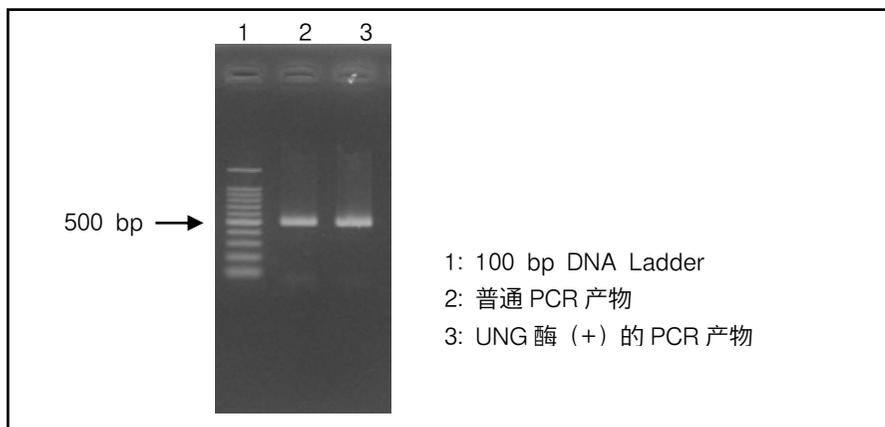
<普通 PCR 组成>

- 使用 *TaKaRa Taq* Hot Start Version (Code No. R007A) 推荐的反应条件。
- UNG 酶 (-)、使用含有 dTTP 的 dNTP Mixture。

<使用 UNG 酶的 PCR 组成>

- 使用本制品推荐的反应条件。
- UNG 酶 (+)、使用含有 dUTP 的 dUTP plus dNTP Mixture。

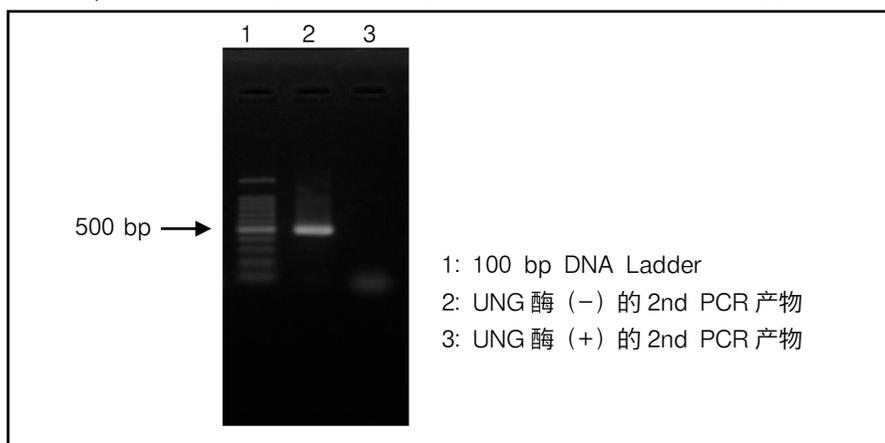
【结果】UNG 酶 (+) PCR 和普通 PCR 均可很好地进行扩增且两者扩增效率相同。



## 2 扩增产物污染的消除效果确认。

【方法】按照本制品的操作方法，以 10 ng 人基因组 DNA 为模板，扩增 500 bp 的 DNA 片段 (1st PCR)。再以 2  $\mu$ l 1st PCR 产物为模板进行 UNG 酶 (+) 及 UNG 酶 (-) 处理，然后使用 1st PCR 的反应条件进行 PCR 扩增 (2nd PCR)，确认扩增产物污染的消除效果。

【结果】进行 UNG 酶 (+) 及 UNG 酶 (-) 处理 PCR 反应均以 2  $\mu$ l 的 10 ng 人基因组 DNA 扩增的 500 bp DNA 片段为模板，2 个反应的结果差异证实了扩增产物污染的消除效果。



## ● 关联产品

Uracil DNA Glycosylase (UNG), heat-labile (Code No. 2820)

dU plus dNTP Mixture (12.5 $\times$ ) (Code No. 4035)

dUTP (Code No. 4020)

TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit (Code No. 6088)

*TaKaRa Taq*<sup>TM</sup> (Code No. R001A/B/C)

*TaKaRa Taq*<sup>TM</sup> Hot Start Version (Code No. R007A/B)

TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice<sup>TM</sup> Gradient (Code No. TP600)

TBE (Tris-borate-EDTA) powder (Code No. T905)

100 bp DNA Ladder (Code No. 3407A/B)

*TaKaRa Taq* and Thermal Cycler Dice are trademarks of Takara Bio Inc.

注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经Takara Bio Inc.书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口Takara产品，或者使用Takara产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站[www.takarabio.com](http://www.takarabio.com)。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考Takara Bio Inc.网站。为正确使用Takara产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

**技术咨询热线：**

0411-87641685, 87641686  
4006518761, 4006518769

**TAKARA BIO INC.**

URL: <https://www.takarabiomed.com.cn>

v202102Da