

防止PCR产物污染造成的假阳性!



PCR产物污染低风险!

PCR检测方法因其高灵敏度的特性，时常会发生被过去扩增的PCR产物污染而产生假阳性的现象。特别是采用End-point PCR方法，在食品、环境检测等方面应用时，由于相同的PCR反应重复操作而带来的危险性更高，给结果判定造成很大影响，令人头疼。

持续使用 *TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus*，能够防止PCR产物污染造成的假阳性，提升基因检测的可信度。

使用含有dUTP替代dTTP的基质进行PCR扩增，其扩增产物嵌入了尿嘧啶碱基。

针对这种扩增产物的污染，用 *Uracil-N-glycosylase (UNG)* 处理，再进行PCR反应，含有尿嘧啶的污染的扩增产物被降解，而只有不含尿嘧啶的检测样品来源的DNA才能够作为模板被扩增。

防止假阳性的产生!

进行普通PCR时

例如，手套上附着有扩增产物...



1st PCR

污染



2nd PCR之后



阴性对照也出现了扩增条带...
阳性检测结果可信吗...?

使用*TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus*时

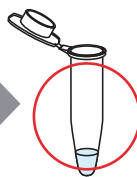
例如，手套上附着有扩增产物...



1st PCR

★ 使用含有dUTP替代dTTP的dNTP进行PCR。

污染



2nd PCR之后

★ 反应液中的UNG可以特异性地降解混入的之前的PCR产物。



即使万一被之前的PCR产物污染了，也不必担心，可从容自如地进行检测!

TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus

Code No. R013S / A
包装量 50次 / 200次

可将您平常使用的Taq酶直接替换成本产品使用!

产品内容: R013S (50 μl反应体系 × 50 次)

• TaKaRa Taq™ HS (5 U/μl)	12.5 μl
• 10 × PCR Buffer for UNG plus ^{※1}	250 μl
• dU plus dNTP Mixture (12.5 ×) ^{※2,※3}	200 μl
• UNG (2 U/μl) ^{※4,※5}	25 μl

※1: Mg²⁺浓度: 22.5 mM (10 ×)

本产品因dUTP的浓度设定为dTTP的3倍, 所以dNTP的总浓度变高。为了保持MgCl₂与dNTP量的平衡, 本产品中的Mg²⁺浓度高于TaKaRa Taq Hot Start Version (Code No. R007A)附带的10 × PCR Buffer (Mg²⁺ plus)的Mg²⁺浓度。

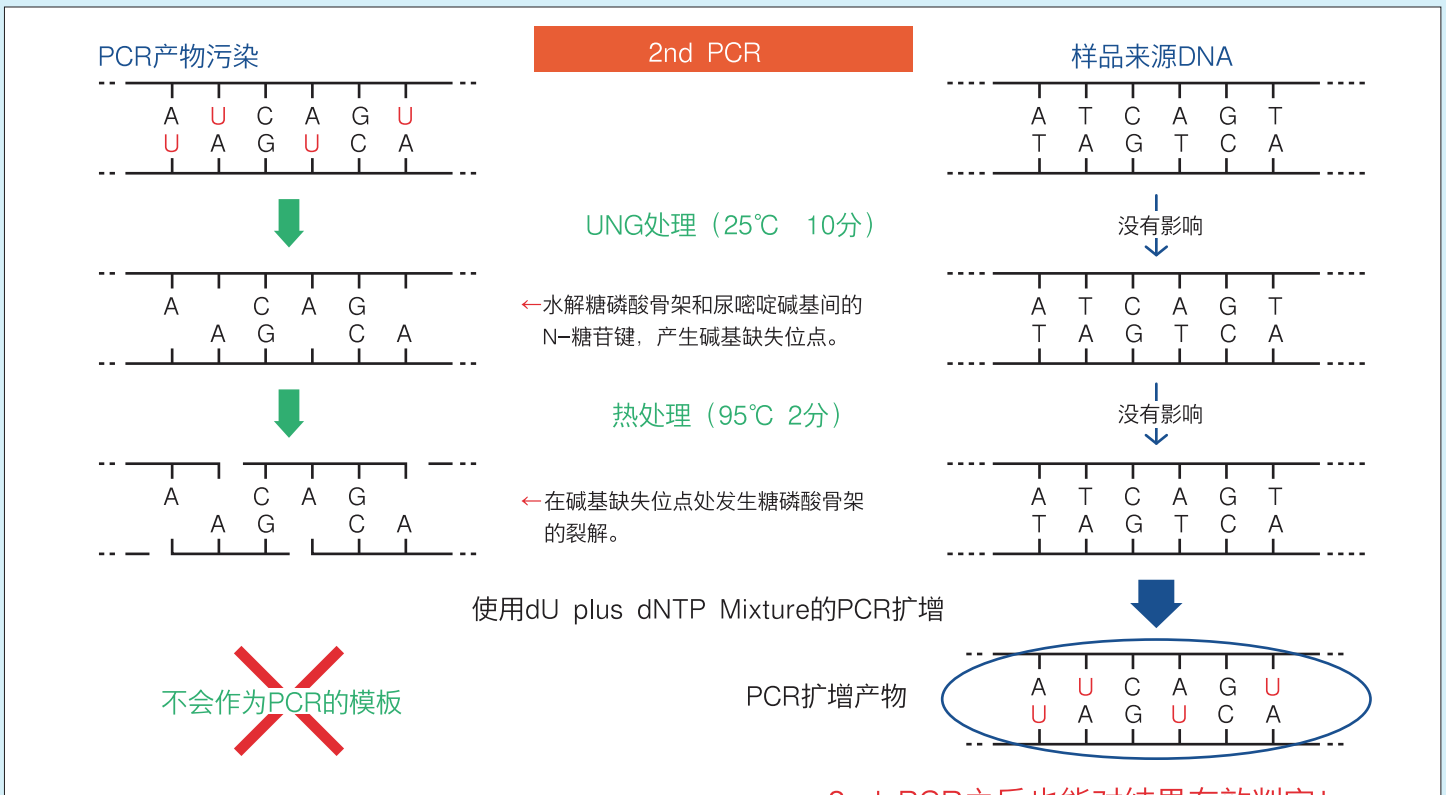
※2: 含有7.5 mM dUTP、2.5 mM dATP、2.5 mM dGTP、2.5 mM dCTP的水溶液 (钠盐)

※3: 可另外单独购买 (Code No. 4035)。

※4: 热敏感性UNG: 请见实验例2。

※5: 可另外单独购买 (Code No. 2820)。

利用UNG防止PCR产物污染的原理



2nd PCR之后也能对结果有效判定!

实验例1: UNG对防止PCR产物污染的效果

配制反应液

TaKaRa Taq™ HS (5 U/μl)	0.25 μl
10 × PCR Buffer for UNG plus	5 μl
dU plus dNTP Mixture (12.5 ×)	4 μl
UNG (2 U/μl)	0.5 μl

添加模板、引物、灭菌水至50 μl。

置于PCR仪中，按以下条件进行反应。

25°C 10分 (UNG处理)	30 Cycles
95°C 2分 (UNG热失活)	
98°C 10秒	
55°C 30秒	
72°C 1分	

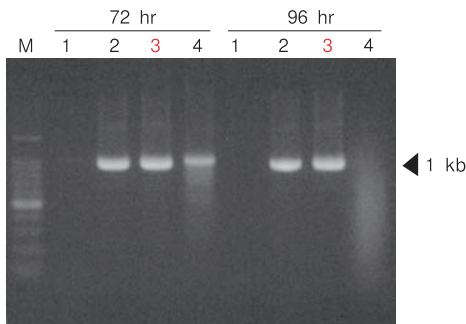
UNG处理条件不因目的基因序列、长度等进行改变，但PCR反应条件需要根据目的基因的情况进行适当调整。

【方法】按照本产品的操作方法，以10 ng人基因组DNA 为模板，进行约500 bp的PCR扩增(1st PCR)。再以1st PCR扩增产物2 μl为模板，UNG处理有或无，重复1st PCR(2nd PCR)，确认UNG对防止PCR产物污染的效果。



实验例2: PCR扩增产物的稳定性

为防止PCR产物污染的影响而使用UNG的反应体系，也会时常出现因UNG的失活不完全而使扩增产物被分解导致错误的检测结果的情况，对于微量目的基因的扩增，其扩增产物量少的时候要尤为注意。本产品使用的热敏感性UNG经50°C、10分钟的热处理，可以得到完全且不可逆的失活。即使加入了过剩的UNG，在PCR循环前的95°C、2分钟变性步骤也能够完全失活。



【方法】同时进行了扩增人基因组DNA约1 kb的目的基因片段与其他公司热敏感性UNG(按产品的推荐量添加)的比较实验。PCR反应后，将反应液25°C、72小时或96小时保温放置，比较残存的UNG活性对PCR产物的影响。

Lane 1. Control (不添加模板)
2. 不添加UNG
3. 使用本产品的UNG
4. 使用其它公司热敏感性UNG
M. 100 bp DNA Ladder

PCR条件: 25°C 10分 (UNG处理)
95°C 2分 (UNG热失活)
98°C 10秒
55°C 30秒
72°C 1分
35 Cycles

【结果】添加本Kit中的UNG (Uracil DNA Glycosylase (UNG), heat-labile) 的反应体系，室温放置96小时之后，扩增产物也没有被降解。

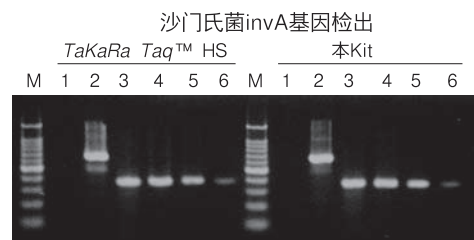
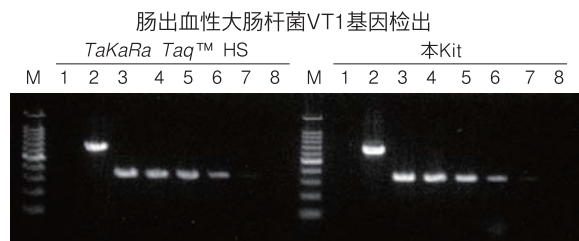
数据来源于Takara Bio Inc.

实验例3: 与常规PCR反应体系扩增效率的比较

【方法】使用肠出血性大肠杆菌VT1基因检出用Primer Set (Code No. S006) 以及沙门氏菌invA基因检出用Primer Set (Code No. S018)，对本产品和 TaKaRa Taq™ HS (常规PCR反应体系) 的扩增效率进行了比较。

(右上图: 肠出血性大肠杆菌VT1) (右下图: 沙门氏菌invA)
※以精制的基因组DNA为模板 ※以菌体热提取物为模板

lane 1. 不添加模板	lane 1. 不添加模板
2. Positive Control EC2 (Code No. S033)	2. Positive Control SN (Code No. S040)
3. 10 ng 基因组DNA	3. 100,000 cfu 相当量的基因组DNA
4. 1 ng 基因组DNA	4. 10,000 cfu 相当量的基因组DNA
5. 100 pg 基因组DNA	5. 1,000 cfu 相当量的基因组DNA
6. 10 pg 基因组DNA	6. 100 cfu 相当量的基因组DNA
7. 1 pg 基因组DNA	M. 100 bp DNA Ladder
8. 100 fg 基因组DNA	
M. 100 bp DNA Ladder	



【结果】结果显示，使用本Kit UNG处理的反应体系和使用 TaKaRa Taq™ HS 的常规PCR反应体系具有同等的扩增效率。

★ 肠出血性大肠杆菌、沙门氏菌之外的微生物检测用引物的详细信息请访问本公司网站查询。

如果不想替换您目前使用的PCR酶，请利用以下产品。

TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit

Code No. 6088

由含有热敏感性UNG、dUTP的基质溶液组成，可将现有的PCR反应体系变更为防止PCR产物污染影响的反应体系。

【注意】PCR聚合酶请使用TaKaRa Taq™ Hot Start Version (Code No. R007A/B) 等Pol I型的酶。不建议α型PCR聚合酶或含有α型PCR聚合酶的混合型酶与本产品组合使用。

产品内容 (50 μl 反应体系 × 200 次)
· UNG (2 U/μl) ※1 100 μl
· dU plus dNTP Mixture ※2 (12.5 ×) 800 μl
· MgCl₂ (25 mM) 1 ml

※1: 热敏感性UNG
※2: 含dUTP的基质溶液

〈产品一览表〉

产品名称	包装量	Code No.
TaKaRa Taq™ HS PCR Kit, UNG plus	50次	R013S
	200次	R013A
TaKaRa PCR Carryover Prevention Kit	200次	6088
Uracil DNA Glycosylase (UNG), heat-labile	200 U	2820
dU plus dNTP Mixture (12.5 ×)	800 μl	4035

相关产品	备注
特殊细菌检出用Primer Set & 特殊细菌检出用Positive Control Template	备有检出肠出血性大肠杆菌等各种病原菌的Primer Set (※)。此外，Positive Control Template可以作为使用特殊细菌检出用Primer Set进行病原菌检出时，监控PCR反应是否正常进行的阳性对照。使用Positive Control Template得到的扩增产物设计为与病原菌来源的原本扩增产物长度有所区别。

※特殊细菌检出用Primer Set的部分产品介绍 (详情请浏览本公司网站)

- 副溶血弧菌
耐热性溶血毒素基因检出用Primer Set VPD-1&-2
耐热性溶血类毒素基因 (*trh1*) 检出用Primer Set VPS-1&-2及其它
- 毒素原性大肠杆菌
LT基因检出用Primer Set ELT-1&-2
STh基因检出用Primer Set ESH-1&-2及其它
- 肠出血性大肠杆菌
VT1基因检出用Primer Set EVT-1&-2
VT2基因检出用Primer Set EVS-1&-2及其它
- 沙门氏菌
*invA*基因检出用Primer Set SIN-1&-2
肠毒素基因检出用Primer Set STN-1&-2
- 金黄色葡萄球菌
肠毒素A基因检出用Primer Set SEA-1&-2
肠毒素B基因检出用Primer Set SEB-1&-2
肠毒素C基因检出用Primer Set SEZ-1&-2
肠毒素D基因检出用Primer Set SED-1&-2及其它
- 产气荚膜梭菌
毒素基因检出用Primer Set CPE-1&-2
- 痢疾杆菌及肠侵袭性大肠杆菌 (EIEC)
*invE*基因检出用Primer Set INV-1&-2及其它
- 肉毒杆菌
A型毒素基因检出用Primer Set BAS-1&-2
B型毒素基因检出用Primer Set BBS-1&-2及其它

- 本宣传页上登载的制品，都是以科研为目的。请不要用于其它方面，如：不要用于人、动物的临床诊断和治疗。也不能用于食品、化妆品及家庭用品等方面。
- 未经本公司许可，严禁产品的转售·转让、以转售·转让为目的的产品更改、以及用于商品的制造。
- 专利许可信息请在本公司网站上确认：<https://www.takarabiomed.com.cn/>。
- 本宣传页上登载的公司名称及制品名称即使没有特殊标注，使用的也是各公司的商标或注册商标。
- 本宣传页上记载的产品信息是2021年3月1日的信息，最新信息请参考公司官网。

Ver.3 2021年3月制作